



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0073593
(43) 공개일자 2017년06월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) C12N 5/0783 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/705 (2013.01)
A61K 35/17 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7009209
(22) 출원일자(국제) 2015년09월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년04월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/049126
(87) 국제공개번호 WO 2016/040441
국제공개일자 2016년03월17일
(30) 우선권주장
62/047,916 2014년09월09일 미국(US)

(71) 출원인
유넘 테라퓨틱스
미국 02140 매사추세츠주 케임브리지 스위트 3100
케임브리지 파크 드라이브 200
(72) 발명자
윌슨, 찰스
미국 02140 매사추세츠주 케임브리지 스위트 3100
케임브리지 파크 드라이브 200
맥키네스, 캐슬린
미국 02140 매사추세츠주 케임브리지 스위트 3100
케임브리지 파크 드라이브 200
(74) 대리인
양영준, 이상남

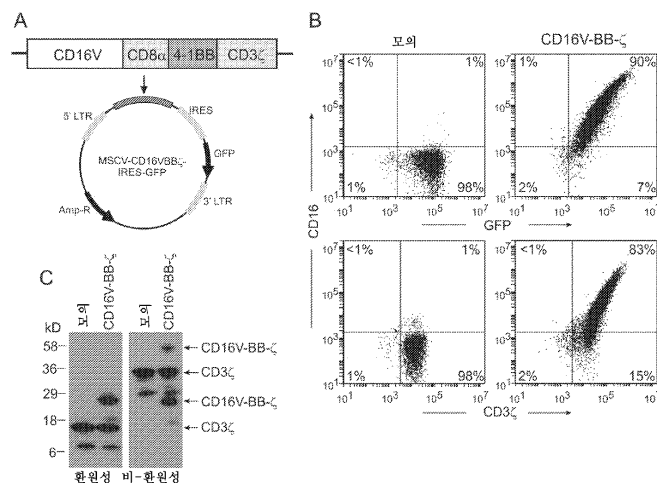
전체 청구항 수 : 총 72 항

(54) 발명의 명칭 키메라 수용체 및 면역 요법에서의 그의 용도

(57) 요약

본원에서는 면역글로불린 분자 (Ig)의 Fc 부위에 대하여 친화성을 가지고, 그에 특이적인 세포의 도메인인 Fc-결합 도메인; 막횡단 도메인; 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인; 및 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프 (ITAM)를 포함하는 세포질 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 개시한다. 상기 키메라 수용체를 코딩하는 핵산 및 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포 또한 제공한다. 상기 면역 세포는 항체-의존성 세포-매개 세포독성을 증진시키는 데 및/또는 항체-기반 면역요법, 예컨대, 암 면역요법을 증진시키는 데 사용될 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

C07K 14/70517 (2013.01)

C07K 14/70535 (2013.01)

C12N 5/0636 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

C07K 2319/02 (2013.01)

C07K 2319/03 (2013.01)

C07K 2319/70 (2013.01)

C12N 2510/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

(a) Fc 결합 도메인;

(b) 막횡단 도메인;

(c) 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인; 및

(d) 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프 (ITAM)를 포함하는 세포질 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 수용체이며; 여기서, (c) 또는 (d)는 키메라 수용체의 C-말단에 위치하고;

여기서,

(i) (a)가 CD16A의 세포의 리간드 결합 도메인인 경우, (d)는 Fc 수용체의 ITAM 도메인을 포함하지 않고,

(ii) 키메라 수용체가 N-말단에서부터 C-말단으로 F158 CD16A 또는 V158 CD16A의 세포의 리간드 결합 도메인, CD8 α 의 힌지 및 막횡단 도메인, 4-1BB의 공동 자극 신호전달 도메인, 및 CD3 ζ 의 세포질 신호전달 도메인을 포함하는 수용체는 아닌 것인, 키메라 수용체.

청구항 2

제1항에 있어서, (d)가 키메라 수용체의 C-말단에 위치하는 것인 키메라 수용체.

청구항 3

제1항 또는 제1항에 있어서, (a)의 C-말단과 (b)의 N-말단 사이에 위치하는 (e) 힌지 도메인을 추가로 포함하는 키메라 수용체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 수용체의 N-말단에 신호 펩티드를 추가로 포함하는 키메라 수용체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, (a)의 Fc 결합 도메인이

(i) 임의적으로 Fc-감마 수용체, Fc-알파 수용체, 또는 Fc-엡실론 수용체인 Fc-수용체의 세포의 리간드 결합 도메인,

(ii) 면역글로불린의 Fc 부위에 결합하는 항체 단편,

(iii) 면역글로불린의 Fc 부위에 결합하는 자연적으로 발생된 단백질 또는 그의 Fc-결합 단편, 및

(iv) 면역글로불린의 Fc 부위에 결합하는 합성 폴리펩티드

로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 키메라 수용체.

청구항 6

제5항에 있어서, Fc 결합 도메인이 (i) CD16A, CD32A, 또는 CD64A의 세포의 리간드 결합 도메인인 키메라 수용체.

청구항 7

제6항에 있어서, Fc 결합 도메인이 CD32A 또는 CD64A의 세포의 리간드 결합 도메인인 키메라 수용체.

청구항 8

제5항에 있어서, Fc 결합 도메인이 (ii) 단일쇄 가변 단편 (ScFv), 도메인 항체, 또는 나노바디인 키메라 수용체.

청구항 9

제5항에 있어서, Fc 결합 도메인이 (iii) 단백질 A 또는 단백질 G인 키메라 수용체.

청구항 10

제5항에 있어서, Fc 결합 도메인이 (iv) 쿠니츠(Kunitz) 펩티드, SMIP, 아비머, 어피바디, DARPin, 또는 안티칼린인 키메라 수용체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, (b)의 막횡단 도메인이 단일 통과 막 단백질의 것인 키메라 수용체.

청구항 12

제11항에 있어서, 막횡단 도메인이 CD8 α , CD8 β , 4-1BB, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16A, OX40, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , CD32, CD64, VEGFR2, FAS, 및 FGFR2B로 이루어진 군으로부터 선택되는 막 단백질의 것인 키메라 수용체.

청구항 13

제11항에 있어서, 막횡단 도메인이 CD8 β , 4-1BB, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16A, OX40, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , CD32, CD64, VEGFR2, FAS, 및 FGFR2B로 이루어진 군으로부터 선택되는 막 단백질의 것인 키메라 수용체.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, (b)의 막횡단 도메인이 비-자연적으로 발생된 소수성 단백질 세그먼트인 키메라 수용체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, (c)의 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인이 4-1BB, CD28, CD28_{LL→GG} 변이체, OX40, ICOS, CD27, GITR, HVEM, TIM1, LFA1, 및 CD2로 이루어진 군으로부터 선택되는 공동 자극 분자의 것인 키메라 수용체.

청구항 16

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, (c)의 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인이 CD28, CD28_{LL→GG} 변이체, OX40, ICOS, CD27, GITR, HVEM, TIM1, LFA1, 및 CD2로 이루어진 군으로부터 선택되는 공동 자극 분자의 것인 키메라 수용체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 수용체가 2개의 공동 자극 신호전달 도메인을 포함하는 것인 키메라 수용체.

청구항 18

제17항에 있어서, 2개의 공동 자극 도메인이

(i) CD28 및 4-1BB; 또는

(ii) CD28_{LL→GG} 변이체 및 4-1BB인 키메라 수용체.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, (d)의 세포질 신호전달 도메인이 CD3 ζ 또는 Fc ϵ R1 γ 의 세포질 도메인인 키메라 수용체.

청구항 20

제3항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, (e)의 힌지 도메인이 CD8 α 또는 IgG의 것인 키메라 수용체.

청구항 21

제3항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 힌지 도메인이 비-자연적으로 발생된 펩티드인 키메라 수용체.

청구항 22

제21항에 있어서, 힌지 도메인이 연장된 재조합 폴리펩티드 (XTEN) 또는 (Gly₄Ser)_n 폴리펩티드이고, 여기서, n은 정수 3-12인 키메라 수용체.

청구항 23

제3항에 있어서, 표 3에 제시된 성분 (a)-(e)를 포함하는 키메라 수용체.

청구항 24

제23항에 있어서, 서열식별번호(SEQ ID NO): 2-11로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 수용체.

청구항 25

제3항에 있어서, 표 4에 제시된 성분 (a)-(e)를 포함하는 키메라 수용체.

청구항 26

제25항에 있어서, 서열식별번호: 12-17로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 수용체.

청구항 27

제3항에 있어서, 표 5에 제시된 성분 (a)-(e)를 포함하는 키메라 수용체.

청구항 28

제27항에 있어서, 서열식별번호: 18-30, 및 32-56으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 수용체.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항의 키메라 수용체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산.

청구항 30

제29항에 있어서, RNA 분자인 핵산.

청구항 31

제29항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 32

제31항에 있어서, 발현 벡터인 벡터.

청구항 33

제32항에 있어서, 바이러스 벡터인 벡터.

청구항 34

제33항에 있어서, 바이러스 벡터가 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터인 벡터.

청구항 35

제29항 또는 제30항의 핵산, 또는 제31항 내지 제34항 중 어느 한 항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 36

제35항에 있어서, 면역 세포인 숙주 세포.

청구항 37

제36항에 있어서, 면역 세포가 자연살 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, 또는 T 세포인 숙주 세포.

청구항 38

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 숙주 세포가, 내인성 T 세포 수용체의 발현이 억제, 또는 제거되어 있는 T 세포인 숙주 세포.

청구항 39

(a) 제20항 또는 제30항의 핵산, 제31항 내지 제34항 중 어느 한 항의 벡터, 또는 제35항 내지 제38항 중 어느 한 항의 숙주 세포, 및 (b) 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 40

제39항에 있어서, Fc-함유 치료제를 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 41

제40항에 있어서, Fc-함유 치료제가 Fc 융합 단백질인 제약 조성물.

청구항 42

제40항에 있어서, Fc-함유 치료제가 치료학적 항체 또는 Fc 융합 단백질인 제약 조성물.

청구항 43

제42항에 있어서, Fc-함유 치료제가 아달리무맙, 아도-트라스투주맙 엠탄신, 알렘투주맙, 바실릭시맙, 베바시주맙, 벨리무맙, 브렌톡시맙, 카나키누맙, 세톡시맙, 다클리주맙, 데노수맙, 디누톡시맙, 에컬리주맙, 에팔리주맙, 에프라투주맙, 켐투주맙, 골리무맙, 인플릭시맙, 이필리무맙, 라베투주맙, 나탈리주맙, 오비누투주맙, 오파투무맙, 오말리주맙, 팔리비주맙, 파니투무맙, 퍼투주맙, 라무시루맙, 리툽티맙(Rituximab), 토실리주맙, 트라스투주맙, 우스테키누맙, 및 베돌리주맙으로 이루어진 군으로부터 선택되는 치료학적 항체인 제약 조성물.

청구항 44

(i) 제29항 또는 제30항의 핵산, 제31항 내지 제34항 중 어느 한 항의 벡터, 또는 제35항 내지 제38항 중 어느 한 항의 숙주 세포, 및 (ii) 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제1 제약 조성물; 및

Fc-함유 치료제 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 제약 조성물

을 포함하는 키트.

청구항 45

제44항에 있어서, Fc-함유 치료제가 Fc 융합 단백질인 키트.

청구항 46

제44항에 있어서, Fc-함유 치료제가 치료학적 항체인 키트.

청구항 47

제46항에 있어서, 치료학적 항체가 아달리무맙, 아도-트라스투주맙 엠탄신, 알렘투주맙, 바실릭시맙, 베바시주

맵, 벨리무맵, 브렌톡시맵, 카나키누맵, 세톡시맵, 다클리주맵, 데노수맵, 디누톡시맵, 에쿨리주맵, 에팔리주맵, 에프라투주맵, 젠투주맵, 골리무맵, 인플릭시맵, 이필리무맵, 라베투주맵, 나탈리주맵, 오비누투주맵, 오파투무맵, 오말리주맵, 팔리비주맵, 파니투무맵, 퍼투주맵, 라무시루맵, 리톡티맵, 토실리주맵, 트라투주맵, 우스테키누맵, 및 베돌리주맵으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 키트.

청구항 48

유효량의 제1항 내지 제28항 중 어느 한 항의 키메라 수용체를 발현하는 숙주 면역 세포, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 대상체에서 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 증진시키는 데 사용하기 위한, 또는 항체-기반 면역요법의 효능을 증진시키기 위한 제약 조성물.

청구항 49

제48항에 있어서, 숙주 면역 세포가 자연살 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, T 세포, 또는 그의 조합인 제약 조성물.

청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 숙주 면역 세포가 자가 유래인 제약 조성물.

청구항 51

제48항 또는 제49항에 있어서, 숙주 면역 세포가 동종이계인 제약 조성물.

청구항 52

제48항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 숙주 면역 세포가 생체외에서 활성화되거나, 확장되거나, 또는 그들 모두가 이루어지는 것인 제약 조성물.

청구항 53

제48항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 Fc-함유 치료제로 치료받은 적이 있거나, 또는 치료받고 있는 중인 대상체인 제약 조성물.

청구항 54

제53항에 있어서, Fc-함유 치료제가 치료학적 항체 또는 Fc 융합 단백질인 제약 조성물.

청구항 55

제54항에 있어서, Fc-함유 치료제가 아달리무맵, 아도-트라스투주맵 엠탄신, 알렘투주맵, 바실릭시맵, 베바시주맵, 벨리무맵, 브렌톡시맵, 카나키누맵, 세톡시맵, 세톨리주맵, 다클리주맵, 데노수맵, 디누톡시맵, 에쿨리주맵, 에팔리주맵, 에프라투주맵, 젠투주맵, 골리무맵, 이브리투모맵, 인플릭시맵, 이필리무맵, 라베투주맵, 무로모넵, 나탈리주맵, 오비누투주맵, 오파투무맵, 오비누투주맵, 오말리주맵, 팔리비주맵, 파니투무맵, 퍼투주맵, 라무시루맵, 라니비주맵, 리톡티맵, 트로실리주맵(TRocilizumab), 토시투모맵, 트라투주맵, 우스테키누맵, 및 베돌리주맵으로 이루어진 군으로부터 선택되는 치료학적 항체인 제약 조성물.

청구항 56

제53항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 암을 앓는 인간 환자이고, Fc-함유 치료제가 암 치료용인 제약 조성물.

청구항 57

제56항에 있어서, 암이 암종, 림프종, 육종, 모세포종, 및 백혈병으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 58

제57항에 있어서, 암이 B 세포 기원의 암, 유방암, 위암, 신경모세포종, 골육종, 폐암, 피부암, 전립선암, 결장

암, 신장 세포 암종, 난소암, 횡문근육종, 백혈병, 중피종, 췌장암, 두부경부암, 망막모세포종, 신경교종, 교모 세포종, 및 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 59

제58항에 있어서, B 세포 기원의 암이 B 계통 급성 림프모구성 백혈병, B 세포 만성 림프구성 백혈병, 및 B 세포 비호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 60

(i) 면역 세포 집단을 제공하는 단계;

(ii) 면역 세포 내로 제1항 내지 제28항 중 어느 한 항의 키메라 수용체를 코딩하는 핵산을 도입하는 단계; 및

(iii) 키메라 수용체가 발현될 수 있도록 허용하는 조건하에서 면역 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포를 제조하는 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 면역 세포 집단이 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)로부터 유래된 것인 방법.

청구항 62

제60항 또는 제61항에 있어서, 면역 세포가 자연살 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, T 세포, 또는 그의 조합인 방법.

청구항 63

제60항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포가 인간 환자로부터 유래된 것인 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 인간 환자가 암 환자인 방법.

청구항 65

제60항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 바이러스 벡터인 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 바이러스 벡터가 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터인 방법.

청구항 67

제60항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산이 RNA 분자인 방법.

청구항 68

제60항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 벡터가 렌티바이러스 형질도입, 레트로바이러스 형질도입, DNA 전기천공, 또는 RNA 전기천공에 의해 면역 세포 내로 도입되는 것인 방법.

청구항 69

제60항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, (iv) 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포를 활성화시키는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 면역 세포가, 항-CD3 항체, 항-CD28 항체, IL-2, 및 피토헤모아글루티닌 중 하나 이상의 존재 하에서 활성화되는 T 세포를 포함하는 것인 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 면역 세포가, 내인성 T 세포 수용체가 억제 또는 제거되어 있는 T 세포인 방법.

청구항 72

제69항에 있어서, 면역 세포가, 4-1BB 리간드, 항-4-1BB 항체, IL-15, 항-IL-15 수용체 항체, IL-2, IL-12, IL-21 및 K562 세포 중 하나 이상의 존재하에서 활성화되는 자연살 세포를 포함하는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 35 U.S.C. § 119하에 2014년 9월 9일 출원된 미국 가출원 번호 62/047,916의 이익을 주장하고, 상기 출원의 전체 내용은 본원에서 참조로 포함된다.

배경 기술

[0003]

세포 기반 요법, 항체 요법 및 시토카인 요법을 비롯한, 암 면역요법은 정상 조직은 해를 입히지 않고 그대로 두면서, 종양 세포를 공격하는 면역 반응을 유발하는 데 사용된다. 약물 내성의 유전적 기전 및 세포 기전을 회피할 수 있고, 정상 조직은 해를 입히지 않고 그대로 두면서, 종양 세포를 표적화할 수 있는 그의 잠재능에 기인하여, 상기 요법은 다양한 유형의 암을 치료하는 데 있어 유망한 옵션이 된다. T-림프구는 혈액 악성종양에 대한 동종이계 조혈 줄기 세포 이식 (HSCT)의 결과로서 입증되는 바와 같이, 주요한 항-종양 효과를 발휘할 수 있는데, 여기서, T 세포 매개 이식편 대 숙주 질환 (GvHD)은 역으로 질환 재발과 관련이 있으며, 면역억제 중단 또는 공여자 림프구 주입이 재발을 포함할 수 있다 (문헌 [Weiden et al., *NEngl J Med.* 1979;300(19):1068-1073]; [Porter et al., *NEngl J Med.* 1994;330(2):100-106]; [Kolb et al., *Blood.* 1995;86(5):2041-2050]; [Slavin et al., *Blood.* 1996;87(6):2195-2204]; 및 [Appelbaum, *Nature.* 2001;411(6835):385-389]).

[0004]

세포 기반 요법은 암 세포 쪽으로 편향된 반응성을 보이는 세포독성 T 세포를 포함할 수 있다 (문헌 [Eshhar et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*; 1993;90(2):720-724]; [Geiger et al., *J Immunol.* 1999;162(10):5931-5939]; [Brentjens et al., *Nat. Med.* 2003;9(3):279-286]; [Cooper et al., *Blood.* 2003;101(4):1637-1644]; 및 [Imai et al., *Leukemia.* 2004;18:676-684]). 한 접근법은 하나 이상의 T 세포 활성화 신호전달 도메인에 융합된 항원-결합 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체를 발현하는 것이다. 항원-결합 도메인을 통해 암 항원에 결합하게 되면, T 세포는 활성화되고, 세포독성이 유발된다. 키메라 수용체-발현 자가 T 림프구 주입을 이용하여 수행된 임상 시험에 관한 최근의 결과는 그의 임상적 잠재성에 대한 유력한 증거를 제시하였다 (문헌 [Pule et al., *Nat. Med.* 2008;14(11):1264-1270]; [Porter et al., *N Engl J Med.* 2011; 25;365(8):725-733]; [Brentjens et al., *Blood.* 2011;118(18):4817-4828]; [Till et al., *Blood.* 2012;119(17):3940-3950]; [Kochenderfer et al., *Blood.* 2012;119(12):2709-2720]; 및 [Brentjens et al., *Sci Transl Med.* 2013;5(177):177ra138]).

[0005]

항체 기반 면역요법, 예컨대, 모노클로날 항체, 항체-융합 단백질, 및 항체 약물 접합체 (ADC)는 다수의 암 유형을 비롯한, 매우 다양한 질환을 치료하는 데 사용된다. 상기 요법은 정상 세포 (예컨대, 암이 아닌 세포)에 대해 상대적으로, 제거하고자 하는 세포 (예컨대, 표적 세포, 예컨대, 암 세포) 상에서 차별적으로 발현되는 세포 표면 분자의 인식에 의존할 수 있다. 항체 기반 면역요법의 암 세포에의 결합은 다양한 기전, 예컨대, 항체 의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC), 보체 의존성 세포독성 (CDC), 또는 항체-약물 접합체 (ADC)로부터의 페이로드의 직접적인 세포독성 활성을 통해 암 세포 사멸을 유도할 수 있다.

발명의 내용

[0006]

본 개시내용의 요약

[0007]

본 개시내용은 면역글로불린 (Ig), 예컨대, IgG 항체의 Fc 부위에 대하여 친화성 및 특이성을 가진 세포의 도메인, 막횡단 도메인, 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인, 및 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프 (ITAM)를 포함하는 세포질 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 수용체의 디자인을 기초로 한다. 상기 키메라

수용체 구축물을 발현하는 면역 세포는 예컨대, ADCC 활성을 증진시킴으로써 면역 요법, 예컨대, 항체 기반 면역요법의 효능을 증진시킬 것이다.

- [0008] 따라서, 본 개시내용의 한 측면은 (a) 예컨대, IgG의 Fc 부위에 결합하는 것과 같이, 면역글로불린의 Fc 부위에 결합하는 세포의 도메인 (Fc-결합 도메인); (b) 막횡단 도메인; (c) 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인; 및 (d) ITAM을 포함하는 세포질 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 특징으로 한다. 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인 또는 ITAM을 포함하는 세포질 신호전달 도메인은 본원에 기술된 바와 같이 키메라 수용체 구축물의 C-말단에 위치할 수 있다. 일부 실시양태에서, ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인은 키메라 수용체 구축물의 C-말단에 위치한다. 일부 실시양태에서, (a)는 CD16 (예컨대, CD16A 또는 CD16B)의 세포의 리간드 결합 도메인이고, (d)는 Fc 수용체의 ITAM을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, (d)는 CD3 ζ 또는 Fc ϵ R1 γ 의 세포질 신호전달 도메인이다. 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것은 (a)의 C-말단과 (b)의 N-말단 사이에 위치할 수 있는, (e) 힌지 도메인을 추가로 포함할 수 있다.
- [0009] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물의 (a)는 Fc 수용체, 예컨대, Fc-감마 수용체, Fc-알파 수용체, 또는 Fc-엡실론 수용체의 세포의 리간드 결합 도메인이다. 예를 들어, (a)는 CD16 (예컨대, CD16A 또는 CD16B), CD32 (예컨대, CD32A, 또는 CD32B), 또는 CD64 (예컨대, CD64A, CD64B, 또는 CD64C)의 세포의 리간드 결합 도메인이다. 일부 예에서, (a)는 CD16의 세포의 리간드 결합 도메인이 아니다. 다른 실시양태에서, (a)는 CD32 (예컨대, CD32A, 또는 CD32B)의 세포의 리간드 결합 도메인이다.
- [0010] 다른 실시양태에서, (a)는 Ig 분자, 예컨대, IgG 분자의 Fc 부위에 결합할 수 있는, 비-Fc 수용체 자연적으로 발생된 단백질의 것이다. 예를 들어, (a)는 단백질 A 또는 단백질 G 전체 또는 그의 일부일 수 있다. 대안적으로, (a)는 단일 체 가변 단편 (scFv), 또는 도메인 항체, 나노바디를 포함하나 이에 제한되지 않는, IgG 분자의 Fc 부위에 결합하는 항체 단편일 수 있다.
- [0011] 추가의 다른 실시양태에서, (a)는 쿠니츠(Kunitz) 도메인 펩티드, 소형 모듈형 면역제약 (SMIP), 에드넥틴, 아비마, 어피마디, DARPin, 또는 안티칼린을 비롯한, IgG 분자의 Fc 부위에 결합할 수 있는 디자인된 (예컨대, 비-자연적으로 발생된) 펩티드이다.
- [0012] 대안적으로, 또는 추가로, (b)인, 키메라 수용체의 막횡단 도메인은 CD8 α , CD8 β , 4-1BB, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ R1 γ , CD16 (예컨대, CD16A 또는 CD16B), OX40, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , CD32 (예컨대, CD32A 또는 CD32B), CD64 (예컨대, CD64A, CD64B, 또는 CD64C), VEGFR2, FAS, 및 FGFR2B를 포함하나, 이에 제한되지 않는, 단일 통과 막 단백질의 것일 수 있다. 일부 예에서, 막 단백질은 CD8 α 가 아니다. 막횡단 도메인은 또한 비-자연적으로 발생된 소수성 단백질 세그먼트일 수 있다.
- [0013] 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물 중 임의의 것에서, 본원에 기술된 키메라 수용체의 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인은 공동 자극 분자, 예컨대, 4-1BB (CD137로도 또한 공지됨), CD28, CD28_{LL→GG} 변이체, OX40, ICOS, CD27, GITR, HVEM, TIM1, LFA1, 또는 CD2의 것일 수 있다. 일부 예에서, 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인은 4-1BB로부터의 것이 아니다. 일부 예에서, 키메라 수용체는 2개의 공동 자극 신호전달 도메인, 예컨대, CD28 및 4-1BB, 또는 CD28_{LL→GG} 변이체 및 4-1BB를 포함한다.
- [0014] 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것에서, 힌지 도메인은 단백질, 예컨대, CD8 α , 또는 IgG의 것일 수 있다. 예를 들어, 힌지 도메인은 CD8 α 의 막횡단 또는 힌지 도메인의 단편일 수 있다. 일부 예에서, 힌지 도메인은 CD8 α 의 힌지 도메인이 아니다. 일부 예에서, 힌지 도메인은 비-자연적으로 발생된 펩티드, 예컨대, 다양한 길이의, 친수성 잔기로 이루어진 폴리펩티드 (XTEN) 또는 (Gly₄Ser)_n 폴리펩티드 (여기서, n은 정수 3-12이다)이다.
- [0015] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것은 그의 N-말단에 신호 펩티드, 예컨대, 서열식별번호(SEQ ID NO): 61의 아미노산 서열을 포함할 수 있는, CD8 α 의 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다.
- [0016] 본원에 기술된 키메라 수용체의 예는 하기 표 3, 표 4, 및 표 5에 제시된 것과 같은 성분 (a)-(e)를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 키메라 수용체는 서열식별번호: 2-30 및 32-56으로부터 선택되는 아미노산 서열, 또는 참조 서열의 신호 펩티드를 제외한, 그의 단편을 포함한다.
- [0017] 구체적인 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체는 F158 *FCGR3A* (F158 CD16A) 또는 V158 *FCGR3A* 변이체 (V158 CD16A)의 세포의 리간드 결합 도메인을 포함할 수 있다. 상기 세포의 리간드 결합 도메인은 각각 서열식별번호: 70 및 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

- [0018] 다른 구체적인 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체는 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함할 수 있는, CD8 α의 힌지 및 막횡단 도메인을 포함할 수 있다.
- [0019] 대안적으로, 또는 추가로, 본원에 기술된 키메라 수용체는 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함할 수 있는, 4-1BB의 공동 자극 신호전달 도메인을 포함할 수 있다.
- [0020] 추가의 다른 구체적인 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체는 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 포함할 수 있는, CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인을 포함할 수 있다.
- [0021] 일부 예에서, 본원에 기술된 키메라 수용체는 CD8 α의 신호 펩티드, F158 CD16A 또는 V158 CD16A의 세포외 도메인, CD8 α의 힌지 및 막횡단 도메인, 4-1BB의 공동 자극 신호전달 도메인, 및 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인을 포함하는 수용체가 아니다. 특정 예에서, 본원에 기술된 키메라 수용체는 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하지 않는다.
- [0022] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 (예컨대, DNA 분자 또는 RNA 분자); 상기 핵산을 포함하는 벡터 (예컨대, 발현 벡터); 및 숙주 세포 (예컨대, 면역 세포, 예컨대, 자연살 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, 및 T 세포)를 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예컨대, 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 트랜스포존이거나, 트랜스포존을 함유한다.
- [0023] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것을 발현하는 숙주 세포는 T 림프구 또는 NK 세포이며, 이 둘 모두는 생체외에서 활성화될 수 있고/거나, 확장될 수 있다. 일부 예에서, T 림프구 또는 NK 세포는 암을 앓는 환자 (예컨대, 인간 환자)로부터 단리된 자가 T 림프구 또는 자가 NK 세포이다. 일부 예에서, T 림프구 또는 NK 세포는 동종이계 T 림프구 또는 동종이계 NK 세포이다. T 림프구는 동종이계 T 림프구일 수 있고, 여기서, 내인성 T 세포 수용체의 발현은 억제되거나, 또는 제거될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, T 림프구는 항-CD3/CD28, IL-2, 및 피토헤모아글루티닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 작용제의 존재하에서 활성화될 수 있다. NK 세포는 CD137 리간드 단백질, CD137 항체, IL-15 단백질, IL-15 수용체 항체, IL-2 단백질, IL-12 단백질, IL-21 단백질, 및 K562 세포주로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 작용제의 존재하에서 활성화될 수 있다.
- [0024] 추가의 또 다른 측면에서, 본원에서는 (a) 본원에 기술된 핵산 또는 숙주 세포, 및 (b) 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 기술한다. 일부 예에서, 조성물은 Fc-함유 단백질, 예컨대, 항체 (예컨대, IgG 항체) 또는 Fc-융합 단백질을 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, 항체는 암 세포에 세포독성이다. 상기 항체는 인간 CD16 (*FCGR3A*)에 결합하는 인간 또는 인간화 Fc 부위를 포함할 수 있다. 치료학적 항체로는 아달리무맙 (Adalimumab), 아도-트라스투주맙 엠탄신 (Ado-Trastuzumab emtansine), 알렘투주맙 (Alemtuzumab), 바실릭시맙 (Basiliximab), 베바시주맙 (Bevacizumab), 벨리무맙 (Belimumab), 브렌투시맙 (Brentuximab), 카나키누맙 (Canakinumab), 세톡시맙 (Cetuximab), 다클리주맙 (Dacilizumab), 데노수맙 (Denosumab), 디누톡시맙 (Dinutuximab), 에쿨리주맙 (Eculizumab), 에팔리주맙 (Efalizumab), 에프라투주맙 (Epratuzumab), 겐투주맙 (Gemtuzumab), 골리무맙 (Golimumab), 인플릭시맙 (Infliximab), 이필리무맙 (Ipilimumab), 라베투주맙 (Labetuzumab), 나탈리주맙 (Natalizumab), 오비누투주맙 (Obinutuzumab), 오파투무맙 (Ofatumumab), 오말리주맙 (Omalizumab), 팔리비주맙 (Palivizumab), 파니투무맙 (Panitumumab), 퍼투주맙 (Pertuzumab), 라무시루맙 (Ramucirumab), 리툽티맙 (Rituximab), 토실리주맙 (Tocilizumab), 트라투주맙 (Trastuzumab), 우스테키누맙 (Ustekinumab), 또는 베돌리주맙 (Vedolizumab)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0025] 본원에서는 또한 (a) 본원에 기술된 핵산 또는 숙주 세포 중 임의의 것을 포함하는 제1 제약 조성물; 및 (b) Fc-함유 단백질, 예컨대, 항체 (예컨대, IgG 항체) 또는 Fc-융합 단백질 (예컨대, 본원에 기술된 것) 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 제약 조성물을 포함하는 키트를 제공한다.
- [0026] 추가로, 본 개시내용은 대상체에서 항체 의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 증진시키는 방법을 제공한다. 본 방법은 치료를 필요로 하는 대상체 (예컨대, 인간 암 환자)에게 유효량의, 본원에서 제공하는 키메라 수용체 중 임의의 것을 발현하는 숙주 세포를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 면역 세포, 예컨대, 자연살 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, T 세포, 또는 그의 조합이다. 일부 예에서, 숙주 면역 세포는 자가 유래이다. 다른 예에서, 숙주 면역 세포는 동종이계 세포이다. 숙주 면역 세포 중 임의의 것은 생체외에서 활성화되거나, 확장되거나, 또는 그 둘 모두가 이루어질 수 있다.
- [0027] 대상체는 인간 CD16에 결합하는 인간 또는 인간화 Fc 부위를 포함할 수 있는 항암 항체에 의한 치료를 받을 수

있다. 대상체는 암, 예컨대, 암종, 림프종, 육종, 모세포종, 및 백혈병을 앓는 환자일 수 있다. 예를 들어, 환자는 B 세포 기원의 암, 유방암, 위암, 신경모세포종, 골육종, 폐암, 흑색종, 전립선암, 결장암, 신장 세포 암종, 난소암, 횡문근육종, 백혈병, 및 호지킨 림프종을 앓는 환자일 수 있다. B 세포 기원의 암으로는 B 계통 급성 림프모구성 백혈병, B 세포 만성 림프구성 백혈병, 및 B 세포 비호지킨 림프종을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 항체 기반 면역요법의 효능을 증진시키는 방법에 관한 것이다. 본 방법은 치료학적 항체 (예컨대, 본원에 기술된 치료학적 항체 중 임의의 것)으로 치료받은 적이 있거나, 또는 치료받고 있는 대상체에게 유효량의, 본원에서 제공하는 키메라 수용체 중 임의의 것을 발현하는 숙주 세포를 투여하는 단계를 포함한다. 예시적인 숙주 면역 세포로는 자연살 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, T 세포, 또는 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 예에서, 숙주 면역 세포는 자가 유래인 것이다. 다른 예에서, 숙주 면역 세포는 동종이계 세포인 것이다. 숙주 면역 세포 중 임의의 것은 생체외에서 활성화되거나, 확장되거나, 또는 그 둘 모두가 이루어질 수 있다.

[0029] 일부 예에서, 키메라 수용체를 포함하는 숙주 세포는 Fc-함유 단백질, 예컨대, 본원에 기술된 것과 함께 공동 투여된다. 일부 예에서, 키메라 수용체를 포함하는 숙주 세포는 Fc-함유 단백질 이전 또는 이후에 투여된다. 일부 예에서, 키메라 수용체를 포함하는 숙주 세포가 먼저 투여되고, 이어서, Fc-함유 단백질은 치료학적 반응이 관찰될 때까지 농도를 증가시키기 위해 단계식으로 투여된다.

[0030] 본원에서 제공하는 방법 중 임의의 것에서, 대상체는 암을 앓는 인간 환자일 수 있고, 치료학적 항체는 암을 치료하기 위한 것이다. 일부 예에서, 암은 림프종, 유방암, 위암, 신경모세포종, 골육종, 폐암, 피부암, 전립선암, 결장암, 신장 세포 암종, 난소암, 횡문근육종, 백혈병, 중피종, 췌장암, 두부경부암, 망막모세포종, 신경교종, 교모세포종, 또는 갑상선암이다.

[0031] (a) 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물 중 임의의 것을 발현하는 본원에 기술된 바와 같은 면역 세포 및 제약 상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물로서, 필요로 하는 대상체, 예컨대, 인간 암 환자의 ADCC 활성을 증진시키는 데 및/또는 항체 요법의 효능을 증진시키는 데 사용하기 위한 제약 조성물; 및 (b) 의도하는 치료에서 사용하기 위한 의약 제조를 위한 상기 면역 세포의 용도 또한 본 개시내용의 범주 내에 있다. 제약 조성물 중 임의의 것은 Fc-함유 치료제, 예컨대, 항체 또는 Fc-융합 단백질을 추가로 포함할 수 있거나, 또는 그와 함께 공동으로 사용될 수 있다.

[0032] 추가로, 본 개시내용은 본원에 기술된 바와 같은 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포를 제조하는 방법을 제공한다. 본 방법은 (i) 면역 세포 집단을 제공하는 단계; (ii) 면역 세포 내로 벡터 (예컨대, 바이러스 벡터, 예컨대, 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터, 트랜스포존 또는 트랜스포존 서열을 함유하는 벡터) 또는 본원에서 제공하는 키메라 수용체 중 임의의 것을 코딩하는 네이키드 핵산 (예컨대, mRNA)을 도입하는 단계; 및 (iii) 키메라 수용체가 발현될 수 있도록 허용하는 조건하에서 면역 세포를 배양하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 (iv) 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포를 활성화시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 면역 세포가 T 세포를 포함하는 경우인 예에서, T 세포는 항-CD3 항체, 항-CD28 항체, IL-2, 및 피토헤모아글루티닌 중 하나 이상의 것의 존재하에서 활성화될 수 있다. T 세포는 내인성 T 세포 수용체의 발현이 억제되거나, 또는 제거될 수 있도록 조작될 수 있다. 면역 세포가 자연살 세포를 포함하는 경우인 예에서, 자연살 세포는 4-1BB 리간드, 항-4-1BB 항체, IL-15, 항-IL-15 수용체 항체, IL-2, IL-12, IL-21 및 K562 세포 중 하나 이상의 것의 존재하에서 활성화될 수 있다.

[0033] 일부 실시양태에서, 면역 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)로부터 유래된 것이다. 예시적인 면역 세포로는 자연살 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, T 세포, 또는 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 면역 세포 (예컨대, PBMC)는 인간 암 환자로부터 유래된 것이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 인간 공여자로부터 유래된 것이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 인간 환자 또는 인간 공여자로부터 유래된 줄기 세포 또는 줄기-유사 세포로부터 분화된 것이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 확립된 세포주, 예컨대, NK-92 세포이다.

[0034] 본원에서 제공하는 방법 중 임의의 것에서, 벡터는 렌티바이러스 형질도입, 레트로바이러스 형질도입, DNA 전기천공, 또는 RNA 전기천공에 의해 면역 세포 내로 도입될 수 있다. 다른 예에서, 본원에 기술된 키메라 수용체를 코딩하는 RNA 분자는 발현을 위해 면역 세포 내로 도입될 수 있다.

[0035] 본 개시내용의 하나 이상의 실시양태에 관한 상세한 설명은 하기의 설명에서 기재한다. 본 개시내용의 다른 특

징 또는 이점은 수개의 실시양태의 상세한 설명으로부터, 및 청구된 특허청구범위로부터 자명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0036]

하기 도면은 본 명세서의 일부를 형성하며, 본 개시내용의 특정 측면을 추가로 입증하기 위해 포함되며, 이는 본원에서 제시하는 구체적인 실시양태의 상세한 설명과 함께 조합하여 상기 도면 중 하나 이상의 것을 참조하여 더욱 잘 이해될 수 있다.

도 1은 T 세포에서의 CD16V-BB-ζ 수용체의 발현을 입증하는 다이어그램이다. A: CD16V-BB-ζ 수용체 구축물을 나타낸 개략도. B: 말초 혈액 T 림프구에서의 CD16V-BB-ζ 수용체의 발현을 보여주는 그래프. 유세포 분석 점도표는 GFP 단독 (모의) 또는 GFP 및 CD16V-BB-ζ를 함유하는 벡터가 형질도입된 활성화된 T 림프구에서의 GFP 또는 CD3ζ와 함께 조합된 CD16 (B73.1 항체)의 발현을 도시한 것이다. 각 사분면에는 양성 세포의 비율(%)이 제시되어 있다. C: GFP 단독 또는 CD16V-BB-ζ가 형질도입된 T 림프구로부터의 세포 용해물의 대표적인 웨스턴 블롯을 보여주는 사진이다. 막을 항-CD3ζ 항체로 프로빙하였다.

도 2는 T 세포 서브세트에서의 CD16V-BB-ζ 수용체의 발현을 보여주는 것이다. A: GFP 단독 (모의)을 함유하는 벡터, 및 CD16V-BB-ζ 구축물을 함유하는 벡터로 활성화된 CD3+ T 림프구를 형질도입하였다. 유세포 분석법에 의해 CD4+ 및 CD8+ 세포에서의 CD16의 발현을 시험하였다. 점도표는 하나의 대표적인 실험의 결과를 보여주는 것이다. B: 3명의 공여자로부터의 T 림프구를 이용하여 수득한 결과 (평균 ± SD) 요약 (P = N.S.).

도 3은 CD16V-BB-ζ 수용체의 항체 결합 능력을 입증하는 것이다. A: GFP (모의), 또는 GFP 및 CD16V-BB-ζ를 함유하는 벡터가 형질도입되고, 30분 동안 리투시맵(Rituximab)과 함께 인큐베이션된 T 림프구; 피코에리트린에 접합된 염소-항 인간 IgG 항체 (GAH IgG) 및 유세포 분석법을 이용하여 세포 표면에 결합된 항체의 양을 시각화하였다. B: CD16V-BB-ζ (V158) 또는 CD16F-BB-ζ (F158)가 형질도입되고, 30분 동안 리투시맵과 함께 인큐베이션된 저켓(Jurkat) 세포. 플롯은 두 수용체를 발현하는 세포를 이용하여 수득된, GFP의 평균 형광 강도 (MFI), 및 GAH IgG의 MFI 사이의 관계를 비교한 것이다. C: 리투시맵의 존재하에서 칼세인 AM 오렌지-레드로 표지된, 다우디(Daudi) 세포와 함께 공동 배양된, 모의-형질도입된, 또는 CD16V-BB-ζ가 형질도입된 저켓 세포. 각 점도표의 우측 상부 사분면에는 세포 응집체가 정량화되어 있다. D: 패널 C에 도시된 응집 검정 요약. 막대는 3회에 걸쳐 수행된 실험의 평균 ± SD를 보여주는 것이다. 리투시맵 ("Ab")의 존재하에서 CD16V-BB-ζ가 형질도입된 저켓 세포에서 측정된 응집이 3개의 다른 배양 조건하에서 측정된 것보다 유의적으로 더 높았다 (t 검정에 의해 P<0.001).

도 4는 트라스투주맵 및 인간 IgG에 결합하는 CD16V-BB-ζ 및 CD16F-BB-ζ 수용체의 상대적인 능력을 보여주는 것이다. CD16V-BB-ζ (V158; 검은색 기호) 또는 CD16F-BB-ζ (F158; 흰색 기호)가 형질도입된 저켓 세포를 30분 동안 트라스투주맵 또는 인간 IgG와 함께 인큐베이션시켰다. 플롯은 수용체 중 어느 하나를 발현하는 세포를 이용하여 수득된, GFP의 평균 형광 강도 (MFI), 및 PE에 접합된 염소-항 인간 (GAH) IgG의 MFI 사이의 관계를 비교한 것이다 (트라스투주맵 및 IgG, 둘 모두에 대하여 P<0.0001).

도 5는 CD16V-BB-ζ 수용체로의 면역글로불린 결합이 T 세포 활성화, 용해성 과립의 엑소사이토시스, 및 세포 증식을 유도한다는 것을 입증하는 것이다. A: GFP (모의), 또는 GFP 및 CD16V-BB-ζ를 함유하는 벡터가 형질도입된 T 림프구를 리투시맵으로 코팅된 마이크로타이터 플레이트에서 IL-2의 부재하에 48시간 동안 배양하였다; 유세포 분석법에 의해 CD25의 발현을 측정하였다. B: A에 도시된 시험의 결과 요약, 막대는 GFP+ 세포에서의 CD25 발현 (3명의 공여자로부터의 T 세포를 이용하여 수행된 실험의 평균 ± SD)을 보여주는 것이다; CD25 발현은 다른 실험 조건에서보다 리투시맵 ("Ab")의 존재하에서 CD16V-BB-ζ가 형질도입된 T 림프구에서 유의적으로 더 높았다 (P≤0.003). C: GFP (모의), 또는 GFP 및 CD16V-BB-ζ를 함유하는 벡터가 형질도입된, 4명의 공여자로부터의 T 림프구를 A에서와 같이 (n =3) 또는 다우디 세포 (n =3)와 함께 4시간 동안 배양하였다; CD107a 염색을 유세포 분석법으로 측정하였다. 막대는 6회 수행된 실험의 평균 ± SD를 보여주는 것이다; CD107a 발현은 다른 실험 조건에서보다 리투시맵 ("Ab")의 존재하에서 CD16V-BB-ζ가 형질도입된 T 림프구에서 유의적으로 더 높았다 (P<0.0001). D: 최대 4주 동안 단독으로, 또는 다우디 세포 존재하에 또는 부재하에 리투시맵과 함께 배양된 모의- 또는 CD16V-BB-ζ-형질도입된 T 림프구. 기호는 유입 세포수와 비교하였을 때의 세포 회수율 (%) (3명의 공여자로부터의 T 세포를 이용하여 수행된 실험의 평균 ± SD)을 나타낸다.

도 6은 시험관내에서의 CD16V-BB-ζ T 림프구에 의해 매개되는 항체 의존성 세포 세포독성을 입증하는 것이다. A: 상응하는 항체의 존재하에서의 모의- 또는 CD16V-BB-ζ-형질도입된 T 림프구에 의해 매개된 암 세포주에 대한 세포독성을 나타내는 대표적인 예. 각 기호는 삼중으로 수행된 배양의 평균 (3개의 비교물 모두에 대한 대

응표본 t 검정에 의해 $P<0.01$)을 나타내는 것이다. 전체 데이터 세트는 도 7에 제시되어 있다. B: 만성 림프구성 백혈병 (CLL) 환자로부터의 1차 세포에 대한, 리툭시맵 ("Ab")의 존재 또는 부재하의, 모의- 또는 CD16V-BB- ζ -형질도입된 T 림프구의 세포독성. (각 환자에 대하여 다른 음영으로 표시된) 각 막대는 2:1 E:T 비율로 3중으로 4시간 동안의 검정법으로 측정된, 평균 (\pm SD) 세포독성에 상응하는 것이다. CD16V-BB- ζ T 세포 및 항체인 경우의 세포독성이 나머지 다른 3개의 조건 중 임의의 것에서 측정된 것보다 유의적으로 더 높았고 (t 검정에 의해 $P<0.0001$); 모의-형질도입된 T 세포의 경우, 항체 첨가가 세포독성을 증가시켰다 ($P = 0.016$); 나머지 다른 모든 비교물: $P>0.05$. C: 중간엽 기질 세포 (MSC)의 존재하에서 1:2 E:T에서의 24시간 경과 후, 패널 B에서 시험된 같은 CLL 샘플에 대한 세포독성. 각 막대는 2회 수행된 시험의 평균에 상응하는 것이다. CD16V-BB- ζ T 세포 + 항체 경우의 세포독성이 항체 단독 ($P = 0.0002$) 또는 세포 단독 ($P<0.0001$)인 경우에서보다 유의적으로 더 높았고 ($P<0.0001$); 항체 단독인 경우의 세포독성이 세포 단독인 경우에서보다 유의적으로 더 높았다 ($P = 0.0045$).

도 7은 4시간 동안의 시험관내 세포독성 검정법의 총체적 결과를 보여주는 것이다. 모의- 또는 CD16V-BB- ζ T 림프구를 제시된 세포주, 및 비반응성 인간 면역글로불린 ("Ab 부재") 또는 상응하는 항체 ("Ab")와 함께 공동 배양하였다. 이는 다우디 및 라모스(Ramos)의 경우, 리툭시맵, MCF-7, SKBR-3, 및 MKN-7의 경우, 트라스투주맵, 및 CHLA-255, NB1691, SK-N-SH 및 U-2 OS의 경우, hu14.18K322A였다. T 세포 및/또는 항체 부재하에서 배양된 종양 세포와 비교하였을 때, 세포독성은 2:1 비율로 나타났다 (CHLA-255의 경우, 4:1). 본 결과는 NB1691 및 SK-BR-3의 경우, 3명의 공여자, 및 나머지 세포주의 경우, 1명의 공여자의 T 림프구를 이용하여 수행된 삼중으로 수행된 실험의 평균 (\pm SD) 세포독성에 상응하는 것이다; 다우디의 결과는 2명의 공여자로부터의 삼중으로 수행된 측정, 및 추가의 4명의 공여자로부터의 T 림프구를 사용하여 수행된 단일 측정의 평균 (\pm SD) 세포독성이다. T 세포 부재하에서 배양물에 첨가되었을 때, 리툭시맵, 트라스투주맵 또는 hu14.18K322A의 평균 세포독성은 $<10\%$ 였다.

도 8은 CD16V-BB- ζ T 림프구의 세포독성은 강력하고, 특이적이며, 비결합 IgG에 의해 영향을 받지 않는다는 것을 입증하는 것이다. A: 24시간 동안 비반응성 인간 면역글로불린 ("Ab 부재") 또는 hu14.18K322A 항체 ("Ab")와 함께, 신경모세포종 세포주 NB1691과 공동 배양된 CD16V-BB- ζ T 림프구. 결과는 삼중으로 수행된 실험의 평균 (\pm SD) 세포독성에 상응하는 것이다. 세포독성은 심지어 1:8 E:T에서도 CD16V-BB- ζ T 세포 단독과 비교하였을 때, CD16V-BB- ζ 세포 + hu14.18K322A 항체의 경우에 유의적으로 더 높게 그대로 유지되었다 ($P = 0.0002$). B: 리툭시맵, 또는 비반응성 항체 트라스투주맵 또는 hu14.18K322A의 존재하에서의 2:1 E:T에서의 B 세포 림프종 세포주 다우디와 함께 4시간 동안 공동 배양된 모의- 또는 CD16V-BB- ζ -형질도입된 T 림프구. 결과는 삼중으로 수행된 실험의 평균 (\pm SD) 세포독성에 상응하는 것이다 ("모의" 결과는 각 항체를 이용하여 삼중으로 수행된 실험의 합계이다). 리툭시맵 경우의 세포독성은 다른 모든 실험 조건하의 것보다 유의적으로 더 높았다 (모든 비교물에 대해 $P<0.0001$). C: 다양한 농도의 면역치료학적 항체 및 상기 항체에 동시에 첨가된 경쟁 비결합 IgG의 존재하에서 8:1 E:T에서의 CD16V-BB- ζ 를 발현하는 T 림프구의 종양 세포주에 대한 세포독성. 기호는 각 항체 농도에 대한 적어도 삼중으로 수행된 실험에 대한 평균 (\pm SD)에 상응하는 것이다. 각 세포주의 경우, 세포독성은 비결합 IgG의 존재량과 상관없이, 통계학상 다르지 않았다.

도 9는 CD16V-BB- ζ 수용체를 발현하는 T 림프구가 생체내에서 항-종양 활성을 발휘한다는 것을 입증하는 것이다. 루시페라제로 표지된 3×10^5 개의 다우디 세포를 i.p.로 NOD-SCID-IL2RG넌 마우스에 주사하였다. 4일째를 출발로 하여 4주 동안 주 1회에 걸쳐 i.p.로 리툭시맵 ($150 \mu\text{g}$)을 주사하였다. 4마리 마우스에서는 어떤 다른 처리도 하지 않은 반면, 5마리의 다른 마우스에서는 1차 리툭시맵 주사를 수행한 후, 이어서, 5일째 및 6일째 CD16V-BB- ζ 수용체를 발현하는 T 림프구를 주사하였고 (1×10^7 개 i.p.; $n = 5$); 4마리의 마우스로 이루어진 다른 2개의 군은 각각 리툭시맵 대신 RPMI-1640의 i.p. 주사 후에 CD16V-BB- ζ T 림프구를 받거나, 또는 오직 RPMI-1640 배지만 ("대조군")을 받았다. A: 종양 성장에 관한 생체내 영상화 결과. 각 기호는 한 생체발광 측정치에 상응하는 것이고; 선은 1마리의 마우스에서의 모든 측정치를 연결한 것이다. B: 각 실험 조건에 대한 대표 마우스 (각 군당 2마리씩)가 제시되어 있다. 3일째의 복측 영상을 CD16V-BB- ζ + 리툭시맵 군의 마우스에서의 종양의 존재를 입증하기 위해 증강된 감도로 프로세싱하였다. 생체발광이 5×10^{10} 광자/초에 도달하였을 때, 마우스를 안락사시켰다. C: 상이한 처리군의 마우스에 관한 전체 생존 비교.

도 10은 CD16V-BB- ζ 수용체를 발현하는 T 림프구가 생체내에서 항-종양 활성을 발휘한다는 것을 입증하는 것이다. 루시페라제로 표지된 3×10^5 개의 NB1691 세포를 i.p.로 NOD-SCID-IL2RG넌 마우스에 주사하였다. 5일째를 출발로 하여 4주 동안 주 1회에 걸쳐 i.p.로 Hu14.18K322A 항체 ($25 \mu\text{g}$)를 주사하였다. 4마리 마우스에서는 어

면 따른 처리도 하지 않은 반면, 4마리의 다른 마우스에서는 1차 항체 주사를 수행한 후, 이어서, 6일째 및 7일째 CD16V-BB- ζ 수용체를 발현하는 T 림프구를 주사하였고 (1×10^7 개 i.p.; n = 4); 4마리의 마우스로 이루어진 다른 2개의 군은 각각 항체 대신 RPMI-1640의 i.p. 주사 후에 CD16V-BB- ζ T 림프구를 받거나, 또는 오직 RPMI-1640 배지만 ("대조군")을 받았다. A: 종양 성장에 관한 생체내 영상화 결과. 각 기호는 한 생체발광 측정치에 상응하는 것이고; 선은 1마리의 마우스에서의 모든 측정치를 연결한 것이다. B: 각 실험 조건에 대한 모든 마우스의 영상. 생체발광이 1×10^{10} 광자/초에 도달하였을 때, 마우스를 안락사시켰다. C: 상이한 처리군의 마우스에 관한 전체 생존 비교.

도 11은 CD16V-BB- ζ 및 CD16F-BB- ζ 수용체를 발현하는 T 림프구 사이의 기능적 차이를 입증하는 것이다. A: 유세포 분석 점도표는 CD16V-BB- ζ 또는 CD16F-BB- ζ 가 형질도입된 T 림프구에서의 (B73.1 항체로 검출되는) CD16 및 녹색 형광 단백질 (GFP)의 발현을 보여주는 것이다. 각 사분면에는 양성 세포의 비율(%)이 제시되어 있다. B: CD16V 또는 CD16F 수용체가 형질도입된 T 림프구를 각각 리툽시맵, 트라스투주맵 및 hu14.18K322A의 존재하에서 다우디, SK-BR-3 또는 NB1691 세포와 함께 배양하였다. 모든 항체는 $0.1 \mu\text{g/mL}$ 로 사용되었다. 기호는 유입 세포수와 비교하였을 때의 세포 회수율(%) (3회에 걸쳐 수행된 실험의 평균 \pm SD)을 나타낸다; 1주째 내지 3주째 배양물에 대한 세포 계수는 3개의 배양물 모두에 대한 대응표본 t 검정에 의해 유의적인 차이를 보였다 (다우디, $P = 0.0007$; SK-BR-3, $P = 0.0164$; NB1691, $P = 0.022$). C: 다양한 농도의 리툽시맵의 존재하에서의 다우디 세포에 대한, CD16V-BB- ζ 또는 CD16F-BB- ζ 수용체를 발현하는 T 림프구에 의해 매개되는 항체 의존성 세포 세포독성. 각 기호는 8:1 (좌측) 또는 2:1 (우측) E:T에서의 삼중 배양물의 평균 \pm SD를 나타낸다. CD16V-BB- ζ 를 발현하는 T 세포의 세포독성이 CD16F-BB- ζ 를 발현하는 T 세포의 것보다 유의적으로 더 높았다 (어느 E:T에서든 $P < 0.001$).

도 12는 본 연구에서 사용된 CD16 키메라 수용체를 나타내는 개략도를 보여주는 것이다.

도 13은 상이한 신호전달 도메인을 포함하는 CD16V 수용체의 발현을 보여주는 것이다. 유세포 분석 점도표는 녹색 형광 단백질 (GFP) 단독 (모의) 또는 상이한 CD16V 구축물을 함유하는 벡터가 형질도입된 활성화된 T 림프구에서의 GFP와 함께 조합된 (3G8 항체로 검출되는) CD16의 발현을 보여주는 것이다. 각 사분면에는 양성 세포의 비율(%)이 제시되어 있다.

도 14는 CD16V-BB- ζ 는 상이한 신호전달 특성을 가지는 CD16V 수용체보다도 더 높은 T 세포 활성화, 증식 및 세포독성을 유도한다는 것을 입증하는 것이다. A: 다우디 세포 및 리툽시맵 ($0.1 \mu\text{g/mL}$)과 함께한 48시간 동안의 공동 배양 후, 상이한 키메라 수용체를 발현하는 T 림프구에서의 녹색 형광 단백질 (GFP) 평균 형광 강도 (MFI)에 대해 플롯팅된, 유세포 분석법에 의해 CD25 MFI. CD16V-BB- ζ 를 포함하는 CD25 발현은 CD16V- ζ , CD16V-Fc ϵ RI γ 또는 신호전달 능력이 없는 CD16V ("CD16V-말단절단")에 의해 유발된 것보다 유의적으로 더 높았다 (선형 회귀 분석에 의해 $P < 0.0001$). B: 다양한 CD16V 수용체가 형질도입된 T 림프구를 각각 리툽시맵, 트라스투주맵 및 hu14.18K322A의 존재하에서 다우디, SK-BR-3 또는 NB1691 세포와 함께 배양하였다. 모든 항체는 $0.1 \mu\text{g/mL}$ 로 사용되었다. 기호는 유입 세포수와 비교하였을 때의 세포 회수율(%) (3회에 걸쳐 수행된 실험의 평균 \pm SD)을 나타낸다; 1주째 내지 3주째 배양물에 대한 세포 계수는 3개의 배양물 모두에 대한 대응표본 t 검정에 의해 모든 다른 수용체보다 CD16V-BB- ζ 수용체 경우에 유의적으로 더 높았다 ($P < 0.0001$). C: 각각 리툽시맵, 트라스투주맵 및 hu14.18K322A의 존재하에서의 다우디, SK-BR-3 및 NB1691에 대한 각종 CD16V 수용체를 발현하는 T 림프구 또는 모의-형질도입된 T 세포의 ADCC. 기호는 제시된 E:T에서의 삼중 배양물의 평균 \pm SD이다. CD16V-BB- ζ 수용체 경우의 세포독성은 다른 모든 수용체의 것보다 유의적으로 더 높은 반면 (모든 비교물에서 t 검정에 의해 $P < 0.0001$), 모의-형질도입된 림프구, 또는 CD16V-말단절단된 수용체가 형질도입된 림프구의 세포독성은 서로 유의적으로 상이하지는 않았고 ($P > 0.05$); 다우디 ($P = 0.006$) 및 SK-BR-3 ($P = 0.019$)에 대한 CD16V-Fc ϵ RI γ 경우의 세포독성은 CD3- ζ 인 경우의 세포독성보다 유의적으로 더 높았고; 어느 수용체든 그를 발현하는 림프구는 모의-형질도입된 것 또는 CD16V-말단절단으로 형질도입된 것보다 더 높은 세포독성을 가졌다 (모든 비교물에 대해 $P < 0.01$).

도 15는 mRNA 전기천공에 의한 CD16V-BB- ζ 수용체의 발현을 입증하는 것이다. A: CD16V-BB- ζ mRNA로, 또는 mRNA 부재(모의)하에 활성화된 T 림프구를 전기천공하였다; 24시간 경과 후 유세포 분석법에 의해 CD16의 발현을 시험하였다. B: 리툽시맵의 존재하에서 라모스 세포주에 대한 모의 또는 CD16V-BB- ζ 전기천공된 T 세포의 세포독성을 시험하였다. 기호는 세포독성(%)의 평균 \pm SD를 나타낸다 (n=3; 모든 E:T 비율에서의 비교물에 대한 $P < 0.01$).

도 16은 키메라 수용체 서열식별번호: 1의 발현이 이루어진 저켓 세포 및 그 발현이 이루어지지 않은 저켓 세포

에의 리툭산(Rituxan)의 결합을 보여주는 것이다. 저켓 세포를 mRNA 부재하에 (패널 A) 또는 키메라 수용체 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA로 (패널 B) 전기천공시키고, 리툭산과 함께 인큐베이션시키고, 결합된 리툭산을 검출하기 위해 PE-표지된 염소-항-인간 항체로 염색하고, 유세포 분석법에 의해 분석하였다. 패널 A 및 B에서, 동일 사분면 게이트를 각 데이터 세트에 적용시켰고, 각 사분면에 세포 비율(%)이 제시되어 있으며, 우측 상단의 사분면은 리툭산 양성 세포를 나타낸다. 패널 C에서는 모의-전기천공된 세포 (채워지지 않은 것) 및 키메라 수용체 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA로 전기천공된 세포 (회색)에 대한 리툭산 염색의 함수로서 세포 개수가 플롯팅되어 있다.

도 17은 리툭산 및 표적 다우디 세포 존재하에서의 키메라 수용체 서열식별번호: 1의 발현이 이루어진 저켓 세포 및 그 발현이 이루어지지 않은 저켓 세포 상의 CD25 존재를 보여주는 것이다. 저켓 세포를 mRNA 부재하에 (패널 A) 또는 키메라 수용체 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA로 (패널 17B) 전기천공시킨 후, 이어서, 리툭산 및 표적 다우디 세포와 함께 인큐베이션시켰다. 저켓 세포를 단리시키기 위해 PE-표지된 항-CD7 항체로, 및 CD25 발현을 검출하기 위해 APC-표지된 항-CD25 항체로 세포를 염색하고, 유세포 분석법에 의해 분석하였다. 패널 A 및 B에 CD7 양성 세포가 제시되어 있으며, 동일 사분면 게이트를 각 데이터 세트에 적용시켰다. 각 사분면에 세포 비율(%)이 제시되어 있으며, 우측 상단의 사분면은 CD25 양성 세포를 나타낸다. 패널 C는 같은 실험으로부터 얻은 데이터의 히스토그램을 나타내는 것이다. CD7 양성 세포의 개수는 모의-전기천공된 세포 (채워지지 않은 것)에 대한 CD25 염색의 함수로서 플롯팅되어 있고, 키메라 수용체 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA로 전기천공된 세포 (회색)는 CD25 염색의 함수로서 플롯팅되어 있다.

도 18은 리툭산 및 표적 다우디 세포 존재하에서의 키메라 수용체 서열식별번호: 1의 발현이 이루어진 저켓 세포 및 그 발현이 이루어지지 않은 저켓 세포 상의 CD69 존재를 보여주는 것이다. 저켓 세포를 mRNA 부재하에 (패널 A) 또는 키메라 수용체 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA로 (패널 B) 전기천공시킨 후, 이어서, 리툭산 및 표적 다우디 세포와 함께 인큐베이션시켰다. 저켓 세포를 단리시키기 위해 PE-표지된 항-CD7 항체로, 및 CD69 발현을 검출하기 위해 APC-표지된 항-CD69 항체로 세포를 염색하고, 유세포 분석법에 의해 분석하였다. 패널 A 및 B에 CD7 양성 세포가 제시되어 있으며, 동일 사분면 게이트를 각 데이터 세트에 적용시켰다. 각 사분면에 세포 비율(%)이 제시되어 있으며, 우측 상단의 사분면은 CD69 양성 세포를 나타낸다. 패널 C는 같은 실험으로부터 얻은 데이터의 히스토그램을 나타내는 것이다. CD7 양성 세포의 개수는 모의-전기천공된 세포 (채워지지 않은 것), 및 키메라 수용체 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA로 전기천공된 세포 (회색)에 대한 CD69 염색의 함수로서 플롯팅되어 있다.

도 19는 키메라 수용체의 대표적인 항-CD3 ζ 웨스턴 블롯 분석을 보여주는 것이다. 저켓 세포를 mRNA 부재하에 (레인 1), 또는 키메라 수용체 서열식별번호: 1 (레인 2), 서열식별번호: 3 (레인 3), 서열식별번호: 10 (레인 4), 서열식별번호: 11 (레인 5), 서열식별번호: 14 (레인 6), 서열식별번호: 2 (레인 7), 서열식별번호: 4 (레인 8), 서열식별번호: 5 (레인 9), 서열식별번호: 7 (레인 10), 서열식별번호: 8 (레인 11), 서열식별번호: 9 (레인 12), 또는 서열식별번호: 6 (레인 13)을 코딩하는 mRNA로 전기천공시켰다. 세포를 수거하고, 용해시키고, 항-CD3 ζ 항체를 이용하여 웨스턴 블롯 분석에 의해 분석하였다. 키메라 수용체 mRNA로 전기천공된 모든 세포로부터의 용해물 중에서 키메라 수용체 단백질을 검출하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037]

항체 기반 면역요법은 다수의 암 유형을 비롯한, 매우 다양한 질환을 치료하는 데 사용된다. 상기 요법은 대개 정상 세포 (예컨대, 암이 아닌 세포)에 대해 상대적으로, 제거하고자 하는 세포 (예컨대, 표적 세포, 예컨대, 암 세포) 상에서 차별적으로 발현되는 세포 표면 분자의 인식에 의존한다 (Weiner et al. Cell (2012) 148(6): 1081-1084). 수개의 항체 기반 면역요법은 시험관내에서 표적 세포 (예컨대, 암 세포)의 항체 의존성 세포-매개 세포독성을 촉진시키는 것으로 밝혀졌으며, 일부의 경우, 이는 일반적으로는 또한 그것이 생체내 작용 기전이라고 간주되고 있다. ADCC는 면역계의 이펙터 세포, 예컨대, 자연살 (NK) 세포, T 세포, 단핵구 세포, 대식 세포, 또는 호산구가 특이 항체에 의해 인식된 표적 세포 (예컨대, 암 세포)를 능동적으로 용해시키는 세포-매개 선천성 면역 기전이다.

[0038]

본원에 기술된 키메라 수용체는 많은 이점을 부여할 것이다. 예를 들어, Fc에 결합하는 세포의 도메인을 통하여 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물은 특이 표적 항원 (예컨대, 암 항원)에 직접 결합하기보다는 항체 또는 다른 Fc-함유 분자의 Fc 부위에 결합할 수 있다. 따라서, 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물을 발현하는 면역 세포는 항체 또는 또 다른 Fc-함유 분자가 결합하는 임의 유형의 세포의 세포 사멸을 유도할 수 있을 것이다.

- [0039] 본 개시내용은 Fc-함유 분자 (예컨대, 항체 또는 Fc 융합 단백질)에 결합할 수 있는 키메라 수용체, 상기 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포, 및 상기 면역 세포를 사용하여 표적 세포 (예컨대, 암 세포)에 대한 ADCC 효과를 증진시키는 방법을 제공한다. 본원에서 사용되는 바, 키메라 수용체란, 숙주 세포의 표면 상에서 발현될 수 있고, Fc 부위를 함유하는 표적 분자에 결합할 수 있는 세포외 도메인, 및 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포의 이펙터 기능을 일으키기 위한 하나 이상의 세포질 신호전달 도메인을 포함하는 비-자연적으로 발생된 분자로서, 여기서, 키메라 수용체의 적어도 2개의 도메인은 상이한 분자로부터 유래된 것인 분자를 지칭한다.
- [0040] Fc-함유 분자, 예컨대, 항체 단백질은 표적, 예컨대, 표적 세포 (예컨대, 암 세포) 상의 세포 표면 분자, 수용체, 또는 탄수화물에 결합할 수 있다. 상기 Fc-함유 분자에 결합할 수 있는 수용체, 예를 들어, 본원에 기술된 키메라 수용체 분자를 발현하는 면역 세포는 표적 세포-결합 항체를 인식하고, 이러한 수용체/항체 결속이 면역 세포를 자극하여 이펙터 기능, 예컨대, 세포독성 과립 방출 또는 세포-사멸-유도 분자의 발현이 수행되고, 이로써, Fc-함유 분자에 의해 인식된 표적 세포의 세포 사멸이 이루어지게 된다.
- [0041] "약" 또는 "대략"이라는 용어는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 측정되는 특정 값이 허용되는 오차 범위 안에 있다는 것을 의미하는 것이며, 상기 오차 범위는 부분적으로는 값이 측정 또는 결정되는 방법, 즉, 측정 시스템의 한계에 의존할 것이다. 예를 들어, "약"이란, 관련 기술분야의 관행에 따라 허용되는 표준 편차 범위 내에 포함되어 있다는 것을 의미한다. 대안적으로, "약"이란, 주어진 값의 최대 $\pm 20\%$, 바람직하게, 최대 $\pm 10\%$, 더욱 바람직하게, 최대 $\pm 5\%$, 및 더욱 바람직하게, 추가로, 최대 $\pm 1\%$ 범위임을 의미할 수 있다. 대안적으로, 특히 생물학적 시스템 또는 프로세스와 관련하여, 상기 용어는 값의 한 자릿수 범위 내에, 바람직하게, 2배 범위 내에 있음을 의미할 수 있다. 특정 값이 본 출원 및 특허청구범위에 기술되는 경우, 달리 언급되지 않는 한, "약"이라는 용어가 내포되며, 이와 관련하여 상기 용어는 특정 값이 허용되는 오차 범위 안에 있다는 것을 의미한다.
- [0042] 본 개시내용이 본원에서 언급된 질환 상태들 중 임의의 것에 관한 것인 한, 본 개시내용과 관련하여, "치료하다," "치료"라는 용어 및 유사 용어는 상기 상태와 연관된 적어도 하나의 증상을 경감, 또는 완화시키거나, 상기 상태의 진행을 저속화 또는 역전시키는 것을 의미한다. 본 개시내용의 의미 범위 안에서, "치료하다"라는 용어는 또한 발병을 정지시키거나, 발병 시점 (즉, 질환의 임상적 소견이 나타나기 전 기간)을 지연시키거나, 또는 질환의 발생 또는 악화 위험을 감소시키는 것을 의미한다. 예를 들어, 암과 관련하여, "치료하다"라는 용어는 환자의 종양 부하량을 제거 또는 감소시키거나, 또는 전이 등을 예방, 지연, 또는 억제시키는 것을 의미할 수 있다.
- [0043] 본원에서 사용되는 바, 용량 또는 양에 적용되는 "치료학상 유효"라는 것은, 본 개시내용의 키메라 수용체를 포함하고, 임의적으로, 종양 특이 세포독성 모노클로날 항체 또는 Fc 부위를 포함하는 또 다른 항-종양 분자 (예컨대, 면역글로불린, 또는 Fc-함유 DNA 또는 RNA의 Fc-부위와 조합된, 종양 표면 수용체에 결합하는 리간드 (예컨대, 시토카인, 면역 세포 수용체)로 구성된 복합 분자)를 추가로 포함하는 화합물 또는 제약 조성물 (예컨대, 면역 세포, 예컨대, T 림프구 및/또는 NK 세포를 포함하는 조성물)이 그를 필요로 하는 대상체에게 투여되었을 때, 원하는 활성을 일으키는 데 충분한 그의 양을 의미한다. 본 개시내용과 관련하여, "치료학상 유효"라는 용어는 본 개시내용의 방법에 의해 치료되는 장애의 소견을 지연시키거나, 그의 진행을 정지시키거나, 그의 적어도 하나의 증상을 경감 또는 완화시키는 데 충분한 화합물 또는 제약 조성물의 양을 의미한다. 활성 성분의 조합이 투여되는 경우, 조합의 유효량은 개별적으로 투여되었다면 효과적인 양이 되는 각 성분의 양을 포함하거나, 또는 포함하지 않을 수 있다.
- [0044] 본 개시내용의 조성물과 관련하여 사용되는 바, "제약상 허용되는"이라는 어구는 분자 엔티티 및 상기 조성물의 다른 성분이 생리학상 허용되고, 포유동물 (예컨대, 인간)에게 투여되었을 때, 전형적으로는 부작용 반응을 일으키지 않는다는 것을 의미한다. 바람직하게, 본원에서 사용되는 바, "제약상 허용되는"이라는 용어는 포유동물에서, 및 더욱 특히, 인간에서의 사용을 위한 것으로 연방 정부 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인을 받았거나, 또는 미국 약전(U.S. Pharmacopeia) 또는 일반적으로 인정되는 다른 약전에 열거되어 있다는 것을 의미한다.
- [0045] 본원에서 사용되는 바, "대상체"라는 용어는 임의의 포유동물을 의미한다. 바람직한 실시양태에서, 대상체는 인간이다.
- [0046] 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 사용되는 바, "하나"("a," "an") 및 "그"라는 단수 형태는 문맥상 달리 명확하게 명시되지 않는 한, 복수 개의 지시 대상도 포함한다.

[0047] I. 키메라 수용체

[0048] 본원에 기술된 키메라 수용체는 면역글로불린의 Fc 부위에 대하여 결합 친화도 및 특이성을 가지는 세포의 도메인 ("Fc 결합제"), 막횡단 도메인, 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인, 및 ITAM을 포함하는 세포질 신호전달 도메인을 포함한다. 키메라 수용체는 숙주 세포 상에서 발현되었을 때, 세포의 리간드 결합 도메인은 표적 분자 (예컨대, 항체 또는 Fc-융합 단백질)에의 결합을 위해 세포외에 위치하고, 공동 자극 신호전달 도메인 및 ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인은 및/또는 이펙터 신호전달을 일으키기 위해 세포질에 위치하도록 구성된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 키메라 수용체 구축물은 N-말단에서 C-말단으로 Fc 결합제, 막횡단 도메인, 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인, 및 ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인을 포함한다. 다른 실시양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 키메라 수용체 구축물은 N-말단에서 C-말단으로 Fc 결합제, 막횡단 도메인, ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인, 및 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인을 포함한다.

[0049] 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것은, Fc 결합제의 C-말단 및 막횡단 도메인의 N-말단에 위치할 수 있는 힌지 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물은, 서로 연결되어 있거나, 또는 ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인에 의해 분리되어 있을 수 있는, 2개 이상의 공동 자극 신호전달 도메인을 함유할 수 있다. 키메라 수용체 구축물 중의 세포의 Fc 결합제, 막횡단 도메인, 공동 자극 신호전달 도메인(들), 및 ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인은 직접적으로, 또는 펩티드 링커를 통해서 서로 연결되어 있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것은 N-말단에 신호서열을 포함한다.

[0050] A. Fc 결합제

[0051] 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물은 Fc 결합제인, 즉, 적합한 포유동물 (예컨대, 인간, 마우스, 래트, 염소, 양, 또는 원숭이)의 면역글로불린 (예컨대, IgG, IgA, IgM, 또는 IgE)의 Fc 부위에 결합할 수 있는, 세포의 도메인을 포함한다. 적합한 Fc 결합제는 자연적으로 발생된 단백질, 예컨대, 포유동물 Fc 수용체 또는 특정 박테리아 단백질 (예컨대, 단백질 A, 단백질 G)로부터 유래된 것일 수 있다. 추가로, Fc 결합제는 높은 친화성 및 특이성으로 본원에 기술된 Ig 분자 중 임의의 것의 Fc 부위에 특이적으로 결합하도록 조작된 합성 폴리펩티드일 수 있다. 예를 들어, 상기 Fc 결합제는 면역글로불린의 Fc 부위에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편일 수 있다. 예로는 단일쇄 가변 단편 (scFv), 도메인 항체, 또는 나노바디를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 대안적으로, Fc 결합제는 Fc 부위에 특이적으로 결합하는 합성 펩티드, 예컨대, 쿨리츠 도메인, 소형 모듈형 면역제약 (SMIP), 에드넥틴, 아비머, 어피바디, DARPIn, 또는 안티칼린일 수 있고, 이는 Fc에 결합하는 활성에 대해 펩티드 조합 라이브러리를 스크리닝함으로써 확인될 수 있다.

[0052] 일부 실시양태에서, Fc 결합제는 포유동물 Fc 수용체의 세포의 리간드 결합 도메인이다. 본원에서 사용되는 바, "Fc 수용체"는 다수의 면역 세포 (B 세포, 수지상 세포, 자연살 (NK) 세포, 대식세포, 호중구, 비만 세포, 및 호산구 포함)의 표면 상에서 발현되고, 항체의 Fc 도메인에 대하여 결합 특이성을 보이는 세포 표면 결합 수용체이다. Fc 수용체는 전형적으로 항체의 Fc (단편 결정가능) 부위에 대하여 결합 특이성을 가지는 적어도 2개의 면역글로불린 (Ig)-유사 도메인으로 구성된다. 일부 경우에서, Fc 수용체의 항체의 Fc 부위와의 결합은 항체 의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC) 효과를 일으킬 수 있다. 본원에 기술된 바와 같은 키메라 수용체를 구축하는 데 사용되는 Fc 수용체는 자연적으로 발생된 다형성 변이체 (예컨대, CD16 V158 변이체)일 수 있으며, 이는 야생형 대응물과 비교하여 증가 또는 감소된, Fc에 대한 친화성을 가질 수 있다. 대안적으로, Fc 수용체는 Ig 분자의 Fc 부위와의 결합 친화도를 변경시키는 하나 이상의 돌연변이 (예컨대, 최대 10개의 아미노산 잔기 치환)를 보유하는, 야생형 대응물의 기능적 변이체일 수 있다. 일부 경우에서, 돌연변이는 Fc 수용체의 글리코실화 패턴, 및 이로써, Fc에의 결합 친화도를 변경시킬 수 있다.

[0053] 하기 표에는 Fc 수용체 세포의 도메인 중의 다수의 예시적인 다형성이 열거되어 있다 (예컨대, 문헌 [Kim et al., *J. Mol. Evol.* 53:1-9, 2001] 참조):

[0054] <표 1>

[0055] Fc 수용체 중의 예시적인 다형성

아미노산 번호	19	48	65	89	105	130	134	141	142	158
FCR10	R	S	D	I	D	G	F	Y	T	V
P08637	R	S	D	I	D	G	F	Y	I	F
S76824	R	S	D	I	D	G	F	Y	I	V
J04162	R	N	D	V	D	D	F	H	I	V
M31936	S	S	N	I	D	D	F	H	I	V
M24854	S	S	N	I	E	D	S	H	I	V
X07934	R	S	N	I	D	D	F	H	I	V
X14356 (FcγRII)	N	N	N	S	E	S	S	S	I	I
M31932 (FcγRI)	S	T	N	R	E	A	F	T	I	G
X06948 (FcαεI)	R	S	E	S	Q	S	E	S	I	V

[0056]

[0057]

Fc 수용체는 그가 결합할 수 있는 항체의 이소형에 기초하여 분류된다. 예를 들어, Fc-감마 수용체 (FcγR)는 일반적으로 IgG 항체, 예컨대, 그의 하나 이상의 서브타입 (즉, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)에 결합하고; Fc-알파 수용체 (FcαR)는 일반적으로 IgA 항체에 결합하고; Fc-엡실론 수용체 (FcεR)는 일반적으로 IgE 항체에 결합한다. 일부 실시양태에서, Fc 수용체는 Fc-감마 수용체, Fc-알파 수용체, 또는 Fc-엡실론 수용체이다. Fc-감마 수용체의 예로는 제한 없이, CD64A, CD64B, CD64C, CD32A, CD32B, CD16A, 및 CD16B를 포함한다. Fc-알파 수용체의 예로는 FcαRI/CD89가 있다. Fc-엡실론 수용체의 예로는 제한 없이, FcεRI 및 FcεRII/CD23을 포함한다. 하기 표에는 본원에 기술된 키메라 수용체를 구축하는 데 사용하기 위한 예시적인 Fc 수용체, 및 상응하는 Fc 도메인에서의 그의 결합 활성이 열거되어 있다:

[0058]

<표 2>

[0059]

예시적인 Fc 수용체

수용체 명칭	주요 항체 리간드	리간드에 대한 친화도
FcγRI (CD64)	IgG1 및 IgG3	고 ($K_d \sim 10^{-9}$ M)
FcγRIIA (CD32)	IgG	저 ($K_d > 10^{-7}$ M)
FcγRIIB1 (CD32)	IgG	저 ($K_d > 10^{-7}$ M)
FcγRIIB2 (CD32)	IgG	저 ($K_d > 10^{-7}$ M)
FcγRIIIA (CD16a)	IgG	저 ($K_d > 10^{-6}$ M)
FcγRIIIB (CD16b)	IgG	저 ($K_d > 10^{-6}$ M)
FcεRI	IgE	고 ($K_d \sim 10^{-10}$ M)
FcεRII (CD23)	IgE	저 ($K_d > 10^{-7}$ M)
FcαRI (CD89)	IgA	저 ($K_d > 10^{-6}$ M)
Fcα/μR	IgA 및 IgM	IgM에 대해 고, IgA에 대해 중간 정도
FcRn	IgG	

[0060]

[0061]

본원에 기술된 키메라 수용체에서 사용하기 위한 Fc 수용체의 리간드 결합 도메인의 선택은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 자명할 것이다. 예를 들어, 선택은 예컨대, Fc 수용체의 결합이 요구되는 항체의 이소형 및 결합 상호작용의 원하는 친화성과 같은 인자에 의존할 수 있다.

[0062]

일부 예에서, (a)는 Fc에 대한 친화성을 조절할 수 있는 자연적으로 발생된 다형성을 도입할 수 있는, CD16의 세포외 리간드 결합 도메인이다. 일부 예에서, (a)는 158번 위치에 다형성 (예컨대, 발린 또는 페닐알라닌)을 도입한 CD16의 세포외 리간드 결합 도메인이다. 일부 실시양태에서, (a)는 그의 글리코실화 상태 및 Fc에 대한

그의 친화성을 변경시키는 조건하에서 제조된다.

- [0063] 일부 실시양태에서, (a)는 그를 도입한 키메라 수용체가 IgG 항체의 서브세트에 대해 특이성을 가지도록 만드는 변형을 도입한 CD16의 세포외 리간드 결합 도메인이다. 예를 들어, IgG 서브타입 (예컨대, IgG1)에 대한 친화성을 증가 또는 감소시키는 돌연변이가 도입될 수 있다.
- [0064] 일부 예에서, (a)는 Fc에 대한 친화성을 조절할 수 있는 자연적으로 발생된 다형성을 도입할 수 있는, CD32의 세포외 리간드 결합 도메인이다. 일부 실시양태에서, (a)는 그의 글리코실화 상태 및 Fc에 대한 그의 친화성을 변경시키는 조건하에서 제조된다.
- [0065] 일부 실시양태에서, (a)는 그를 도입한 키메라 수용체가 IgG 항체의 서브세트에 대해 특이성을 가지도록 만드는 변형을 도입한 CD32의 세포외 리간드 결합 도메인이다. 예를 들어, IgG 서브타입 (예컨대, IgG1)에 대한 친화성을 증가 또는 감소시키는 돌연변이가 도입될 수 있다.
- [0066] 일부 예에서, (a)는 Fc에 대한 친화성을 조절할 수 있는 자연적으로 발생된 다형성을 도입할 수 있는, CD64의 세포외 리간드 결합 도메인이다. 일부 실시양태에서, (a)는 그의 글리코실화 상태 및 Fc에 대한 그의 친화성을 변경시키는 조건하에서 제조된다.
- [0067] 일부 실시양태에서, (a)는 그를 도입한 키메라 수용체가 IgG 항체의 서브세트에 대해 특이성을 가지도록 만드는 변형을 도입한 CD64의 세포외 리간드 결합 도메인이다. 예를 들어, IgG 서브타입 (예컨대, IgG1)에 대한 친화성을 증가 또는 감소시키는 돌연변이가 도입될 수 있다.
- [0068] 다른 실시양태에서, Fc 결합체는 IgG 분자의 Fc 부위에 결합할 수 있는 자연적으로 발생된 박테리아 단백질로부터 유래된 것이다. 본원에 기술된 바와 같은 키메라 수용체를 구축하는 데 사용하기 위한 Fc 결합체는 전장의 단백질 또는 그의 기능적 단편일 수 있다. 단백질 A는 원래는 박테리아 스탕필로코쿠스 아우레우스 (*Staphylococcus aureus*)의 세포 벽에서 발견되는 42 kDa 표면 단백질이다. 이는 각각이 3-나선형 번들로 폴딩되어 있는 5개의 도메인으로 구성되어 있고, 이는 대부분의 항체의 Fc 영역 뿐만 아니라, 인간 VH3 패밀리의 항체의 Fab 영역과의 상호작용을 통해 IgG에 결합할 수 있다. 단백질 G는 포유동물 IgG의 Fab 및 Fc 영역, 둘 모두에 결합하는, C 및 G군 연쇄구균(*Streptococcal*) 박테리아에서 발견되는, 대략 60 kDa의 단백질이다. 천연 단백질 G는 또한 알부민에 결합하는 반면, 재조합 변이체는 알부민 결합을 제거하도록 조작된 것이다.
- [0069] 키메라 수용체에서 사용하기 위한 Fc 결합체는 조합 생물학 또는 직접 진화 방법을 사용하여 새로 생성할 수 있다. 단백질 스캐폴드 (예컨대, IgG로부터 유래된 scFv, 쿠니츠형 프로테아제 억제제로부터 유래된 쿠니츠 도메인, 안키린 반복부, 단백질 A로부터의 Z 도메인, 리포칼린, 피브로넥틴 III형 도메인, Fyn으로부터의 SH3 도메인 등)로부터 출발하여, 표면 상의 잔기 세트에 대한 아미노산 측쇄는 큰 변이체 스캐폴드 라이브러리 생성을 위해 무작위로 치환될 수 있다. 결합에 대하여 1차 선별한 후, 파지, 리보솜 또는 세포 디스플레이에 의해 증폭시킴으로써 표적 유사 Fc 도메인에 대하여 친화성을 가지는 희귀 변이체를 큰 라이브러리로부터 단리시킬 수 있다. 반복된 회차에 걸쳐 수행되는 선별 및 증폭을 사용하여 표적에 대하여 가장 높은 친화성을 가지는 단백질을 단리시킬 수 있다. Fc-결합 펩티드는 예컨대, 문헌 [DeLano et al., Science, 287:5456 (2000)]; [Jeong et al., Peptides, 31(2):202-206 (2009)]; 및 [Krook et al., J. Immunological Methods, 221(1-2):151-157 (1998)]과 같이, 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예시적인 Fc-결합 펩티드는 ETQRCTWHMGLVWCEREHN (서열식별번호: 85), KEASCSYWLGLVWCVAGVE (서열식별번호: 86), 또는 DCAWHLGELVWCT (서열식별번호: 87)의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0070] 본원에 기술된 Fc 결합체 중 임의의 것은 치료학적 항체의 Fc 부위에 대하여 적합한 결합 친화도를 가질 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "결합 친화도"란, 겔보기 회합 상수 또는 K_A 를 지칭한다. K_A 는 해리 상수인 K_D 의 역수이다. 본원에 기술된 키메라 수용체의 Fc 수용체 도메인의 세포외 리간드 결합 도메인은 항체의 Fc 부위에 대하여 적어도 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M 또는 그 미만의 결합 친화도 K_D 를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 결합체는, 또 다른 항체, 항체의 이소형, 또는 그의 서브타입에의 Fc 결합체의 결합 친화도와 비교하였을 때, 항체, 항체의 이소형, 또는 그의 서브타입(들)에 대해 높은 결합 친화도를 가진다. 일부 실시양태에서, Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은, 또 다른 항체, 항체의 이소형, 또는 그의 서브타입에의 Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인의 결합과 비교하였을 때, 항체, 항체의 이소형, 또는 그의 서브타입(들)에 대해 특이성을 가진다. 고친화도로 결합하는 Fc-감마 수용체로는 CD64A, CD64B, 및 CD64C를 포함한다. 저친화도로 결합하는 Fc-감마 수용체로는 CD32A, CD32B, CD16A, 및 CD16B를 포함한다. 고친화도로 결합하는 Fc-엡실

론 수용체는 $Fc\epsilon RI$ 이고, 저친화도로 결합하는 Fc -엡실론 수용체는 $Fc\epsilon RII/CD23$ 이다.

[0071] Fc 수용체 또는 Fc 결합체 (예컨대, Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인)를 포함하는 키메라 수용체에 대한 결합 친화도 또는 결합 특이성은 평형 투석, 평형 결합, 겔 여과, ELISA, 표면 플라즈몬 공명, 또는 분광법을 비롯한, 다양한 방법에 의해 측정될 수 있다.

[0072] 일부 실시양태에서, Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 자연적으로 발생된 Fc -감마 수용체, Fc -알파 수용체, 또는 Fc -엡실론 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인의 아미노산 서열과 적어도 90% (예컨대, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 두 아미노산 서열의 "동일성(%)"은 문헌 [Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993]에서와 같이 변형된, 문헌 [Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990]의 알고리즘을 사용하여 측정될 수 있다. 상기 알고리즘은 문헌 [Altschul, et al. J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램 (버전 2.0)으로 도입된다. BLAST 단백질 검색은 XBLAST 프로그램, 스코어=50, 워드길이=3을 사용하여 수행될 수 있고, 이로써, 본 개시내용의 단백질 분자와 상동성이 아미노산 서열을 획득할 수 있다. 두 서열 사이에 갭이 존재할 경우, 문헌 [Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997]에 기술된 바와 같이, 갭트 BLAST(Gapped BLAST)가 사용될 수 있다. BLAST 및 갭트 BLAST 프로그램을 사용할 때, 각 프로그램 (예컨대, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터가 사용될 수 있다.

[0073] Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인의 변이체, 예컨대, 본원에 기술된 것 또한 본 개시내용의 범주 내에 포함된다. 일부 실시양태에서, 변이체 세포외 리간드 결합 도메인은 참조 세포외 리간드 결합 도메인의 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 아미노산 잔기 변이 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 또는 5개)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 변이체는 유전자 다형성에 기인한, 자연적으로 발생된 변이체일 수 있다. 다른 실시양태에서, 변이체는 비-자연적으로 발생된 변형된 분자일 수 있다. 예를 들어, 돌연변이는 Fc 수용체의 글리코실화 패턴, 및 이로써, 상응하는 Fc 도메인에의 그의 결합 친화도를 변경시키기 위해 Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인 내로 도입될 수 있다.

[0074] 일부 예에서, Fc 수용체는 본원에 기술된 바와 같은, CD16A, CD16B, CD32A, CD32B, CD32C, CD64A, CD64B, CD64C, 또는 그의 변이체일 수 있다. Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 본원에 기술된 바와 같은 CD16A, CD16B, CD32A, CD32B, CD32C, CD64A, CD64B, CD64C의 세포외 리간드 결합 도메인의 아미노산 서열과 비교하여 최대 10개의 아미노산 잔기 변이 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 8개)를 포함할 수 있다. 하나 이상의 아미노산 변이를 포함하는 상기 Fc 도메인은 변이체로서 지칭될 수 있다. Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이를 통해, 돌연변이를 포함하지 않는 Fc 수용체 도메인과 비교하였을 때, 항체, 항체의 이소형, 또는 그의 서브타입(들)에 결합하는 Fc 수용체 도메인에 대한 결합 친화도는 증가될 수 있다. 예를 들어, Fc -감마 수용체 CD16A의 잔기 158의 돌연변이를 통해 항체의 Fc 부위에의 Fc 수용체의 결합 친화도는 증가될 수 있다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 Fc -감마 수용체 CD16A의 잔기 158에서의 페닐알라닌에서 발린으로의 치환이며, 이는 CD16A V158 변이체로 지칭된다. 인간 CD16A V158 변이체의 아미노산 서열은 하기에 제공되어 있으며, 여기서, V158 잔기는 굵은/자체로 강조표시되어 있다 (신호 펩티드는 이탤릭체로 표시):

```
MWQLLLPTALLLVVSAGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCGAYSPEDNSTQW
FHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLQLAPRWVFKE
EDPIHLRCHSWKNTALHKVITYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLVGSKN
VSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQVSFCLVMVLLFAVDTGLYFSVKTNIIRSSTRDW
KDHKFKWRKDPQDK (SEQ ID NO: 75)
```

[0075]

[0076] Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인 중에서의, 분자, 예컨대, 항체의 Fc 부위에의 결합 친화도를 증진 또는 감소시킬 수 있는 대안적 또는 추가의 돌연변이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 일부 실시양태에서, Fc 수용체는 CD16A, CD16A V158 변이체, CD16B, CD32A, CD32B, CD32C, CD64A, CD64B, 또는 CD64C이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물의 세포외 리간드 결합 도메인은 CD16A 또는 CD16A V158 변이체의 세포외 리간드 결합 도메인이다.

[0077] B. 막횡단 도메인

[0078] 본원에 기술된 키메라 수용체의 막횡단 도메인은 관련 기술분야에 공지된 임의 형태의 것일 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "막횡단 도메인"이란, 세포 막, 바람직하게, 진행 세포 막에서 열역학적으로 안정적인 임의의 단백질 구조를 지칭한다. 본원에서 사용되는 키메라 수용체에서의 사용을 위해 상용성인 막횡단 도메인은 자연적으로 발생된 단백질로부터 획득될 수 있다. 대안적으로, 이는 합성 비-자연적으로 발생된 단백질 세그먼트, 예

컨대, 세포 막에서 열역학적으로 안정적인 소수성 단백질 세그먼트일 수 있다.

- [0079] 막횡단 도메인은 막횡단 도메인의 3차원 구조에 기초하여 분류된다. 예를 들어, 막횡단 도메인은 하나의 알파 나선, 1 초과 알파 나선으로 이루어진 복합체, 베타-배럴, 또는 세포의 인지질 이중층에 걸쳐져 있을 수 있는 임의의 다른 안정적인 구조를 형성할 수 있다. 추가로, 막횡단 도메인은 또한 또는 대안적으로 막횡단 도메인이 막을 가로질러 횡단하는 통과 횡단, 및 단백질의 배향을 비롯한, 막횡단 도메인 토폴로지에 기초하여 분류될 수 있다. 예를 들어, 단일 통과 막 단백질은 세포 막을 1회 가로질러 횡단하고, 다회 통과 막 단백질은 세포 막을 적어도 2회 (예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7회 또는 그 초과) 가로질러 횡단한다.
- [0080] 막 단백질은 세포의 내부 및 외부에 대해 상대적인 그의 말단 및 막-통과 세그먼트(들)의 토폴로지에 의존하여 I형, II형 또는 III형으로 정의될 수 있다. I형 막 단백질은 단일 막 관통 영역을 가지고, 단백질의 N-말단이 세포의 지질 이중층의 세포외 측에 존재하고, 단백질의 C-말단이 세포질 측에 존재하도록 배향되어 있다. II형 막 단백질 또한 단일 막 관통 영역을 가지지만, 단백질의 C-말단이 세포의 지질 이중층의 세포외 측에 존재하고, 단백질의 N-말단이 세포질 측에 존재하도록 배향되어 있다. III형 막 단백질은 다중 막 관통 세그먼트를 가지며, 이는 막횡단 세그먼트의 개수 및 N- 및 C-말단의 위치에 기초하여 추가로 세분될 수 있다.
- [0081] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체의 막횡단 도메인은 I형 단일 통과 막 단백질로부터 유래된 것이다. 단일 통과 막 단백질로는 CD8 α , CD8 β , 4-1BB/CD137, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16, OX40/CD134, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , TCR β , TCR ζ , CD32, CD64, CD64, CD45, CD5, CD9, CD22, CD37, CD80, CD86, CD40, CD40L/CD154, VEGFR2, FAS, 및 FGFR2B를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인은 하기 CD8 α , CD8 β , 4-1BB/CD137, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16, OX40/CD134, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , CD32, CD64, VEGFR2, FAS, 및 FGFR2B로부터 선택되는 막 단백질로부터의 것이다. 일부 예에서, 막횡단 도메인은 CD8 α 의 것이다. 일부 예에서, 막횡단 도메인은 4-1BB/CD137의 것이다. 다른 예에서, 막횡단 도메인은 CD28 또는 CD34의 것이다. 추가의 다른 예에서, 막횡단 도메인은 인간 CD8 α 로부터 유래된 것이 아니다. 일부 실시양태에서, 키메라 수용체의 막횡단 도메인은 단일 통과 알파 나선이다.
- [0082] 다회 통과 막 단백질로부터의 막횡단 도메인 또한 본원에 기술된 키메라 수용체에서 사용하기 위한 것으로 상용성일 수 있다. 다회 통과 막 단백질은 복합 (적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7개 또는 그 초과) 알파 나선 또는 베타 시트 구조를 포함할 수 있다. 바람직하게, 다회 통과 막 단백질의 N-말단 및 C-말단은 지질 이중층의 반대측에 존재하고, 예컨대, 단백질의 N-말단은 지질 이중층의 세포외 측에 존재하고, 단백질의 C-말단은 세포외 측에 존재한다. 다회 통과 막 단백질로부터의 하나 또는 다회에 걸친 나선 통과가 본원에 기술된 키메라 수용체를 구축하는 데 사용될 수 있다.
- [0083] 본원에 기술된 키메라 수용체에서 사용하기 위한 막횡단 도메인은 또한 합성, 비-자연적으로 발생된 단백질 세그먼트의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인은 합성, 비-자연적으로 발생된 알파 나선 또는 베타 시트이다. 일부 실시양태에서, 단백질 세그먼트는 적어도 대략 20개의 아미노산, 예컨대, 적어도 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개, 또는 그 초과 아미노산이다. 합성 막횡단 도메인의 예는 관련 기술분야에, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,052,906 B1에 및 PCT 공개 번호 WO 2000/032776 A2에 공지되어 있으며, 상기 특허와 관련된 개시내용은 본원에서 참조로 포함된다.
- [0084] 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 시스테인 잔기를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 1개의 시스테인 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 2개의 시스테인 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 2개 초과 (예컨대, 3, 4, 5개 또는 그 초과) 시스테인 잔기를 포함한다.
- [0085] 막횡단 도메인은 막횡단 영역, 및 막횡단 도메인의 C-말단 측에 위치하는 세포질 영역을 포함할 수 있다. 막횡단 도메인의 세포질 영역은 3개 이상의 아미노산을 포함할 수 있고, 일부 실시양태에서, 이는 지질 이중층에 막횡단 도메인을 배향시키는 데 도움을 줄 수 있다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 시스테인 잔기는 막횡단 도메인의 막횡단 영역에 존재한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 시스테인 잔기는 막횡단 도메인의 세포질 영역에 존재한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인의 세포질 영역은 양으로 하전된 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인의 세포질 영역은 아미노산 아르기닌, 세린, 및 리신을 포함한다.
- [0086] 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인의 막횡단 영역은 소수성 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 영역은 주로 소수성 아미노산 잔기, 예컨대, 알라닌, 류신, 이소류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트립토판, 또는 발린을 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 영역은 소수성이다. 일부 실시양태에서, 막횡단 영역은 폴

리-류신-알라닌 서열을 포함한다.

[0087] 단백질 또는 단백질 세그먼트의 소수친수성(hydrophathy), 또는 소수성 또는 친수성 특징은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법, 예를 들어, 카이트(Kyte) 및 돌리틀(Doolittle) 소수친수성 분석에 의해 평가될 수 있다.

[0088] C. 공동 자극 신호전달 도메인

[0089] 다수의 면역 세포는 세포 증식, 분화 및 생존을 촉진시킬 뿐만 아니라, 세포의 이펙터 기능을 활성화시키기 위해서는, 항원-특이 신호 자극 이외에도, 공동 자극을 필요로 한다. 본원에 기술된 키메라 수용체는 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인을 포함한다. 본원에서 사용되는 바, "공동 자극 신호전달 도메인"이라는 용어는 면역 반응, 예컨대, 이펙터 기능을 유도하기 위해 세포 내에서 신호 전달을 매개하는 단백질 중 적어도 일부를 의미한다. 본원에 기술된 키메라 수용체의 공동 자극 신호전달 도메인은 공동 자극 단백질로부터의 세포질 신호전달 도메인일 수 있고, 이는 신호를 전달하고, 면역 세포, 예컨대, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 또는 호산구에 의해 매개되는 반응을 조절한다.

[0090] 숙주 세포 (예컨대, 면역 세포)에서의 공동 자극 신호전달 도메인의 활성화는 세포가 시토카인의 생산 및 분비, 식세포 특성, 증식, 분화, 생존 및/또는 세포독성을 증가시키거나, 또는 그를 감소시키도록 유도할 수 있다. 임의의 공동 자극 분자의 공동 자극 신호전달 도메인은 본원에 기술된 키메라 수용체에서 사용하기 위한 것으로 상용성일 수 있다. 공동 자극 신호전달 도메인의 유형(들)은 예컨대, 키메라 수용체가 발현되는 면역 세포의 유형 (예컨대, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 또는 호산구) 및 원하는 면역 이펙터 기능 (예컨대, ADCC 효과)과 같은 인자에 기초하여 선택된다. 키메라 수용체에서 사용하기 위한 공동 자극 신호전달 도메인의 예는 공동 자극 단백질의 세포질 신호전달 도메인일 수 있고, 이는 B7/CD28 패밀리의 구성원 (예컨대, B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7, BTLA/CD272, CD28, CTLA-4, Gi24/VISTA/B7-H5, ICOS/CD278, PD-1, PD-L2/B7-DC, 및 PDCD6); TNF 슈퍼패밀리의 구성원 (예컨대, 4-1BB/TNFSF9/CD137, 4-1BB 리간드/TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFRSF13C, CD27/TNFRSF7, CD27 리간드/TNFSF7, CD30/TNFRSF8, CD30 리간드/TNFSF8, CD40/TNFRSF5, CD40/TNFSF5, CD40 리간드/TNFSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, GITR 리간드/TNFSF18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFSF14, 림포톡신-알파/TNF-베타, OX40/TNFRSF4, OX40 리간드/TNFSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNF-알파, 및 TNF RII/TNFRSF1B); SLAM 패밀리의 구성원 (예컨대, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6, 및 SLAM/CD150); 및 임의의 다른 공동 자극 분자, 예컨대, CD2, CD7, CD53, CD82/Kai-1, CD90/Thy1, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIR1, HLA 클래스 I, HLA-DR, 이카로스(Ikaros), 인테그린 알파 4/CD49d, 인테그린 알파 4 베타 1, 인테그린 알파 4 베타 7/LPAM-1, LAG-3, TCL1A, TCL1B, CRTAM, DAP12, 텍틴(Dectin)-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP, TSLP R, 림프구 기능 연관 항원-1 (LFA-1), 및 NKG2C를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 공동 자극 신호전달 도메인은 4-1BB, CD28, OX40, ICOS, CD27, GITR, HVEM, TIM1, LFA1(CD11a) 또는 CD2, 또는 그의 임의의 변이체의 것이다. 다른 실시양태에서, 공동 자극 신호전달 도메인은 4-1BB로부터 유래된 것이다.

[0091] 본원에 기술된 공동 자극 신호전달 도메인 중 임의의 것의 변이체 또한 본 개시내용의 범주 내에 포함되며, 이로써, 공동 자극 신호전달 도메인은 면역 세포의 면역 반응을 조절할 수 있다. 일부 실시양태에서, 공동 자극 신호전달 도메인은 야생형 대응물과 비교하였을 때, 최대 10개의 아미노산 잔기 변이 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5 또는 8개)를 포함한다. 하나 이상의 아미노산 변이를 포함하는 상기 공동 자극 신호전달 도메인은 변이체로 지칭될 수 있다.

[0092] 공동 자극 신호전달 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이는 돌연변이를 포함하지 않는 공동 자극 신호전달 도메인과 비교하였을 때, 신호 전달을 증가시키고, 면역 반응의 자극을 증진시킬 수 있다. 공동 자극 신호전달 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이는 돌연변이를 포함하지 않는 공동 자극 신호전달 도메인과 비교하였을 때, 신호 전달을 감소시키고, 면역 반응의 자극을 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 천연 CD28 아미노산 서열의 잔기 186 및 187의 돌연변이는 키메라 수용체의 공동 자극 도메인에 의한 공동 자극 활성화, 및 면역 반응 유도를 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 CD28_{LL→GG} 변이체로 지칭되는, CD28 공동 자극 도메인의 각 186번 및 187번 위치의 리신의 글리신 잔기로의 치환이다. 공동 자극 신호전달 도메인의 공동 자극 활성을 증진시키거나, 또는 감소시킬 수 있는, 상기 도메인에서 이루어질 수 있는 추가의 돌연변이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 일부 실시양태에서, 공동 자극 신호전달 도메인은 4-1BB, CD28, OX40, 또는 CD28_{LL→GG} 변이체의 것이다. 일부 실시양태에서, 공동 자극 신호전달 도메인은 4-1BB의 것이 아니다.

[0093] 일부 실시양태에서, 키메라 수용체는 1개 초과와 공동 자극 신호전달 도메인 (예컨대, 2, 3개 또는 그 초과)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키메라 수용체는 같은 공동 자극 신호전달 도메인을 2개 이상, 예를 들어, CD28의 공동 자극 신호전달 도메인을 2 개 포함한다. 일부 실시양태에서, 키메라 수용체는 다른 공동 자극 단백질로부터의 2개 이상의 공동 자극 신호전달 도메인, 예컨대, 임의의 2개 이상의 본원에 기술된 공동 자극 단백질을 포함한다. 공동 자극 신호전달 도메인의 유형(들)을 선택하는 것은 인자, 예컨대, 키메라 수용체와 함께 사용하고자 하는 숙주 세포의 유형 (예컨대, 면역 세포, 예컨대, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 또는 호산구) 및 원하는 면역 이펙터 기능에 기초할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키메라 수용체는 2개의 공동 자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 2개의 공동 자극 신호전달 도메인은 CD28 및 4-1BB이다. 일부 실시양태에서, 2개의 공동 자극 신호전달 도메인은 CD28_{LL→GG} 변이체 및 4-1BB이다.

[0094] D. 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프 (ITAM)를 포함하는 세포질 신호전달 도메인

[0095] 본원에 기술된 키메라 수용체를 구축하는 데 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프 (ITAM)를 포함하는 임의의 세포질 신호전달 도메인이 사용될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "ITAM"은 일반적으로 많은 면역 세포에서 발견되는 신호전달 분자의 테일 부위에 존재하는 보존형 단백질 모티프이다. 모티프는 6-8개의 아미노산에 의해 이격되어 있는 2개의 아미노산 서열 YxxL/I 반복부를 포함할 수 있으며 (여기서, 각 x는 독립적으로 임의의 아미노산이다), 이로써, 보존형 모티프 YxxL/Ix₍₆₋₈₎YxxL/I를 생성한다. 신호전달 분자 내의 ITAM은 세포 내에서의 신호 전달에 중요하며, 이는 적어도 부분적으로는, 신호전달 분자의 활성화 이후, ITAM 중 티로신 잔기의 인산화에 의해 매개된다. ITAM은 또한 신호전달 경로에 관여하는 다른 단백질에 대한 도킹 부위로서 작용할 수 있다. 일부 예에서, ITAM을 포함하는 세포질 신호전달 도메인은 CD3 ζ 또는 Fc ϵ R1 γ 의 것이다. 다른 예에서, ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인은 인간 CD3 ζ 로부터 유래된 것이다. 추가의 다른 예에서, 같은 키메라 수용체 구축물의 세포와 리간드 결합 도메인이 CD16A로부터 유래된 것일 때, ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인은 Fc 수용체로부터 유래된 것이 아니다.

[0096] 한 구체적인 실시양태에서, 상가 또는 시너지 효과를 위해 수개의 신호전달 도메인이 함께 융합될 수 있다. 유용한 추가의 신호전달 도메인의 비제한적인 예로는 TCR 제타 체, CD28, OX40/CD134, 4-1BB/CD137, Fc ϵ RI γ , ICOS/CD278, ILRB/CD122, IL-2RG/CD132, 및 CD40 중 하나 이상의 것의 일부 또는 그들 모두를 포함한다.

[0097] E. 힌지 도메인

[0098] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체는 세포와 리간드 결합 도메인과 막횡단 도메인 사이에 위치하는 힌지 도메인을 추가로 포함한다. 힌지 도메인은 일반적으로 단백질의 두 도메인 사이에서 발견되며, 단백질의 가요성 및 도메인 중 하나 또는 그 둘 모두의 서로에 대해 상대적인 운동을 허용할 수 있는 아미노산 세그먼트이다. 키메라 수용체의 막횡단 도메인에 대해 상대적인 Fc 수용체의 세포와 리간드 결합 도메인의 상기와 같은 가요성 및 운동을 제공하는 임의의 아미노산 서열이 사용될 수 있다.

[0099] 힌지 도메인은 약 10-100개의 아미노산, 예컨대, 15-75개의 아미노산, 20-50개의 아미노산, 또는 30-60개의 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인의 길이는 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 또는 75개의 아미노산 길이일 수 있다.

[0100] 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 자연적으로 발생된 단백질의 힌지 도메인이다. 힌지 도메인을 포함하는 것으로 관련 기술분야에 공지된 임의의 단백질의 힌지 도메인은 본원에 기술된 키메라 수용체에서의 사용에 상용성을 띤다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 자연적으로 발생된 단백질의 힌지 도메인의 적어도 일부분이며, 키메라 수용체에 가요성을 부여한다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 CD8 α 의 것이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 CD8 α 의 힌지 도메인의 부위, 예컨대, CD8 α 의 힌지 도메인의 적어도 15개 (예컨대, 20, 25, 30, 35, 또는 40개)의 연속적인 아미노산을 함유하는 단편이다.

[0101] 항체, 예컨대, IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD 항체의 힌지 도메인 또한 본원에 기술된 키메라 수용체에서의 사용에 상용성을 띤다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 항체의 불변 도메인 CH1 및 CH2를 연결하는 힌지 도메인이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 항체의 것이고, 항체의 힌지 도메인 및 항체의 하나 이상의 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인 및 항체의 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인 및 항체의 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는 IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 IgG 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 항체이다. 일부 실시양태에서, 힌지

영역은 IgG1 항체의 힌지 영역 및 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 영역은 IgG1 항체의 힌지 영역 및 CH3 불변 영역을 포함한다.

[0102] 비-자연적으로 발생된 펩티드 또한 본원에 기술된 키메라 수용체를 위한 힌지 도메인으로서 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인의 C-말단과 막횡단 도메인의 N-말단 사이의 힌지 도메인은 펩티드 링커, 예컨대, $(\text{Gly}_x\text{Ser})_n$ 링커 (여기서, x 및 n 은 독립적으로 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12을 비롯한, 3 내지 12인 정수, 또는 그 초과인 값일 수 있다)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ (서열식별번호: 76) (여기서, n 은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60을 비롯한, 3 내지 60인 정수, 또는 그 초과인 값일 수 있다)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ (서열식별번호: 77)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_6$ (서열식별번호: 78)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_9$ (서열식별번호: 79)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_{12}$ (서열식별번호: 80)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_{15}$ (서열식별번호: 81)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_{30}$ (서열식별번호: 82)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_{45}$ (서열식별번호: 83)이다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_{60}$ (서열식별번호: 84)이다.

[0103] 다른 실시양태에서, 힌지 도메인은 다양한 길이의 친수성 잔기 (예컨대, 10-80개의 아미노산 잔기)로 이루어진 비구조적 폴리펩티드인, 연장된 재조합 폴리펩티드 (XTEN)이다. XTEN 펩티드의 아미노산 서열은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게는 명백할 것이며, 이는 예를 들어, 미국 특허 번호 8,673,860 (상기 특허는 본원에서 참조로 포함된다)에서 살펴볼 수 있다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 XTEN 펩티드이고, 60개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 XTEN 펩티드이고, 30개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 XTEN 펩티드이고, 45개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 XTEN 펩티드이고, 15개의 아미노산을 포함한다.

[0104] F. 신호 펩티드

[0105] 일부 실시양태에서, 키메라 수용체는 또한 폴리펩티드의 N-말단에 신호 펩티드 (이는 또한 신호 서열로도 공지됨)를 포함한다. 일반적으로, 신호 서열은 폴리펩티드를 세포 중의 원하는 부위로 표적화하는 펩티드 서열이다. 일부 실시양태에서, 신호 서열은 키메라 수용체를 세포의 분비 경로로 표적화하고, 키메라 수용체가 지질 이중층에 통합 및 고정될 수 있게 할 것이다. 본원에 기술된 키메라 수용체에서의 사용에 상용성을 띠는, 자연적으로 발생된 단백질의 신호 서열, 또는 합성, 비-자연적으로 발생된 신호 서열을 비롯한, 신호 서열은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 일부 실시양태에서, 신호 서열은 CD8 α 로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 신호 서열은 CD28로부터의 것이다. 다른 실시양태에서, 신호 서열은 뮤린 카파 쇠로부터의 것이다. 추가의 다른 실시양태에서, 신호 서열은 CD16으로부터의 것이다.

[0106] G. 키메라 수용체의 예

[0107] 하기 표 3-5는 본원에 기술된 키메라 수용체의 예를 제공한다. 이러한 예시적인 구축물은 N-말단에서부터 C-말단으로 순서대로 신호 서열, Fc 결합체 (예컨대, Fc 수용체의 세포외 도메인), 힌지 도메인, 및 막횡단을 가지며, 공동 자극 도메인 및 세포질 신호전달 도메인의 위치는 바뀔 수 있다.

[0108] <표 3>

[0109] 예시적인 키메라 수용체

예시적인 AA 서열 (SEQ ID NO)	신호 서열	Fc 수용체의 세포외 도메인	힌지 도메인	막횡단 도메인	공동 자극 도메인	세포질 신호전달 도메인
2	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	4-1BB (CD137)	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
3	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD28	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
4	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD34	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
5	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	디자인된 소수성 TM 도메인	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
6	CD8 α	CD32A	CD8 α	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
7	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD8 α	CD28	CD3 ζ
8	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD8 α	OX40 (CD134)	CD3 ζ
9	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD8 α	CD28 + 4-1BB	CD3 ζ
10	CD8 α	CD16A-V158	없음	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
11	CD8 α	CD16A-V158	XTEN	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ

[0110]

[0111] <표 4>

[0112] 예시적인 키메라 수용체

예시적인 AA 서열 (SEQ ID NO)	신호 서열	Fc 수용체의 세포외 도메인	힌지 도메인	막횡단 도메인	공동 자극 도메인	세포질 신호전달 도메인
12	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD8 α	CD28 LL \rightarrow GG 돌연변이체	CD3 ζ
13	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD8 α	CD28 LL \rightarrow GG 돌연변이체 + 4-1BB	CD3 ζ
14	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD4	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
15	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	CD4	CD28 LL \rightarrow GG 돌연변이체 + 4-1BB	CD3 ζ
16	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	Fc ϵ R1 γ	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
17	CD8 α	CD16A-V158	CD8 α	디자인된 소수성 TM 도메인, 예측 이량체화	4-1BB (CD137)	CD3 ζ

[0113]

[0114] <표 5>

[0115] 예시적인 키메라 수용체

예시적인 AA 서열 (SEQ ID NO)	신호 서열	Fc 수용체 의 세포외 도메인	헨지 도메인	막횡단 도메인	공동 자극 도메인	신호전달 도메인
18	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 β	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
19	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	C16 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
20	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	OX40 (CD134)	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
21	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD3 ζ	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
22	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD3 ϵ	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
23	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD3 γ	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
24	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD3 δ	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
25	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	TCR- α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
26	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD32	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
27	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD64	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
28	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	VEGFR2	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
29	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	FAS	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
30	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	FGFR2B	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
32	CD8 α	CD64A	CD8 α	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
33	CD8 α	CD16A- V158	IgG1 (헨지- CH2-CH3)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
34	CD8 α	CD16A- V158	IgG1 (헨지- CH3)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
35	CD8 α	CD16A- V158	IgG1 (헨지)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
36	CD8 α	CD16A- V158	CD8-알파 단편 1 (30 개의 아미노산)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
37	CD8 α	CD16A- V158	CD8-알파 단편 2 (15 개의 아미노산)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
38	CD8 α	CD16A-	(Gly4Ser) \times 3	CD8 α	4-1BB	CD3 ζ

[0116]

		V158	(60 개의 아미노산)		(CD137)	
39	CD8 α	CD16A- V158	(Gly4Ser)x6 (45 개의 아미노산)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
40	CD8 α	CD16A- V158	(Gly4Ser)x9 (30 개의 아미노산)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
41	CD8 α	CD16A- V158	(Gly4Ser)x12 (15 개의 아미노산)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
42	CD8 α	CD16A- V158	XTEN (60 개의 아미노산)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
43	CD8 α	CD16A- V158	XTEN (30 개의 아미노산)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
44	CD8 α	CD16A- V158	XTEN (15 개의 아미노산)	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
45	CD28	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
46	뮤린 카파 쇄	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
47	CD16	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	4-1BB (CD137)	CD3 ζ
48	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	ICOS	CD3 ζ
49	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	CD27	CD3 ζ
50	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	GITR	CD3 ζ
51	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	HVEM	CD3 ζ
52	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	TIM1	CD3 ζ
53	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	LFA1 (CD11a)	CD3 ζ
54	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	CD2	CD3 ζ
55	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	Fc ϵ R1 γ	4-1BB (CD137)	Fc ϵ R1 γ
56	CD8 α	CD16A- V158	CD8 α	CD8 α	4-1BB (CD137)	Fc ϵ R1 γ

[0117]

[0118] 예시적인 키메라 수용체의 아미노산 서열을 하기에 제공한다 (신호 서열은 이탤릭체로 표시).

SEQ ID NO: 2:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL

[0119]

VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFVSVKRGKRGRKKLLYIFK
QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLY
QGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 3:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKKRGRKKLLYIFK
QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLY
QGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 4:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDLIALVTSGALLAVLGITGYFLMNRKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 5:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDLAALLALLAALLALLAALLARSKKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 6:

MALPVTALLLPLALLLHAARPQAAAPPKAVLKLEPPWINVLQEDSVTLTCQGARSPESDS
IQWFHNGNLIPTHTQPSYRFKANNNDSGEYTCQTGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPHLE
FQEGETIMLRCHSWKDKPLVKVTFQNGKSQKFSHLDPTFSIPQANHSHSGDYHCTGNIG
YTLFSSKPVTITVQVPSMGSSSPMGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV
HTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED
GCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE
MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDAL
HMQALPPR

[0120]

SEQ ID NO: 7:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRSKRSRLLHSDYMNMTPR
RPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK
RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT
KDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 8:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCALYLLRRDQRLPPDAHKP
PGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 9:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRSKRSRLLHSDYMNMTPR
RPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE
GGCEL RVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 10:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG
RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKF SRSADAPAYQQGQNQLY
NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR
RGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 11:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT
STEPSEGSAPGSPAGSPTIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD

[0121]

KRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 12:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRSKRSRGGHSDYMNMTPR
RPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK
RGRDRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 13:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRSKRSRGGHSDYMNMTPR
RPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE
GGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQ
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 14:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDMALIVLGGVAGLLLF IGLGIFFCVRRKGRKKLLYIFKQPFMR
PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
DKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 15:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDMALIVLGGVAGLLLF IGLGIFFCVRRSKRSRGGHSDYMNMT
RRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 16:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL

[0122]

VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 17:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDLLLLILLGVLAVLATLAALLARSKKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 18:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDITLGLLVAGVLVLLVSLGVAIHLCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 19:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDVSFCLVMVLLFAVDITGLYFSVKTNKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 20:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDVAAILGLGLVLGGLPLAILLALYKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

[0123]

SEQ ID NO: 21:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL
DKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTA
TKDITYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 22:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVIYWSKNRKRGRKKLLYIFKQ
PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE
YDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 23:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDGLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQDKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL
DKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTA
TKDITYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 24:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDGIIVTDVIATLLALGVFCFAGHETKRGRKKLLYIFKQPFMR
PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL
DKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLST
ATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 25:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL

[0124]

VGSKNVSSSETVNITITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWKRRGRKKLLYIFKQPFMRPV
QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
RRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTAT
KDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 26:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIIIVAVVIATAVAIAVAVALIYCRKKRGRKKLLYIFKQPFMRP
RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDV
LDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLS
TATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 27:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDVLFYLA VGIMFLVNTVLWVTIRKEKGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 28:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIIILVGTAVIAMFFWLLLVIILRTKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 29:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDLGWLCLLLPIPLIVWVKRKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT
QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
RDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDT
YDALHMQALPPR

[0125]

SEQ ID NO: 30:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIAIYCIGVFLIACMVTVILCRMKKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL
DKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 31:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
FGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL
DKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 32:

MALPVTALLLPLALLLHAARPQVDTTKAVITLQPPWVSVFQEETVTLHCEVLHLPSSST
QWFLNGTATQTSTPSYRITSASVNDSGEYRCQRGLSGRSDPIQLEIHRGWLLLQVSSRVF
TEGEPLALRCHAWKDKLVYNVLYYRNGKAFKFHWNNSLTILKTNISHNGTYHCSGMGKH
RYTSAGISVTVKELFPAPVLNASVTSPLLEGNLVTLSCETKLLLQRPGLQLYFSFYMGSK
TLGRNTSSEYQILTARREDSGLYWCEAATEDGNVLKRSPELELQVLGLQLPTPVWFHIY
IWAFLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE
GGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQ
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 33:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYIWAFLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIF
KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR
REEYDVL DKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGL
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0126]

SEQ ID NO: 34:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQEPKSCDKTHTCPGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR
KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 35:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQEPKSCDKTHTCPIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD
APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 36:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAF
ACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF
EEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR
KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP
R

SEQ ID NO: 37:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPFACDIYIWAPLAGTCG
VLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR
SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK
MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 38:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQGGGGSGGGSGGGGSIYIWAPLAGTCG

[0127]

VLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR
SADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK
MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 39:

MALPVTALLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG
GGSIIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF
EEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRR
KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP
R

SEQ ID NO: 40:

MALPVTALLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG
GGSGGGSGGGSGGGSGGGSIIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVL
KRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 41:

MALPVTALLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG
GGSGGGSGGGSGGGSGGGSIIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG
RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY
NELNLRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR
RGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 42:

MALPVTALLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT
STEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSIIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG
RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY
NELNLRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR
RGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0128]

SEQ ID NO: 43:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQGGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGT
STEIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF
EEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRR
KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP
R

SEQ ID NO: 44:

MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQGGSPAGSPTSTEEGTIYIWAPLAGTCG
VLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVKFSR
SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK
MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 45:

MLRLLLALNLFPSIQVTGGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPEDNST
QWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVF
KEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLVGS
KNVSSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA
AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ
TTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRR
GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK
DYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 46:

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 47:

MWQLLLPTALLLVLSAGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPEDNSTQW
FHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKE
EDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLVGSKN
VSSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG

[0129]

GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ
EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR
DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTY
DALHMQALPPR

SEQ ID NO: 48:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCCWLTKKKYSSSVHDPNGE
YMFMRVNTAKKSRLTDVTLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR
DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDT
YDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 49:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCQRRKYRSNKGESPVPAE
PCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSPRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLY
QGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 50:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCQLGLHIWQLRSQCMWPRE
TQLLLEVPPTEDARSCQFPEEERGERSAEEKGRGLDWVRVKFSRSADAPAYQQGQNQL
YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER
RRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 51:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESSLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCCVKRRKPRGDVVKVIVSV
QRKRQEAEGEATVIEALQAPPDVTTVAVEETIPSFTGRSPNHRVKFSRSADAPAYQQGQN
QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG
ERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0130]

SEQ ID NO: 52:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKKYFFKKEVQQLSVSFSS
LQIKALQNAVEKEVQAEDNIYIENSLYATDRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
EYDVLDKRRGRDPEMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY
QGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 53:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCYKVGFFKRNLEKMEAGR
GVPNGIPAEDSEQLASGQEQAGDPGCLKPLHEKDESGGKDRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE
RRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 54:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRKKQRSRNRDEELETRA
HRVATEERGRKPHQIPASTPQNPATSQHPPPPPGHRSQAPSHRPPPPGHRVQHQPQKRPP
APSGTQVHQKGPPLPRPRVQPKPPHGAENSLSPSSNRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 55:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDPQLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSYEKSDG
VYTGLSTRNQETETLKHEKPPQKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEE
GGCEL

SEQ ID NO: 56:

MALPVTALLLPLALLLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPED
NSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPR
WVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGL
VGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC

RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRLKIQVRKAAITSYEKSDGVYTGLSTRNQETETLK
HEKPPQ

일부 실시양태에서, 예컨대, 본원에 게시된 CD16F-BB-ζ 및 CD16V-BB-ζ와 같은, 본원에 기술된 키메라 수용체는 CD16 (CD16F 또는 CD16V, 이는 또한 F158 *FCGR3A* 및 V158 *FCGR3A* 변이체로도 공지됨)의 세포외 리간드 결합 도메인, CD8α의 힌지 및 막횡단 도메인, 4-1BB의 공동 자극 신호전달 도메인, 및 CD3ζ의 세포질 신호전달 도메인 중 하나 이상의 것을 포함할 수 있다. 이들 성분의 아미노산 서열 및 예시적인 코딩 뉴클레오타이드 서열은 하기 표 6에 제공되어 있다.

<표 6>

[0135] 예시적인 서열

SEQ ID NO	서열	설명
1	MALPVTALLPLALLHAARPGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYS PEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWL LLQAPRWVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKD SGSYFCRGLVGSKNVSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD16V-BB-ζ
57	GMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPEDNSTQWFHNESLISSQASS YFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLQAPRWVFKEEDPIHLRCHS WKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKD SGSYFCRGLVGSKNVSETVN ITITQGLAVSTISSFFPPGYQ	V158 FCGR3A 변이체
58	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCG VLLLSLVITLYC	CD8알파의 헨지 및 막횡단 도메인
59	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	4-1BB 신호전달 도메인
60	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3제타 신호전달 도메인
61	MALPVTALLPLALLHAARP	CD8알파의 신호 펩티드
62	CTTCTGCAGGGGGCTTGTTGGGAGTAAAAATGTGTC	합성/프라이머
63	GACACATTTTACTCCCAACAAGCCCCCTGCAGAAG	합성/프라이머
64	ATGGCCTTACCACTGACCGCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCC AGGCCGGGCATGCGGACTGAAGATCTCCCAAAGGCTGTGGTGTTCTCGGAGCCTCAA TGGTACAGGGTGCTCGAGAAGGACAGTGACTCTGAAGTGCCAGGAGCCTACTCC CCTGAGGACAATTCACACAGTGGTTTCAACAATGAGAGCCTCATCTCAAGCCAGGCC TCGAGCTACTTCATTGACGCTGCCACAGTCGACGACAGTGGAGAGTACAGGTGCCAG	CD16V-BB-ζ

[0136]

SEQ ID NO	서열	설명
	ACAAACCTCTCCACCTCAGTGACCCGGTGCAGCTAGAAGTCCATATCGGCTGGCTG TTGCTCCAGCCCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAGGAAGACCTATTACCTGAGGTGT CACAGGTGGAAGAACACTGCTCTGCATAAGGTCACATATTTACAGAATGGCAAAGGC AGGAAGTATTTTCATCATAATTCTGACTTCTACATTCCAAAAGCCACACTCAAAGAC AGCGGCTCCTACTTCTGCAGGGGGCTTGTGGGAGTAAAAATGTGTCTTCAGAGACT GTGAACATCACCATCACTCAAGGTTTGGCAGTGTCAACCATCTCATCTTTTCCA CCTGGGTACCAAACACGACGCCAGCGCCGCCACCACCAACACCGCGCCACCATC GCGTCGCAGCCCCGTGCTGCGCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGGGGGGCGCA GTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCC GGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACTGCAAACGGGGC AGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACT CAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGATGTGAA CTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAAC CAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAG AGACGTGGCCGGGACCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAA GGCCTGTACATGAATGCTCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCCTACAGTGAGATTGGG ATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGT ACAGGCCACCAAGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCTTCGCTAA	
65	GGCATGCGGACTGAAGATCTCCCAAAGGCTGTGGTGTCTGGAGCCTCAATGGTAC AGGGTGCTCGAGAAGGACAGTGTGACTCTGAAGTGCCAGGAGCCTACTCCCCTGAG GACAATTCCACACAGTGGTTTCAATGAGAGCCTCATCTCAAGCCAGGCCCTCGAGC TACTTCATTGACGCTGCCACAGTCGACGACAGTGGAGAGTACAGGTGCCAGACAAAC CTCTCCACCTCAGTGACCCGGTGCAGCTAGAAGTCCATATCGGCTGGCTGTTGCTC CAGGCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAGGAAGACCTATTACCTGAGGTGTACAGC TGGAGAAGCACTGCTCTGCATAAGGTACATATTTACAGAATGGCAAAGGCAGGAAG TATTTTCATCATAATTCTGACTTCTACATTTCCAAAAGCCACACTCAAAGACAGCGGC TCTACTTCTGCAGGGGGCTTGTGGGAGTAAAAATGTGTCTTCAGAGACTGTGAAC ATCACCATCACTCAAGGTTTGGCAGTGTCAACCATCTCATCTTTTCCACCTGGG TACCAA	V158 FCGR3A 변이체
66	ACCACGACGCGCAGCGCCGACCAACACCGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCC CTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGCGGGGGGGCGCAGTGCACACGAGG GGGCTGGACTTCGCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGG GTCCTTCTCTGTCACTGGTTATCACCTTTACTGC	CD8알파의 한지 및 막횡단 도메인
67	AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTA CAAATACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGA GGATGTGAACCTG	4-1BB 신호 전달 도메인
68	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACAG CTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGA CGTGGCCGGGACCTTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGC CTGTACAATGAACCTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCCTACAGTGAGATTGGGATG AAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACA GCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCTTCGCTAA	CD3제타 신호전달 도메인
69	ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGTCTCTGCCGCTGGCCTTGTGCTCCACGCGCC AGGCCG	CD8알파의 신호 펩티드
31	MALPVTALLPLALLHAAPGMRTEDELPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYS PEDNSTQWFHNESSLSSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWL LLQAPRWVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHNSDFYIPKATLKD SGSYFCRGLFGSKNVSSSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQTTTPAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRG RKLLYIFKQFFMRPVQTTQEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQQN QLYNELNLGRREYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD16F-BB-ζ

[0137]

SEQ ID NO	서열	설명
70	GMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKQGAYSPEDNSTQWFHNESSLISSQASS YFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKEEDPIHLRCHS WKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSSGSYFCRGLFGSKNVSETVN ITITQGLAVSTISSFFPPGYQ	F158 FCGR3A
71	ATGGCCTTACCACTGACCGCCTTGCTCCTGCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCC AGGCCGGGCATGCGGACTGAAGATCTCCCAAAGGCTGTGGTGTTCCTGGAGCCTCAA TGGTACAGGGTGCTCGAGAAGGACAGTGTGACTCTGAAGTGCCAGGGAGCCTACTCC CCTGAGGACAATTCCACACAGTGGTTTACAAATGAGAGCCTCATCTCAAGCCAGGCC TCGAGCTACTTCATTGACGCTGCCACAGTCGACGACAGTGGAGAGTACAGGTGCCAG ACAAACCTCTCCACCTCAGTGACCCGGTGCAGCTAGAAGTCCATATCGGCTGGCTG TTGCTCCAGGCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAGGAAGACCCTATTCACCTGAGGTGT CACAGTGGAAAGAACTGCTCTGCATAAGGTCACATATTTACAGAATGGCAAAGGC AGGAAGTATTTTCATCATAATTCTGACTTCTACATTCCAAAAGCCACACTCAAAGAC AGCGGCTCCTACTTCTGCAGGGGGCTTTTTGGGAGTAAAAATGTGTCTTCAGAGACT GTGAACATCACCATCACTCAAGGTTTGGCAGTGTCAACCATCTCATCTTTTCCA CTTGGGTACCAAAACCACGACGCGCCGCGGACCAACACCGCGCGCCCACTC GCGTCGACGCCCCCTGTCCTGCGCCAGAGGCGTGGCGCCAGCGCGGGGGGCGCA GTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCTGTGATATCTACATCTGGCGGCCCTTGGCC GGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCTGCTGTTATCACCTTTACTGCAACGGGGC AGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCACTACAACTACT CAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGGATGTGAA CTGAGAGTGAAATTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAAC CAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAG AGACGTGGCCGGGACCTTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAA GGCCTGTACAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCCTACAGTGAGATTGGG ATGAAAGGCGAGCGCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGT ACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA	CD16F-BB-ζ
72	GGCATGCGGACTGAAGATCTCCCAAAGGCTGTGGTGTTCCTGGAGCCTCAATGGTAC AGGGTGCTCGAGAAGGACAGTGTGACTCTGAAGTGCCAGGGAGCCTACTCCCCTGAG GACAATTCACACAGTGGTTTCACATGAGAGCCTCATCTCAAGCCAGGCCTCGAGC TACTTCATTGACGCTGCCACAGTCGACGACAGTGGAGAGTACAGGTGCCAGACAAAC CTCTCCACCTCAGTGACCCGGTGCAGCTAGAAGTCCATATCGGCTGGCTGTGCTC CAGGCCCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAGGAAGACCCTATTCACCTGAGGTGTACAGC TGGAAGAACACTGCTCTGCATAAGGTCACATATTTACAGAATGGCAAAGGCAGGAAG TATTTTCATCATAATTCTGACTTCTACATTCCAAAAGCCACACTCAAAGACAGCGGC TCCTACTTCTGCAGGGGGCTTTTTGGGAGTAAAAATGTGTCTTCAGAGACTGTGAAC ATCACCATCACTCAAGGTTTGGCAGTGTCAACCATCTCATCTTTTCCACCTGGG TACCAA	F158 FCGR3A 변이체

[0138]

[0139]

일부 예에서, 본원에 기술된 키메라 수용체는 상기 열거된 성분들 모두를 포함하지는 않는다. 예를 들어, 본원에 기술된 키메라 수용체는 하기 표 7에 열거된 키메라 수용체 중 어느 것도 아닐 수 있거나, 또는 상기 표 6에 열거된 서열 중 하나 이상의 것을 포함하지 않을 수 있다.

[0140]

<표 7>

[0141]

예시적인 키메라 수용체

예시적인 AA 서열 (SEQ ID NO)	신호 서열	Fc 수용체의 세포외 도메인	헐지 도메인	막횡단 도메인	공동 자극 도메인	신호전달 도메인
1	CD8α	CD16A-V158	CD8α	CD8α	4-1BB (CD137)	CD3ζ
31	CD8α	CD16A-F158	CD8α	CD8α	4-1BB (CD137)	CD3ζ

[0142]

[0143]

본원에 개시된 다른 키메라 수용체와 같이, 면역 세포, 예컨대, T 세포 및 NK 세포에서의 이들 예시적인 키메라 수용체의 발현이 상기 세포에 ADCC 능력을 부여할 것이며, 이로써, 표적화된 종양 항원에 상관 없이, 모노클로날 항체 (뿐만 아니라, Fc 부위를 포함하는 다른 항-종양 분자, 예컨대, 면역글로불린 또는 Fc-함유 DNA 또는 RNA의 Fc 부위와 조합된, 종양 표면 수용체에 결합하는 리간드 (예컨대, 시토카인, 면역 세포 수용체)에 의해 구성된 복합 분자)의 항-종양 잠재능을 유의적으로 증강시킬 것이다.

[0144]

본원에 기술된 다른 키메라 수용체와 같이, 이들 예시적인 키메라 수용체 또한 다중 종양에 대한 항체 요법의

효능을 유의적으로 증강시키는 잠재능을 가진 범용 키메라 수용체이다. 하기 실시예 1에서 논의되는 바와 같이, 레트로바이러스 형질도입에 의해 인간 T 세포에서 발현되었을 때, 본 개시내용의 V158 수용체는 통상의 F158 변이체 (이 또한 본원에서 제공됨)를 함유하는 동일한 키메라 수용체와 비교하였을 때, 예컨대, 항-CD20 항체 리툽시맙과 같은, 인간화 항체를 비롯한 인간 IgG에 대하여 유의적으로 더 높은 친화도를 가진다. 키메라 수용체의 결속이 T 세포 활성화, 용해성 과립 엑소사이토시스 및 증식을 유발한다. CD16V-BB-ζ를 발현하는 T 세포는 낮은 이펙터: 표적 비율에서 리툽시맙의 존재하에 림프종 세포주 및 원발성 만성 림프구성 백혈병 (CLL) 세포를 특이적으로 사멸시키며, 심지어 CLL 배양이 골수 유래 중간엽 세포 상에서 수행된 경우에도 그러한다. 항-HER2 항체 트라스투주맙은 유방암 및 위암 세포에 대하여, 및 항-GD2 항체 hu14.18K322A는 신경모세포종 및 골육종 세포에 대하여 키메라 수용체-매개 항체 의존성 세포 세포독성 (ADCC)을 일으킨다. 실시예 섹션에 추가로 개시되어 있는 바와 같이, 키메라 수용체를 발현하는 T 세포와 리툽시맙은 조합하여 면역결핍 마우스에서 인간 림프종 세포를 퇴치한 반면, T 세포 또는 항체 단독인 경우에는 그러하지 못했다. 상기 기술에 관한 임상적 해석을 가속화하기 위해, 키메라 수용체 mRNA의 전기천공에 기초한 방법을 개발함으로써 바이러스 벡터 사용 없이도 효율적이고, 일시적인 수용체 발현을 이끌었다.

[0145] **H. 키메라 수용체의 제조 및 키메라 수용체를 포함하는 제약 조성물**

[0146] 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것은 통상의 방법, 예컨대, 재조합 기술에 의해 제조될 수 있다. 본원의 키메라 수용체를 제조하는 방법은 Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인, 막횡단 도메인, 적어도 하나의 공동 자극 신호전달 도메인, 및 ITAM을 포함하는 세포질 신호전달 도메인을 비롯한, 키메라 수용체의 각 도메인을 포함하는, 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 생성하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 또한 Fc 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인과 막횡단 도메인 사이의 힌지 도메인을 코딩한다. 키메라 수용체를 코딩하는 핵산은 또한 신호 서열을 코딩할 수 있다. 일부 실시양태에서, 핵산 서열은 서열식별번호: 2-30 및 32-56에 의해 제공되는 예시적인 키메라 수용체 중 어느 하나를 코딩한다.

[0147] 키메라 수용체의 각 성분의 서열은 통상의 기술, 예컨대, 관련 기술분야에 공지된 다양한 공급원들 중 어느 하나로부터의 PCR 증폭을 통해 획득할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키메라 수용체의 성분들 중 하나 이상의 것의 서열은 인간 세포로부터 획득된 것이다. 대안적으로, 키메라 수용체의 하나 이상의 성분의 서열은 합성될 수 있다. 예컨대, PCR 증폭 또는 라이게이션과 같은 방법을 사용하여, 각 성분 (예컨대, 도메인)의 서열은 직접적으로, 또는 (예컨대, 펩티드 링커를 코딩하는 핵산 서열을 사용하여) 간접적으로 간접적으로 연결될 수 있고, 이로써, 키메라 수용체를 코딩하는 핵산 서열을 형성할 수 있다. 대안적으로, 키메라 수용체를 코딩하는 핵산은 합성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 핵산은 DNA이다. 다른 실시양태에서, 핵산은 RNA이다.

[0148] 키메라 수용체 단백질, 상기를 코딩하는 핵산, 및 상기 핵산을 보유하는 발현 벡터 중 임의의 것을 제약상 허용되는 담체와 혼합하여 제약 조성물을 형성할 수 있고, 이 또한 본 개시내용의 범주 내에 포함된다. "허용되는"이란, 담체가 조성물의 활성 성분 (예컨대, 핵산, 벡터, 세포, 또는 치료학적 항체)과 상용성이고, 조성물 (들)을 투여받은 대상체에게 부정적인 영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다. 본 발명에서 사용하고자 하는 제약 조성물 중 임의의 것은 동결건조된 제제 또는 수용액 형태로 제약상 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정제를 포함할 수 있다.

[0149] 완충제를 비롯한, 제약상 허용되는 담체는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한, 항산화제; 보존제; 저분자량 폴리펩티드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 아미노산; 소수성 중합체; 단당류; 이당류; 및 다른 탄수화물; 금속 복합체; 및/또는 비이온성 계면활성제를 포함할 수 있다. 예컨대 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover]을 참조할 수 있다.

[0150] 본 개시내용의 제약 조성물은 치료하고자 하는 특정 적응증에 필요한 하나 이상의 추가 활성 화합물, 바람직하게, 서로 유해한 영향을 미치지 않는, 상호 보완적인 활성을 가지는 것 또한 함유할 수 있다. 가능한 추가의 활성 화합물에 관한 비제한적인 예로는 예컨대, IL2 뿐만 아니라, 하기 조합 치료에 관한 논의에서 열거되는 다양한 작용제를 포함한다.

[0151] **II. 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포**

[0152] 본원에 기술된 키메라 수용체를 발현하는 숙주 세포는 Fc-함유 치료제, 예컨대, 항체 (예컨대, 치료학적 항체) 또는 Fc-융합 단백질이 결합하는 표적 세포를 인식할 수 있는 특이적인 세포 집단을 제공한다. 상기 숙주 세포 (예컨대, 면역 세포) 상에서 발현된 키메라 수용체 구축물의 세포외 리간드 결합 도메인과 항체 또는 Fc-융합

단백질의 Fc 부위와의 결속으로 활성화 신호가 키메라 수용체 구축물의 공동 자극 신호전달 도메인(들) 및 ITAM 함유 세포질 신호전달 도메인에 전달되고, 이로써, 결국에는 숙주 세포의 세포 증식 및/또는 이펙터 기능, 예컨대, 숙주 세포에 의해 유발되는 ADCC 효과가 활성화된다. 공동 자극 신호전달 도메인(들) 및 ITAM을 포함하는 세포질 신호전달 도메인의 조합을 통해 세포내 다중 신호전달 경로의 활성화가 강력화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 면역 세포, 예컨대, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, 또는 그의 임의의 조합이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 NK 세포이다. 다른 실시양태에서, 면역 세포는 확립된 세포주, 예를 들어, NK-92 세포일 수 있다.

[0153] 면역 세포 집단은 임의의 공급원, 예컨대, 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC), 골수, 조직, 예컨대, 비장, 림프절, 흉선, 또는 종양 조직으로부터 수득될 수 있다. 원하는 숙주 세포 유형을 수득하는 데 적합한 공급원은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포 집단은 PBMC로부터 유래된 것이다. 원하는 숙주 세포 유형 (예컨대, 면역 세포, 예컨대, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, 또는 그의 임의의 조합)은 세포를 자극 분자와 함께 공동으로 인큐베이션시킴으로써 수득되는 세포 집단 내에서 확장될 수 있고, 예를 들어, 항-CD3 및 항-CD28 항체는 T 세포의 확장을 위해 사용될 수 있다.

[0154] 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물 중 임의의 것을 발현하는 면역 세포를 구축하기 위해, 키메라 수용체 구축물의 안정적인 또는 일시적인 발현을 위한 발현 벡터를 본원에 기술된 종래 방법을 통해 구축할 수 있고, 면역 숙주 세포 내로 도입할 수 있다. 예를 들어, 키메라 수용체를 코딩하는 핵산을 적합한 프로모터와 작동가능하게 연결되게 적합한 발현 벡터, 예컨대, 바이러스 벡터 내로 클로닝할 수 있다. 적합한 조건하에서 핵산 및 벡터를 제한 효소와 접촉시켜, 서로 쌍을 형성할 수 있고, 리가제로 연결될 수 있는 상보적인 단부를 각 분자에 생성할 수 있다. 대안적으로, 키메라 수용체를 코딩하는 핵산의 말단에 합성 핵산 링커를 라이게이션시킬 수 있다. 합성 링커는 벡터 중 특정 제한 부위에 상응하는 핵산 서열을 함유할 수 있다. 발현 벡터/플라스미드/바이러스 벡터 선택은 키메라 수용체의 발현을 위한 숙주 세포의 유형에 의존하지만, 진행 세포에서의 통합 및 복제에 적합한 것이어야 한다.

[0155] 본원에 기술된 키메라 수용체의 발현에 다양한 프로모터가 사용될 수 있으며, 이는 제한 없이, 시토메갈로바이러스 (CMV) 중간 초기 프로모터, 바이러스 LTR, 예컨대, 라우스 육종 바이러스 LTR, HIV-LTR, HTLV-1 LTR, 원숭이바이러스 40 (SV40) 초기 프로모터, 헤르페스 단순 tk 바이러스 프로모터를 포함한다. 키메라 수용체 발현을 위한 추가의 프로모터로는 면역 세포에서 구성적으로 활성을 띠는 임의의 프로모터를 포함한다. 대안적으로, 임의의 조절가능한 프로모터가 사용될 수 있고, 이로써, 면역 세포 내에서의 그의 발현은 조절될 수 있다.

[0156] 추가로, 벡터는 예를 들어, 하기 중 일부 또는 그들 모두를 함유할 수 있다: 선별가능한 마커 유전자, 예컨대, 숙주 세포에서 안정적인 또는 일시적인 형질감염체의 선별을 위한 네오마이신 유전자; 고수준의 전사를 위한 인간 CMV의 중간 초기 유전자로부터의 인핸서/프로모터 서열; mRNA 안정성을 위한 SV40으로부터의 전사 종결 및 RNA 프로세싱 신호; SV40 폴리오마 복제 기점 및 적절한 에피솜 복제를 위한 CoIE1; 내부 리보솜 결합 부위 (IRES), 다목적 다중 클로닝 부위; 센스 및 안티센스 RNA의 시험관내 전사를 위한 T7 및 SP6 RNA 프로모터; 유발되었을 때, 벡터를 보유하는 세포의 사멸을 유발하는 "자살 스위치" 또는 "자살 유전자" (예컨대, HSV 티미딘 키나제, 유도성 카스파제, 예컨대, iCasp9), 및 키메라 수용체의 발현을 평가하기 위한 리포터 유전자.

[0157] 한 구체적인 실시양태에서, 상기 벡터는 또한 자살 유전자를 포함한다. 본원에서 사용되는 바, "자살 유전자"라는 용어는 자살 유전자를 발현하는 세포의 사멸을 유발하는 유전자를 의미한다. 자살 유전자는 작용제, 예컨대, 약물에 대한 감수성을 유전자 발현되는 세포에 부여하고, 세포가 상기 작용제와 접촉하였을 때, 또는 그에 노출되었을 때, 세포의 사멸을 유발하는 유전자일 수 있다. 자살 유전자는 관련 기술분야에 공지되어 있고 (예를 들어, 문헌 [Suicide Gene Therapy: Methods and Reviews, Springer, Caroline J. (Cancer Research UK Centre for Cancer Therapeutics at the Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, UK), Humana Press, 2004] 참조), 이는 예를 들어, 헤르페스 단순 바이러스 (HSV) 티미딘 키나제 (TK) 유전자, 시토신 다미나제, 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제, 니트로리덕타제 및 카스파제, 예컨대, 카스파제 8을 포함한다.

[0158] 적합한 벡터 및 트랜스진을 함유하는 벡터를 제조하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 이용가능하다. 키메라 수용체의 발현을 위한 벡터의 제조에 관한 예는 예를 들어, US2014/0106449 (상기 문헌은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다)에서 살펴볼 수 있다.

[0159] 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터 중 임의의 것 또한 본 개시내용의 범주 내에 포함된다. 상기 벡터, 또는 그 안에 함유되어 있는 키메라 수용체를 코딩하는 서열은 적합한 방법에

의해 숙주 세포, 예컨대, 숙주 면역 세포 내로 전달될 수 있다. 벡터를 면역 세포로 전달하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, DNA 전기천공, RNA 전기천공, 형질감염 시약, 예컨대, 리포솜, 또는 바이러스 형질도입을 포함할 수 있다.

[0160] 일부 실시양태에서, 키메라 수용체의 발현을 위한 벡터는 바이러스 형질도입에 의해 숙주 세포로 전달된다. 예시적인 바이러스 전달 방법은 재조합 레트로바이러스 (예컨대, PCT 공개 번호 WO 90/07936; WO 94/03622; WO 93/25698; WO 93/25234; WO 93/11230; WO 93/10218; WO 91/02805; 미국 특허 번호 5,219,740 및 4,777,127; GB 특허 번호 2,200,651; 및 EP 특허 번호 0 345 242 참조), 알파바이러스 기반 벡터, 및 아데노 관련 바이러스 (AAV) 벡터 (예컨대, PCT 공개 번호 WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 및 WO 95/00655 참조)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 키메라 수용체의 발현을 위한 벡터는 레트로바이러스이다. 일부 실시양태에서, 키메라 수용체의 발현을 위한 벡터는 렌티바이러스이다.

[0161] 레트로바이러스 형질도입에 관하여 기술하는 참고 문헌의 예로는 미국 특허 번호 5,399,346 (앤더슨(Anderson) 등); [Mann et al., Cell 33:153 (1983)]; 미국 특허 번호 4,650,764 (테민(Temin) 등); 미국 특허 번호 4,980,289 (테민 등); [Markowitz et al., J. Virol. 62:1120 (1988)]; 미국 특허 번호 5,124,263 (테민 등); 국제 특허 공개 번호 WO 95/07358 (1995년 3월 16일, 도허티(Dougherty) 등); 및 [Kuo et al., Blood 82:845 (1993)]을 포함한다. 국제 특허 공개 번호 WO 95/07358에는 일차 B 림프구의 고효율 형질도입이 기술되어 있다. 예를 들어, 사용될 수 있는 mRNA 전기천공 및 레트로바이러스 형질도입에 대한 구체적인 기술에 관해 하기의 실시예 섹션을 참조할 수 있다.

[0162] 키메라 수용체를 코딩하는 벡터를 바이러스 벡터를 사용하여 숙주 세포로 도입하는 예에서, 면역 세포를 감염시킬 수 있고, 벡터를 보유하는 바이러스 입자는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있고, 이는 예를 들어, PCT 출원 번호 WO 1991/002805A2, WO 1998/009271 A1, 및 미국 특허 6,194,191에서 살펴볼 수 있다. 바이러스 입자를 세포 배양물 상청액으로부터 수거하고, 바이러스 입자를 면역 세포와 접촉시키기 이전에 단리 및/또는 정제할 수 있다.

[0163] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것을 코딩하는 RNA 분자를 종래 방법 (예컨대, 시험관내 전사)에 의해 제조할 수 있고, 공지된 방법 (예컨대, 문헌 [Rabinovich et al., Human Gene Therapy 17:1027-1035])을 통해 적합한 숙주 세포, 예컨대, 본원에 기술된 것 내로 도입시킬 수 있다. 하기 실시예에서 입증되는 바와 같이, mRNA 전기천공을 통해 T 림프구에서 본 개시내용의 키메라 수용체를 효과적으로 발현시킬 수 있다.

[0164] 숙주 세포 내로 본원에서 제공하는 키메라 수용체 중 임의의 것을 코딩하는 벡터, 또는 키메라 벡터를 코딩하는 핵산 (예컨대, RNA 분자)을 도입한 후, 키메라 수용체의 발현을 허용하는 조건하에서 세포를 배양한다. 키메라 수용체를 코딩하는 핵산이 조절가능한 프로모터에 의해 조절되는 예에서, 숙주 세포를 조절가능한 프로모터가 활성화되는 조건에서 배양한다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도가능한 프로모터이고, 면역 세포는 유도 분자의 존재하에서, 또는 유도 분자가 제조되는 조건하에서 배양된다. 키메라 수용체 발현 여부를 측정하는 것은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이며, 임의의 공지된 방법에 의해, 예를 들어, 정량적 역전사 효소 PCR (qRT-PCR)에 의한 키메라 수용체 코딩 mRNA의 검출에 의해, 또는 웨스턴 블롯팅, 형광 현미경법, 및 유세포 분석법을 비롯한 방법에 의한 키메라 수용체 단백질의 검출에 의해 평가될 수 있다. 대안적으로, 키메라 수용체 발현은 면역 세포의 대상체로의 투여 이후에 생체내에서 이루어질 수 있다.

[0165] 대안적으로, 본원에 개시된 면역 세포 중 임의의 것에서의 키메라 수용체 구축물의 발현은 키메라 수용체 구축물을 코딩하는 RNA 분자 도입에 의해 달성될 수 있다. 상기 RNA 분자는 시험관내 전사에 의해 또는 화학적 합성에 의해 제조될 수 있다. 이어서, RNA 분자를 예컨대, 전기천공에 의해 적합한 숙주 세포, 예컨대, 면역 세포 (예컨대, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, 또는 그의 임의 조합) 내로 도입할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Rabinovich et al., Human Gene Therapy, 17:1027-1035] 및 WO 2013/040557에 기술된 방법에 따라, RNA 분자를 합성할 수 있고, 숙주 면역 세포 내로 도입할 수 있다.

[0166] 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것을 발현하는 숙주 세포를 제조하는 방법은 또한 숙주 세포를 생체외에서 활성화시키는 것을 포함할 수 있다. 숙주 세포를 활성화시킨다는 것은 세포가 이펙터 기능 (예컨대, ADCC)을 수행할 수 있는 활성 상태로 숙주 세포를 자극시킨다는 것을 의미한다. 숙주 세포를 활성화시키는 방법은 키메라 수용체 발현을 위해 사용되는 숙주 세포의 유형에 의존할 것이다. 예를 들어, T 세포는 생체외에서 하나 이상의 분자, 예컨대, 항-CD3 항체, 항-CD28 항체, IL-2, 또는 피토헤모아글루티닌의 존재하에 활성화될 수 있다. 다른 예에서, NK 세포는 생체외에서 한 분자, 예컨대, 4-1BB 리간드, 항-4-1BB 항체, IL-15, 항-

IL-15 수용체 항체, IL-2, IL12, IL-21, 및 K562 세포의 존재하에 활성화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것을 발현하는 숙주 세포는 대상체에게로의 투여 이전에 생체외에서 활성화된다. 숙주 세포 활성화 여부를 측정하는 것은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이며, 세포 활성화와 연관된 하나 이상의 세포 표면 마커의 발현, 시토카인의 발현 또는 분비, 및 세포 형태를 평가하는 것을 포함할 수 있다.

[0167] 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것을 발현하는 숙주 세포를 제조하는 방법은 생체외에서 숙주 세포를 확장시키는 것을 포함할 수 있다. 숙주 세포를 확장시키는 것은 키메라 수용체를 발현하는 세포의 개수를 증가시키는 임의의 방법, 예를 들어, 숙주 세포가 증식할 수 있도록 허용하거나, 또는 숙주 세포를 자극시켜 증식할 수 있도록 하는 것을 포함할 수 있다. 숙주 세포의 확장을 자극하는 방법은 키메라 수용체의 발현을 위해 사용되는 숙주 세포의 유형에 의존할 것이며, 이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 키메라 수용체 중 임의의 것을 발현하는 숙주 세포는 대상체에게 투여하기 이전에 생체외에서 확장된다.

[0168] 일부 실시양태에서, 키메라 수용체를 발현하는 숙주 세포는 대상체에게 투여하기 이전에 생체외에서 확장되고, 활성화된다. 숙주 세포 활성화 및 확장을 사용하여 바이러스 벡터를 게놈 내로 통합시킬 수 있고, 본원에 기술된 바와 같은 키메라 수용체를 코딩하는 유전자를 발현시킬 수 있다. mRNA 전기천공을 사용할 경우, 비록 전기천공이 활성화된 세포에서 수행될 때에는 더욱 효과적일 수 있지만, 활성화 및/또는 확장이 필요하지 않을 수도 있다. 일부 경우에서, 키메라 수용체는 적합한 숙주 세포 (예컨대, 3-5일 동안)에서 일시적으로 발현된다. 일시적인 발현은, 잠재적인 독성이 있다면, 이로울 수 있으며, 가능한 부작용에 대한 임상 시험의 초기 단계에서 도움이 되어야 한다.

[0169] **IV. 면역요법에서 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포의 적용**

[0170] 본 개시내용의 예시적인 키메라 수용체는 T 림프구에 항체 의존성 세포 세포독성 (ADCC) 능력을 부여하고, NK 세포에서 ADCC를 증진시킨다. 수용체가 종양 세포에 결합된 항체 (또는 Fc 부위를 포함하는 또 다른 항-종양 분자)에 의해 결속되었을 때, 수용체는 T 세포 활성화, 지속적 증식, 및 항체 (또는 Fc 부위를 포함하는 상기 다른 항-종양 분자)에 의해 표적화된 암 세포에 대한 특이적인 세포독성을 유발한다. 하기 실시예 섹션에 개시되어 있는 바와 같이, 본 개시내용의 키메라 수용체를 포함하는 T 림프구는 B 세포 림프종, 유방암 및 위암, 신경모세포종 및 골육종 뿐만 아니라, 원발성 만성 림프구성 백혈병 (CLL)을 비롯한, 매우 다양한 종양 세포 유형에 대해 고도의 세포독성을 보였다. 세포독성은 전반적으로 표적 세포에 결합된 특이 항체의 존재에 의존하였고: 가용성 항체는 세포용해성 과립의 엑소사이토시스를 유도하지 않았고, 비특이적인 세포독성을 유발하지 않았다.

[0171] Ig의 Fc 부위에 대한 CD16의 친화성 정도가 ADCC의 중요한 결정 요인이며, 따라서, 항체 면역요법에 대한 임상 반응에 대해 중요한 결정 요인이 된다. Ig에 대한 결합 친화도가 높고, 우수한 ADCC를 매개하는 V158 다형성을 포함하는 CD16기 예로서 선택되었다. 비록 T 세포 증식 및 ADCC 유도에서 F158 수용체가 V158 수용체보다 효능이 더 낮지만, F158 수용체가 V158 수용체보다 생체내 독성이 더 낮을 수 있는 바, 이에 일부 임상적 환경에서는 유용할 수 있다.

[0172] 본 개시내용의 키메라 수용체는, 하나의 단일 수용체가 다종의 암 세포 유형에 대해 사용될 수 있도록 허용함으로써 T 세포 요법을 촉진시킨다. 이는 또한, 면역회피 기전이 종양에 의해 이용된다면, 궁극적으로 이로울 수 있는 전략법인, 다중 항원의 동시 표적화를 허용한다 (문헌 [Grupp et al., *N Engl J Med.* 2013]). 항체 투여의 간단한 중단으로 필요할 경우에는 언제나 항체 유도 세포독성은 중단될 수 있다. 본 개시내용의 키메라 수용체를 발현하는 T 세포가 오직 표적 세포에 결합된 항체에 의해서 활성화되기 때문에, 비결합 면역글로불린은 주입된 T 세포에 대하여 어떤 자극도 발휘하지 않아야 한다. 임의의 잠재적인 자가면역 반응성을 제한하기 위해 mRNA 전기천공을 사용하여 키메라 수용체를 일시적으로 발현시킴으로써 임상적 안전성을 추가로 증진시킬 수 있다.

[0173] 하기 실시예 섹션에 개시된 결과는, 생체외에서 활성화되고 확장되고, 본 개시내용의 키메라 수용체로 유전적으로 변형된 이후에 재주입된, 자가 T 세포의 주입은 ADCC를 유의적으로 증강시켜야 한다는 것을 제안한다. 조합된 CD3 ζ /4-1BB 신호전달 또한 T 세포 증식을 유발하기 때문에, 종양 부위에 활성화된 T 세포가 축적되어야 하고, 이는 그의 활성을 추가로 상승시킬 수 있다.

[0174] 따라서, 한 실시양태에서, 본 개시내용은 암의 항체 기반 면역요법의 효능 증진을 필요로 하는 대상체 내로 치

료학상 유효량의 T 림프구 또는 NK 세포를 도입하는 단계를 포함하고, 상기 T 림프구 또는 NK 세포는 본 개시내용의 키메라 수용체를 포함하며, 상기 대상체는 암 세포에 결합할 수 있고, 인간 CD16에 결합할 수 있는 인간화 Fc 부위를 가지는 항체로 치료받고 있는 중인 대상체인, 암의 항체 기반 면역요법의 효능 증진을 필요로 하는 대상체에서 암의 항체 기반 면역요법의 효능을 증진시키는 방법을 제공한다.

[0175] A. 면역 요법 효능 증진

[0176] 본원에 기술된 키메라 수용체 (코딩 핵산 또는 그를 포함하는 벡터)를 발현하는 숙주 세포 (예컨대, 면역 세포)는 대상체에서 ADCC를 증진시키는 데 및/또는 항체 기반 면역요법의 효능을 증진시키는 데 유용하다. 일부 실시양태에서, 대상체는 포유동물, 예컨대, 인간, 원숭이, 마우스, 토끼, 또는 가축 포유동물이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간 암 환자이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 본원에 기술된 치료학적 항체 중 임의의 것으로 치료받은 적이 있거나, 또는 치료받고 있는 중인 대상체이다.

[0177] 면역 세포를 제약상 허용되는 담체와 혼합하여 제약 조성물을 형성할 수 있고, 이 또한 본 개시내용의 범주 내에 포함된다.

[0178] 본원에 기술된 방법을 수행하기 위해, 본원에 기술된 키메라 수용체 구축물 중 임의의 것을 발현하는 면역 세포를 유효량으로 치료를 필요로 하는 대상체 내로 투여할 수 있다. 면역 세포는 대상체에 대해 자가 면역 세포일 수 있고, 즉, 면역 세포는 치료를 필요로 하는 대상체로부터 수득되고, 키메라 수용체 구축물의 발현을 위해 유전적으로 조작되고, 동일한 대상체로 투여된다. 자가 세포를 대상체에게 투여하면, 비-자가 세포를 투여한 경우와 비교하여 숙주 세포의 거부가 감소될 수 있다. 대안적으로, 숙주 세포는 동종이계 세포이고, 즉, 세포는 제1 대상체로부터 수득되고, 키메라 수용체 구축물의 발현을 위해 유전적으로 조작되고, 제1 대상체와는 다르지만, 같은 종인 제2 대상체에게 투여된다. 예를 들어, 동종이계 면역 세포는 인간 공여자로부터 유래될 수 있고, 공여자와 다른 인간 수용자에게 투여될 수 있다.

[0179] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 ADCC 활성을 적어도 20%, 예컨대, 50%, 80%, 100%, 2배, 5배, 10배, 20배, 50배, 100배 또는 그 초과만큼 증진시키는 효과적인 양으로 대상체에게 투여된다.

[0180] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 항체 기반 면역요법의 효능을 증진시키기 위해 치료학적 Fc-함유 치료제 (예컨대, 항체 또는 Fc 융합 분자, 예컨대, Fc 융합 단백질)와 함께 공동으로 사용된다. 항체 기반 면역요법은 면역요법이 대상체에서 유용한 것으로 간주되는 임의의 질환 또는 장애의 증상을 치료, 완화, 또는 감소시키는 데 사용된다. 상기 요법에서, 치료학적 항체는 암 세포에서 차별적으로 발현되는 (즉, 암이 아닌 세포 상에서는 발현되지 않거나, 또는 암이 아닌 세포에서는 더 낮은 수준으로 발현되는) 세포 표면 항원에 결합할 수 있다. 치료학적 항체가 결합하고, 항원 또는 표적 분자를 발현하는 세포가 ADCC의 대상이 되어야 한다는 것을 나타내는 것인 항원 또는 표적 분자의 예로는 제한 없이, CD17/L1-CAM, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD37, CD52, CD56, CD70, CD79b, CD138, CEA, DS6, EGFR, EGFR v III, ENPP3, FR, GD2, GPNMB, HER2, IL-13R α2, 메소텔린 (Mesothelin), MUC1, MUC16, 넥틴(Nectin)-4, PSMA, 및 SCL44A4를 포함한다.

[0181] 항체 기반 면역요법의 효능은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 평가될 수 있고, 이는 숙련된 전문 의료진에게 명백할 것이다. 예를 들어, 항체 기반 면역요법의 효능은 대상체의 생존 또는 대상체 또는 그의 조직 또는 샘플 중의 종양 또는 암 부하량에 의해 평가될 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 면역 세포 부재하에서의 효능과 비교하였을 때, 항체 기반 면역요법의 효능을 적어도 20%, 예컨대, 50%, 80%, 100%, 2배, 5배, 10배, 20배, 50배, 100배 또는 그 초과만큼 증진시키는 데 효과적인 양으로 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여된다.

[0182] 본원에 기술된 방법 중 임의의 것에서, 면역 세포, 예컨대, T 림프구 또는 NK 세포는 치료 대상이 되는 대상체로부터 단리된 자가 세포이다. 한 구체적인 실시양태에서, 대상체 내로의 재도입 이전에, 자가 면역 세포 (예컨대, T 림프구 또는 NK 세포)는 생체외에서 활성화되고/거나, 확장된다. 또 다른 실시양태에서, 면역 세포 (예컨대, T 림프구 또는 NK 세포)는 동종이계 세포이다.

[0183] 한 구체적인 실시양태에서, T 림프구는, 내인성 T 세포 수용체의 발현이 억제되거나, 제거되는 동종이계 T 림프구이다. 한 구체적인 실시양태에서, 대상체 내로의 도입 이전에, 동종이계 T 림프구는 생체외에서 활성화되고/거나, 확장된다. T 림프구는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해, 예컨대, 항-CD3/CD28, IL-2, 및/또는 피토헤모아글루티닌의 존재하에서 활성화될 수 있다.

[0184] NK 세포는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해, 예컨대, CD137 리간드 단백질, CD137 항체, IL-15 단백질, IL-15 수용체 항체, IL-2 단백질, IL-12 단백질, IL-21 단백질, 및 K562 세포주로부터 선

택되는 하나 이상의 작용제의 존재하에서 활성화될 수 있다. 예컨대, NK 세포를 확장시키는 데 유용한 방법에 관한 설명에 대해 미국 특허 번호 7,435,596 및 8,026,097을 참조할 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 방법에서 사용되는 NK 세포는 주 조직적합 복합체 I 및/또는 II 분자가 없거나, 또는 그를 불충분하게 발현하고, 막 결합 IL-15 및 4-1BB 리간드 (CD137L)를 발현하도록 유전적으로 변형된 세포에의 노출에 의해 우선적으로 확장될 수 있다. 상기 세포주로는 K562 [ATCC, CCL 243; Luzzio et al., *Blood* 45(3): 321-334 (1975); Klein et al., *Int. J. Cancer* 18: 421-431 (1976)], 및 윌름즈 종양 세포주 HFWT (Fehniger et al., *Int Rev Immunol* 20(3-4):503-534 (2001); Harada H, et al., *Exp Hematol* 32(7):614-621 (2004)), 자궁 내막 종양 세포주 HHUA, 흑색종 세포주 HMV-II, 간모세포종 세포주 HuH-6, 폐 소세포 암종 세포주 Lu-130 및 Lu-134-A, 신경모세포종 세포주 NB 19 및 N1369, 고환으로부터의 배아 암종 세포주 NEC 14, 자궁경부 암종 세포주 TCO-2, 및 골수-전이된 신경모세포종 세포주 TNB 1 [Harada, et al., *Jpn. J. Cancer Res* 93: 313-319 (2002)]을 포함하나, 반드시 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직하게, 사용되는 세포주, 예컨대, K562 및 HFWT 세포주는 MHC I 및 II 분자, 둘 모두가 없거나, 또는 그를 불충분하게 발현한다. 세포주 대신 고체 지지체가 사용될 수 있다. 상기 지지체는 바람직하게는 그의 표면 상에 NK 세포에 결합할 수 있고, 1차 활성화 이벤트 및/또는 증식성 반응을 유도할 수 있거나, 또는 상기 효과를 가진 분자에 결합할 수 있는 적어도 하나의 분자를 부착시키고 있어야 하며, 이로써, 스캐폴드로서의 작용을 할 수 있다. 지지체는 그의 표면에 CD137 리간드 단백질, CD137 항체, IL-15 단백질 또는 IL-15 수용체 항체를 부착시킬 수 있다. 바람직하게, 지지체는 그의 표면에 결합된 IL-15 수용체 항체 및 CD137 항체를 가질 것이다.

[0185] 상기 방법의 한 실시양태에서, T 림프구 또는 NK 세포의 대상체로의 도입 (또는 재도입) 후, 이어서, 대상체에게 치료학적 유효량의 IL-2를 투여한다.

[0186] 본 개시내용의 키메라 수용체는 제한 없이, 키메라 수용체 중 Fc 결합체에 결합하는 Fc 부위를 포함하는 특이 항체가 그에 대하여 존재하거나, 생성될 수 있는 것인, 암종, 림프종, 육종, 모세포종, 및 백혈병을 비롯한, 임의의 암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 개시내용의 키메라 수용체에 의해 치료될 수 있는 암에 대한 구체적인 비제한적인 예로는 예컨대, B 세포 기원의 암 (예컨대, B 계통 급성 림프모구성 백혈병, B 세포 만성 림프구성 백혈병 및 B 세포 비호지킨 림프종), 유방암, 위암, 신경모세포종, 및 골육종을 포함한다.

[0187] 본원에 개시된 방법을 수행하기 위해, 유효량의, 키메라 수용체, Fc-함유 치료제 (예컨대, Fc-함유 치료학적 단백질, 예컨대, Fc 융합 단백질 및 치료학적 항체)를 발현하는 면역 세포, 또는 그의 구성물을 치료를 필요로 하는 대상체 (예컨대, 인간 암 환자)에게 적합한 경로를 통해, 예컨대, 정맥내 투여를 통해 투여할 수 있다. 키메라 수용체, Fc-함유 치료제를 발현하는 면역 세포, 또는 그의 구성물 중 임의의 것을 유효량으로 대상체에게 투여할 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 유효량이란, 투여시 대상체에게 치료학적 효과를 부여하는 각 작용제 (예컨대, 키메라 수용체, Fc-함유 치료제를 발현하는 숙주 세포, 또는 그의 구성물)의 양을 의미한다. 일정량의, 본원에 기술된 세포 또는 구성물이 치료학적 효과를 달성하였는지 여부를 측정하는 것은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자가 이해하는 바와 같이, 유효량은 치료되는 특정 병태, 병태의 중증도, 연령, 신체 상태, 크기, 성별 및 체중을 비롯한 개체 환자 파라미터, 치료 지속 기간, (존재할 경우) 공동 요법의 성질, 특정 투여 경로 및 건강요원의 정보 및 전문 지식 내의 유사 인자에 따라 달라진다. 일부 실시양태에서, 유효량은 대상체에서 임의의 질환 또는 장애를 완화시키거나, 경감시키거나, 호전시키거나, 개선시키거나, 증상을 감소시키거나, 또는 그의 진행을 지연시킨다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0188] 일부 실시양태에서, 대상체는 인간 암 환자이다. 예를 들어, 대상체는 암종, 림프종, 육종, 모세포종, 또는 백혈병을 앓는 인간 환자일 수 있다. 본원에 개시된 세포 및 구성물 투여가 적합할 수 있는 암의 예로는 예를 들어, 림프종, 유방암, 위암, 신경모세포종, 골육종, 폐암, 피부암, 전립선암, 결장암, 신장 세포 암종, 난소암, 횡문근육종, 백혈병, 중피종, 췌장암, 두부경부암, 망막모세포종, 신경교종, 교모세포종, 및 갑상선암을 포함한다.

[0189] 본 개시내용에 따라, 환자는 체중 1 kg당 약 10^5 내지 10^{10} 개 이상의 세포 (세포/kg)의 범위로, 본 개시내용의 키메라 수용체를 포함하는 면역 세포, 예컨대, T 림프구 또는 NK 세포를 치료학적 유효 용량으로 주입함으로써 치료될 수 있다. 주입은 원하는 반응을 달성할 때까지 환자가 내성을 떨 수 있을 만큼 자주 및 다회에 걸쳐 반복될 수 있다. 적절한 주입 용량 및 스케줄은 환자마다 달라지겠지만, 이는 특정 환자에 대한 주치의에 의해 결정될 수 있다. 전형적으로, 대략 10^6 개의 세포/Kg인 초기 용량으로 주입되고, 10^8 개 이상의 세포/Kg으로 단계적으로 증가하게 될 것이다. IL-2는 주입 후, 주입된 세포를 확장시키기 위해 공동 투여될 수 있다. IL-2의 양

은 체표면적 1 m²당 약 1-5 x 10⁶ 국제 단위일 수 있다.

- [0190] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 키메라 수용체 중 임의의 것을 발현하는 면역 세포는, Fc-함유 치료제 (예컨대, Fc-융합 단백질 또는 치료학적 항체)로 치료받은 적이 있거나, 또는 치료받고 있는 중인 대상체에게 투여될 수 있다. 본원에 개시된 키메라 수용체 중 어느 하나를 발현하는 면역 세포는 Fc-함유 치료제와 함께 공동 투여될 수 있다. 예를 들어, 면역 세포는 치료학적 항체와 함께 동시에 인간 대상체에게 투여될 수 있다. 대안적으로, 면역 세포는 항체 기반 면역요법 과정 동안 인간 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 예에서, 면역 세포 및 치료학적 항체는 적어도 4시간 간격을 두고, 예컨대, 적어도 12시간 간격을 두고, 적어도 1일 간격을 두고, 적어도 3일 간격을 두고, 적어도 1주 간격을 두고, 적어도 2주 간격을 두고, 또는 적어도 1개월 간격을 두고 인간 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0191] 치료학적 Fc-함유 치료학적 단백질의 예로는 제한 없이, 아달리무맙, 아도-트라스투주맙 엠탄신, 알렘투주맙, 바실릭시맙, 베바시주맙, 벨리무맙, 브렌투시맙, 카나키누맙, 세톡시맙, 다클리주맙, 데노수맙, 디누톡시맙, 에쿨리주맙, 에팔리주맙, 에프라투주맙, 켄투주맙, 골리무맙, 인플릭시맙, 이필리무맙, 라베투주맙, 나탈리주맙, 오비누투주맙, 오파투주맙, 오말리주맙, 팔리비주맙, 파니투주맙, 퍼투주맙, 라무시투주맙, 리툽티맙, 토실리주맙, 트라투주맙, 우스테키누맙, 및 베돌리주맙을 포함한다.
- [0192] 사용되는 Fc-함유 치료제의 적절한 투여량은 치료하고자 하는 암의 유형, 질환의 중증도 및 진행 과정, 이전 요법, 환자의 임상적 병력 및 항체에 대한 반응, 및 주치의의 재량에 의존할 것이다. 항체는 1회 또는 연속되는 몇회에 걸친 치료로 환자에게 투여될 수 있다. 본 개시내용의 요법의 진행 과정은 종래 기술 및 검정법에 의해 쉽게 모니터링될 수 있다.
- [0193] Fc-함유 치료제의 투여는, 전신 투여 뿐만 아니라, 질환 부위로의 (예컨대, 원발성 종양으로의) 직접적인 투여를 비롯한, 임의의 적합한 경로에 의해 수행될 수 있다.
- [0194] B. 조합 치료
- [0195] 본 개시내용에 기술된 조성물 및 방법은 다른 유형의 암 요법, 예컨대, 예컨대, 화학요법, 수술, 방사선 조사, 유전자 요법 등과 함께 사용될 수 있다. 상기 요법은 본 개시내용에 따른 면역요법과 동시에 또는 순차적으로 (임의 순서로) 투여될 수 있다.
- [0196] 추가의 치료제와 함께 공동 투여될 때, 각 작용제에 대해 적합한 치료학적 유효 투여량은 상가 작용 또는 시너지에 기인하여 감량될 수 있다.
- [0197] 본 개시내용의 치료는 다른 면역조절 치료, 예컨대, 예컨대, 치료학적 백신 (제한하는 것은 아니지만, GVAX, DC 기반 백신 등 포함), 체크포인트 억제제 (제한하는 것은 아니지만, CTLA4, PD1, LAG3, TIM3 등을 차단하는 작용제) 또는 활성화제 (제한하는 것은 아니지만, 41BB, OX40 등을 증진시키는 작용제)와 함께 조합될 수 있다.
- [0198] 본 개시내용의 면역요법과 함께 조합하는 데 유용한 다른 치료제의 비제한적인 예로는 (i) 항-혈관신생제 (예컨대, TNF-470, 혈소판 인자 4, 트롬보스폰딘-1, 메탈로프로테아제의 조직 억제제 (TIMP1 및 TIMP2), 프로락틴 (16-Kd 단편), 안지오테닌 (플라스미노겐의 38-Kd 단편), 엔도스타틴, bFGF 가용성 수용체, 형질전환 성장 인자 베타, 인터페론 알파, 가용성 KDR 및 FLT-1 수용체, 태반 프롤리페-관련 단백질 뿐만 아니라, 문헌 [Carmeliet and Jain (2000)]에 열거되어 있는 것; (ii) VEGF 길항제 또는 VEGF 수용체 길항제, 예컨대, 항-VEGF 항체, VEGF 변이체, 가용성 VEGF 수용체 단편, VEGF 또는 VEGFR을 차단할 수 있는 압타머, 중화 항-VEGFR 항체, VEGFR 티로신 키나제의 억제제 및 그의 임의 조합; 및 (iii) 화학요법 화합물, 예컨대, 예컨대, 피리미딘 유사체 (5-플루오로우라실, 플록수리딘, 카페시타빈, 겐시타빈 및 시타라빈), 퓨린 유사체, 플레이트 길항제 및 관련 억제제 (메르캅토포린, 티오구아닌, 펜토스타틴 및 2-클로로데옥시아데노신 (클라드리빈)); 항증식제/유사분열 억제제, 예컨대, 천연 생성물, 예컨대, 빈카 알칼로이드 (빈블라스틴, 빈크리스틴, 및 비노렐빈), 미세관 장애 물질, 예컨대, 탁산 (파클리탁셀, 도세탁셀), 빈크리스틴, 빈블라스틴, 노코다졸, 에포틸론 및 나벨빈, 에피도포도필로톡신 (에토포시드, 테니포시드), DNA 손상제 (악티노마이신, 암사크린, 안트라시클린, 블레오마이신, 부술판, 캄포테신, 카르보플라틴, 클로람부실, 시스플라틴, 시클로포스파미드, 시톡산, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 헥사메틸렌다이아민옥살리플라틴, 이포스파미드, 멜팔란, 메클로레타민, 미토마이신, 미토크산트론, 니트로소우레아, 플리카마이신, 프로카르바진, 탁솔, 탁소테레, 테니포시드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 에토포시드 (VP16)); 항생제, 예컨대, 닥티노마이신 (악티노마이신 D), 다우노루비신, 독소루비신 (아드리아마이신), 이다루비신, 안트라시클린, 미토크산트론, 블레오마이신, 플리카마이신 (미트라마이신) 및 미토마이신; 효소 (L-아스파라긴을 체계적으로 대사시키고, 그 자신의 아스파라긴을 합성할 수 있는

능력이 없는 세포를 제거하는 L-아스파라기나제); 항혈소판제; 항증식성/유사분열 억제성 알킬화제, 예컨대, 질소 머스타드 (메클로레타민, 시클로포스파미드 및 유사체, 멜팔란, 클로람부실), 에틸렌이민 및 메틸멜라민 (헥사메틸멜라민 및 티오테파), 알킬 술포네이트-부술포, 니트로소우레아 (카르무스틴 (BCNU) 및 유사체, 스트렙토조신), 트라젠-다카르바지닌 (DTIC); 항증식성/유사분열 억제성 항대사물질, 예컨대, 폴산 유사체 (메토틱세이트); 백금 배위 착물 (시스플라틴, 카르보플라틴), 프로카르바진, 히드록시우레아, 미토탄, 아미노글루테티미드; 호르몬, 호르몬 유사체 (에스트로겐, 타목시펜, 고세렐린, 비칼루타미드, 닐루타미드) 및 아로마타제 억제제 (레트로졸, 아나스트로졸); 항응고제 (헤파린, 합성 헤파린 염, 및 트롬빈의 다른 억제제); 섬유소용해 물질 (예컨대, 조직 플라스미노겐 활성화제, 스트렙토키나제 및 유로키나제), 아스피린, 디피리다몰, 티클로피딘, 클로피도그렐, 압시시맙; 세포이동 억제제; 분비억제제 (브레벨린); 면역억제제 (시클로스포린, 타크롤리무스 (FK-506), 시로리무스 (라파마이신), 아자티오프린, 미코페놀레이트 모페틸); 항-혈관신생 화합물 (예컨대, TNP-470, 게니스테인, 베바시주맙) 및 성장 인자 억제제 (예컨대, 섬유모세포 증식 인자 (FGF) 억제제); 안지오텐신 수용체 차단제; 산화질소 공여체; 안티센스 올리고뉴클레오타이드; 항체 (트라스투주맙); 세포 주기 억제제 및 분화 유도제 (트레티노인); mTOR 억제제, 토포이소머라제 억제제 (독소루비신 (아드리아마이신), 암사크린, 캄포테신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 에니포시드, 에피루비신, 에토포시드, 이다루비신 및 미토크산트론, 토포테칸, 이리노테칸), 코르티코스테로이드제 (코르티손, 텍사메타손, 히드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니손, 및 프레드니솔론); 성장 인자 신호 전달 키나제 억제제; 미토콘드리아 기능이상 유도제 및 카스파제 활성화제; 및 크로마틴 장애 물질을 포함한다.

[0199] 추가의 유용한 작용제에 관한 예에 대해서는 또한 문헌 [Physician's Desk Reference, 59.sup.th edition, (2005), Thomson P D R, Montvale N.J.]; [Gennaro et al., Eds. Remington's The Science and Practice of Pharmacy 20.sup.th edition, (2000), Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore Md.]; [Braunwald et al., Eds. Harrison's Principles of Internal Medicine, 15.sup.th edition, (2001), McGraw Hill, NY]; [Berkow et al., Eds. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, (1992), Merck Research Laboratories, Rahway N.J.]를 참조할 수 있다.

[0200] V. 치료학적 용도의 키트

[0201] 본 개시내용은 또한 항체 의존성 세포-매개 세포독성을 증진시키고, 항체 기반 면역요법을 증진시키는 데 키메라 수용체를 사용하기 위한 키트를 제공한다. 상기 키트는 임의의 핵산 또는 숙주 세포 (예컨대, 면역 세포, 예컨대, 본원에 기술된 것), 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제1 제약 조성물, 및 치료학적 항체 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제2 제약 조성물을 포함하는 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다.

[0202] 일부 실시양태에서, 키트는 본원에 기술된 방법 중 임의의 것에서 사용을 위한 지침서를 포함할 수 있다. 포함된 지침서는 대상체에서 의도하는 활성화, 예컨대, ADCC 활성화 증진 및/또는 항체 기반 면역요법의 효능 증진을 달성하기 위해 제1 및 제2 제약 조성물을 대상체에게 투여하는 것에 관한 설명을 포함할 수 있다. 키트는 대상체가 치료를 필요로 하는지 여부를 확인하는 것에 기초하여 치료에 적합한 대상체를 선택하는 것에 관한 설명서를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 지침서는 치료를 필요로 하는 대상체에게 제1 및 제2 제약 조성물을 투여하는 것에 관한 설명서를 포함한다.

[0203] 본원에 기술된 키메라 수용체 및 제1 및 제2 제약 조성물의 용도에 관한 지침서는 일반적으로 의도하는 치료를 위한 투여량, 투약 스케줄, 및 투여 경로에 관한 정보를 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지 (예컨대, 다중 투약 패키지) 또는 서브유닛 용량에 대한 것일 수 있다. 본 개시내용의 키트에서 제공되는 지침서는 전형적으로 라벨 또는 패키지 인서트 상의 서면 지침서이다. 라벨 또는 패키지 인서트에는 제약 조성물이 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는 데, 발병을 지연시키는 데, 및/또는 완화시키는 데 사용된다고 명시되어 있다.

[0204] 본원에서 제공하는 키트는 적합한 패키징 안에 있다. 적합한 패키징은 바이알, 병, 자, 가용성 패키징 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 특정 장치, 예컨대, 흡입기, 비강 투여용 장치, 또는 주입 장치와 함께 조합되어 사용하기 위한 패키지 또한 고려된다. 키트는 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사용 바늘에 의해 관통가능한 마개가 있는 바이알 또는 정맥내 액체 백일 수 있다). 용기는 또한 멸균 접근 포트를 가질 수 있다. 제약 조성물 중의 적어도 하나의 활성화제는 본원에 기술된 키메라 수용체이다.

[0205] 키트는 임의적으로 추가 성분, 예컨대, 완충제 및 해석 정보를 제공할 수 있다. 일반적으로, 키트는 용기, 및 용기 상 또는 그와 결합되어 있는 라벨 또는 패키지 인서트(들)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 상기 기술된 키트의 내용물을 포함하는 제조 물품을 제공한다.

[0206] **일반 기술**

[0207] 달리 명시되지 않는 한, 본 개시내용의 실시는, 관련 기술분야에 포함되어 있는 것인, 분자생물학 (재조합 기법 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 종래 기술을 사용할 것이다. 상기 기술은 예컨대, 문헌 [*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, second edition (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait, ed. 1984)]; [*Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J. E. Cellis, ed., 1989) Academic Press]; [*Animal Cell Culture* (R. I. Freshney, ed. 1987)]; [*Introuction to Cell and Tissue Culture* (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press]; [*Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds. 1993-8) J. Wiley and Sons; *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.)]; [*Handbook of Experimental Immunology* (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.): *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987)]; [*Current Protocols in Molecular Biology* (F. M. Ausubel, et al. eds. 1987)]; [*PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis, et al., eds. 1994)]; [*Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan et al., eds., 1991)]; [*Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999)]; [*Immunobiology* (C. A. Janeway and P. Travers, 1997)]; [*Antibodies* (P. Finch, 1997)]; [*Antibodies: a practice approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)]; [*Monoclonal antibodies: a practical approach* (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)]; [*Using antibodies: a laboratory manual* (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)]; [*The Antibodies* (M. Zanetti and J. D. Capra, eds. Harwood Academic Publishers, 1995)]; [*DNA Cloning: A practical Approach*, Volumes I and II (D.N. Glover ed. 1985)]; [*Nucleic Acid Hybridization* (B.D. Hames & S.J. Higgins eds.(1985»)]; [*Transcription and Translation* (B.D. Hames & S.J. Higgins, eds. (1984»)]; [*Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1986»)]; [*Immobilized Cells and Enzymes* (IRL Press, (1986»)]; 및 [B. Perbal, *A practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F.M. Ausubel *et al.* (eds.)와 같은 문헌에 상세하게 설명되어 있다.

[0208] 추가의 상세한 설명 없이도, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 상기 설명에 기초하여 본 개시내용을 충분히 이용할 수 있을 것으로 판단된다. 그러므로, 하기의 구체적인 실시양태는 어떠한 것이든 어느 방식으로 본 개시내용의 나머지 부분을 제한하는 것이 아니라, 단지 예시적인 것으로 해석되어야 한다. 본원에서 인용된 모든 공개 문헌은 본원에서 언급된 목적 또는 주제를 위한 참조로 포함된다.

[0209] **실시예**

[0210] 실시예 1. CD16 신호전달 수용체를 발현하는 T 림프구는 항체 의존성 암 세포 사멸을 발휘한다.

[0211] **물질 및 방법**

[0212] **세포**

[0213] 인간 B 계통 림프종 세포주 다우디 및 라모스, T 세포 급성 림프모구성 백혈병 세포주 저켓, 및 신경모세포종 세포주 CHLA-255, NB1691 및 SK-N-SH는 세인트 주드 칠드런즈 리서치 호스피탈(St. Jude Children's Research Hospital)에서 이용가능하였다. 유방암종 세포주 MCF-7 (ATCC HTB-22) 및 SK-BR-3 (ATCC HTB-30), 및 골육종 세포주 U-2 OS (ATCC HTB-96)는 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection: ATCC; 미국 메릴랜드주 록빌)으로부터 입수하였고; 위암종 세포주 MKN7은 내셔널 인스티튜트 오브 바이오메디컬 이노베이션(National Institute of Biomedical Innovation: 일본 오사카)으로부터 입수하였다. 다우디, CHLA-255, NB1691, SK-N-SH, SK-BR-3, MCF-7, U-2 OS 및 MKN7에도 또한 반딧불이 루시페라제 유전자를 함유하는 뮤린 줄기 세포 바이러스(MSCV)-내부 리보솜 진입 부위(IRES)-녹색 형광 단백질(GFP) 레트로바이러스 벡터를 형질도입하였다.³⁴ FACS아리아(FACSaria) 세포 분류기(BD 바이오사이언시스(BD Biosciences: 미국 캘리포니아주 산호세))를 이용하여 그의 GFP 발현에 대해 형질도입된 세포를 선별하였다. 싱가포르 국립대 병원(Singapore's National University Hospital)을 관리하는 영역별 윤리 위원회(Domain Specific Ethics Board)로부터 사전 동의 및 승인을 받은 후, 새로 진단을 받고, 치료받지 않은 B-만성 림프구성 백혈병(CLL) 환자로부터 말초 혈액 또는 골수 샘플을 수득하였다.

[0214] 건강한 성인 공여자로부터의 혈소판 기증물의 확인되지 않은 부산물로부터 말초 혈액 샘플을 수득하였다. 어큐-프렙 휴먼 림포사이트 셀 세퍼레이션 미디어(Accu-Prep Human Lymphocytes Cell Separation Media) (어큐레이트 케미컬 & 사이언티픽 코퍼레이션(Accurate Chemical & Scientific Corp.: 미국 뉴욕주 웨스트버리)) 상에서

원심분리하여 단핵 세포를 농축시키고, 10% 우태아 혈청 (FBS), 항생제, 100 IU 인터루킨 (IL)-2를 포함하는 RPMI-1640 (로슈(Roche: 독일 만하임)) 중에서 항-CD3/CD28 비드 (인비트로젠(Invitrogen: 미국 캘리포니아주 칼즈배드))와 함께 3일 동안 배양하였다. 4일째, CD14, CD16, CD19, CD36, CD56, CD123 및 CD235a 항체 및 자기 비드 (범용 T 세포 단리용 키트 II(Pan T Cell Isolation Kit II; 밀테니 바이오테크(Miltenyi Biotec: 독일 베르기슈 글라트바흐)))의 혼합물을 이용하여 음성 선별에 의해 T 세포를 정제하였다 (순도, >98%). 정제된 T 세포를 상기 배지에서 유지시켰고, 이틀마다 100 IU IL-2를 첨가하였다.

[0215] 플라스미드, 바이러스 제조 및 유전자 형질도입

[0216] pMSCV-IRES-GFP, pEQ-PAM3(-E), 및 pRDF를 세인트 주드 칠드런즈 리서치 호스피탈 벡터 디벨롭먼트 앤드 프로덕션 웨어드 리소스(Vector Development and Production Shared Resource: 미국 테네시주 멤피스)로부터 입수하였다.¹⁰ FCRG3A cDNA는 오리진(Origene: 미국 메릴랜드주 록빌)으로부터 입수하였고, 그의 V158F 변이체는, 프라이머 "F" CTCTGCAGGGGCTTGTGGGAGTAAAAATGTGTC (서열식별번호: 73) 및 "R" GACACATTTTACTCCCAACAAGCCCCCTGCAGAAG (서열식별번호: 74)를 사용하여 PCR에 의해 부위 지정 돌연변이유발법을 사용하여 생성하였다. CD8 α 힌지 및 막횡단 도메인 (서열식별번호: 66), 및 4-1BB (서열식별번호: 67) 및 CD3 ζ (서열식별번호: 68)의 세포내 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 앞서 제조된 항-CD19-41BB-CD3 ζ cDNA로부터 서브클로닝하였다 (문헌 [Imai et al., 2004]). PCR에 의해 연장부를 오버랩핑하여 스플라이싱을 사용하여 상기 분자를 어셈블리하였다. 구축물 ("CD16F-BB- ζ " 및 "CD16V-BB- ζ ") 및 발현 카세트를 MSCV-IRES-GFP 벡터의 EcoRI 및 MluI 부위로 서브클로닝하였다.

[0217] RD114-위형 레트로바이러스를 생성하기 위해, fuGENE 6 또는 X-tremeGENE 9 (로슈: 미국 인디애나주 인디애나폴리스)를 사용하여 3.5 μ g의 CD16V-BB- ζ 를 코딩하는 cDNA, 3.5 μ g의 pEQ-PAM3(-E), 및 3 μ g의 pRDF로 3×10^6 개의 293T 세포를 형질감염시켰다 (문헌 [Imai et al., 2004]). 24시간째 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640으로 배지를 교체한 후, 48-96시간 경과 후 레트로바이러스를 함유하는 배지를 수거하고, 레트로벡틴 (RetroNectin) (다카라(TakaRa: 일본 오츠))으로 코팅된 폴리프로필렌 튜브에 첨가하고, 10 min 동안 1400 g로 원심분리하고 37°C에서 6시간 동안 인큐베이션시켰다. 추가로 원심분리하고, 상청액을 제거한 후, T 세포 (1×10^5 개)를 튜브에 첨가하고, 37°C에서 24시간 동안 방치하였다. 이어서, 실험 시점이 형질도입 후 7-21일이 경과할 때까지, FBS, 항생제 및 100 IU/mL IL-2를 포함하는 RPMI-1640 중에서 세포를 유지시켰다.

[0218] R-피코에리트린 접합된 항-인간 CD16 (클론 B73.1, BD 바이오사이언시스 파르민젠(BD Biosciences Pharmingen: 미국 캘리포니아주 샌디에고))을 사용하여 유세포 분석법에 의해 CD16의 표면 발현을 분석하였다. 웨스턴 블롯을 위해, 1% 프로테아제 억제제 콕테일 (시그마(Sigma)) 및 1% 포스파타제 억제제 콕테일 2 (시그마)를 함유하는 셀라이트크 M(Cellytic M) 용해 완충제 (시그마: 미국 미주리주 세인트 루이스) 중에서 2×10^7 개의 T 세포를 용해시켰다. 원심분리 후, 용해물 상청액을 환원 완충제 (인비트로젠)와 함께, 또는 그의 부재하에서 동량의 LDS 완충제 (인비트로젠: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)와 함께 비등시키고, NuPAGE 노백스 12% 비스-트리스 겔 (NuPAGE Novex 12% Bis-Tris Gel) (인비트로젠)에 의해 분리시켰다. 단백질을 폴리비닐리덴 플루오라이드 (PVDF) 막으로 옮기고, 이를 마우스 항-인간 CD3 ζ (클론 8D3; BD e바이오사이언스 파르민젠(BD eBioscience Pharmingen))와, 및 염소 항-마우스 IgG 호스래디시 퍼옥시다제-접합된 2차 항체 (셀 시그널링 테크놀로지(Cell Signaling Technology: 미국 매사추세츠주 댄버스))와 함께 인큐베이션시켰다. 항체 결합은 아마삼 ECL 프라임(Amersham ECL Prime) 검출 시약 (GE 헬스케어(GE Healthcare))을 사용하여 밝혀 내었다.

[0219] mRNA 전기천공

[0220] pVAX1 벡터 (인비트로젠: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)를 시험관내 mRNA 전사를 위한 주형으로서 사용하였다. CD16V-BB- ζ cDNA를 pVAX1의 EcoRI 및 XbaI로 서브클로닝하였다. T7 m스크립트 mRNA(T7 mScript mRNA) 제조 시스템 (셀스크립트(CellScript: 미국 위스콘신주 매디슨))을 사용하여 상응하는 mRNA를 시험관내에서 전사시켰다 (문헌 [Shimasaki et al., *Cytotherapy*. 2012;14(7):830-40]).

[0221] 전기천공을 위해, 아막사 뉴클레오펙터(Amaxa Nucleofector) (론자(Lonza: 미국 메릴랜드주 워커스빌))를 사용하였다; 밤새도록 200 IU/mL IL-2로 활성화된 1×10^7 개의 정제된 T 세포를 셀 라인 뉴클레오펙터 키트 V(Cell Line Nucleofector Kit V) (론자) 중에서 200 μ g/mL mRNA와 혼합하고, 이를 프로세싱 챔버로 옮기고, 프로그램 X-001을 사용하여 형질감염시켰다. 전기천공 직후, 세포를 프로세싱 챔버로부터 24 웰 플레이트로 옮기고, FBS, 항생제 및 100 IU/mL IL-2를 포함하는 RPMI-1640 (로슈: 독일 만하임) 중에서 배양하였다. 또한, 문헌

[Shimasaki et al., *Cytotherapy*, 2012, 1-11]을 참조할 수 있다.

[0222] 항체 결합, 세포 집합 및 세포 증식 검정법

[0223] 키메라 수용체의 항체 결합 능력을 측정하기 위해, 키메라 수용체 또는 GFP만 함유하는 벡터가 형질도입된 T 림프구 (5×10^5 개)를 리톡시맙 (리톡산, 로슈; $0.1-1 \mu\text{g/mL}$), 트라스투주맙 (헤르셉틴(Herceptin); 로슈; $0.1-1 \mu\text{g/mL}$) 및/또는 정제된 인간 IgG (R&D 시스템즈(R&D Systems: 미국 미네소타주 미니애폴리스); $0.1-1 \mu\text{g/mL}$)와 함께 4°C 에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 포스페이트 완충처리된 염수 (PBS)로 2회에 걸쳐 세척한 후, 세포를 염소 항-인간 IgG-PE (써던 바이오테크놀로지 어소시에이츠(Southern Biotechnology Associates: 미국 앨라배마주 버밍엄))와 함께 실온에서 10분 동안 인큐베이션시키고, 어큐리 C6(Accuri C6) 유세포 분석기 (BD 바이오사이언시스)를 사용하여 세포 염색을 측정하였다.

[0224] 수용체와의 항체 결합이 세포 응집을 촉진시켰는지 여부를 측정하기 위해, CD20 양성 다우디 세포를 셀트레이스(CellTrace) 칼세인 레드-오렌지 AM (인비트로젠)으로 표지하고, 리톡시맙 ($0.1 \mu\text{g/mL}$)과 함께 4°C 에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. PBS 중에서 2회에 걸쳐 세척한 후, 저각 세포를 포함하는 세포를 37°C 에서 60분 동안 96 등근 바닥 플레이트 (코스타(Costar: 미국 뉴욕주 코닝))에서 1:1 E:T 비율로 키메라 수용체로 형질도입하거나, 또는 모의-형질도입시켰다. 이중 세포 응집체 (칼세인 AM-GFP 이중 양성)를 형성하는 세포의 비율을 유세포 분석법에 의해 측정하였다.

[0225] 세포 증식을 측정하기 위해, 키메라 수용체가 형질도입되거나, 또는 모의-형질도입된 1×10^6 개의 T 세포를 FBS, 항생제 및 50 IU/mL IL-2를 포함하는 RPMI-1640 중 24 웰 플레이트 (코스타: 미국 뉴욕주 코닝)의 웰에 놓았다. 다우디 세포를 스트렉(Streck) 세포 보존제 (스트렉 라보라토리즈(Streck Laboratories: 미국 네브래스카주 오마하))로 처리하여 증식을 정지시키고, 리톡시맙 ($0.1 \mu\text{g/mL}$)과 함께 4°C 에서 30 min 동안 표지하였다. 이를 0, 7, 14 및 21일째 T 세포와 함께 1:1 비율로 웰에 첨가하였다. 배양 후 생존가능한 T 세포의 개수 n 을 유세포 분석법에 의해 측정하였다.

[0226] CD107 탈파립화 및 세포독성 검정법

[0227] CD16 교차 결합이 용해성 파립의 엑소사이토시스를 유발하였는지 여부를 측정하기 위해, 키메라 수용체- 및 모의 형질도입된 T 세포 (1×10^5 개)를 리톡시맙으로 코팅된 96 웰 평평한 바닥 플레이트의 각 웰 내에 놓고, 37°C 에서 4시간 동안 배양하였다. 다른 실험에서는 T 세포를, 리톡시맙과 미리 인큐베이션된 다우디 세포와 함께 공동 배양하였다. 피코에리트린 (BD 바이오사이언시스)에 접합된 항-인간 CD107a 항체를 배양 시작 시점에 첨가하고, 1시간 후, 골지스톱(GolgiStop) ($0.15 \mu\text{L}$; BD 바이오사이언시스)을 첨가하였다. CD107a 양성 T 세포를 유세포 분석법에 의해 분석하였다.

[0228] 세포독성을 시험하기 위해, 표적 세포를 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640 중에 현탁시키고, 칼세인 AM (인비트로젠)으로 표지하고, 96 웰 등근 바닥 플레이트 (코스타)에 플레이트하였다. T 세포를 결과부에 명시되어 있는 바와 같이 다양한 E:T 비율로 첨가하고, 항체 리톡시맙 (리톡산, 로슈), 트라스투주맙 (헤르셉틴, 로슈), 또는 hu14.18K322A (세인트 주드 칠드런즈 GMP(St Jude Children's GMP: 미국 테네시주 멤피스; $1 \mu\text{g/mL}$ 에서)의 제임스 앨레이(James Allay) 박사로부터 입수)와 함께, 또는 그의 부재하에서 표적 세포와 함께 4시간 동안 공동 배양하였다. 배양 종료시, 세포를 수집하고, 같은 부피의 PBS 중에 재현탁시키고, 프로피디움 아이오다이드를 첨가하였다. 어큐리 C6 유세포 분석기를 사용하여 생존가능한 표적 세포 (칼세인 AM-양성, 프로피디움-아이오다이드 음성)의 개수를 계수하였다.³⁴ 부착성 세포주의 경우, 루시페라제-표지된 표적 세포를 사용하여 세포독성을 시험하였다. 부착성 세포주 NB1691, CHLA-255, SK-BR-3, MCF-7, U-2 OS 및 MKN7에 대한 세포독성을 측정하기 위해, 그의 루시페라제-표지된 유도체를 사용하였다. 적어도 4시간 동안 플레이트한 후, 상기 기술된 바와 같이 T 세포를 첨가하였다. 4시간 공동 배양한 후, 프로메가 브라이트-글로(Promega Bright-Glo) 루시페라제 시약 (프로메가: 미국 위스콘신주 매디슨)을 각 웰에 첨가하였고; 5분 후, 플레이트 판독기 바이오테크 FLx800(Biotek FLx800) (바이오테크: 미국 애리조나주 투손)을 사용하여 발광을 측정하고, Gen5 2.0 데이터 애널리시스 소프트웨어(Gen5 2.0 Data Analysis Software)를 사용하여 분석하였다.

[0229] 이중이식편 실험

[0230] 루시페라제를 발현하는 다우디 세포를 NOD.Cg-Prkdc^{scid} IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NOD/scid IL2RG넬) 마우스 (잭슨 라보라토리(Jackson Laboratory: 바 하버))에 복강내로 주사하였다 (i.p.; 마우스 1마리당 0.3×10^6 개의 세포). 일

부 마우스는 5일째 및 6일째 인간 1차 T 세포의 i.p. 주사와 함께 또는 그 주사를 받지 않고, 다우디 접종 후 4 일 경과 후에 리톡시맙 (100 μ g) i.p.을 받았다. T 세포를 3일 동안 항-CD3/CD28 비드로 활성화시키고, CD16V-BB- ζ 수용체를 형질도입하고, 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640 중에 재현탁시키고, 마우스 1마리당 1×10^7 개의 세포로 주사하였다. 추가의 T 림프구 주사 없이, 4주 동안 매주 리톡시맙 주사를 반복하였다. 모든 마우스는 4주 동안 주당 2회에 걸쳐 1,000-2,000 IU의 IL-2를 i.p. 주사 받았다. 한 마우스 군은 리톡시맙 또는 T 세포 대신 조직 배양 배지를 받았다.

[0231] 제노겐 IVIS-200(Xenogen IVIS-200) 시스템 (캘리퍼 라이프 사이언시스(Caliper Life Sciences: 미국 매사추세츠주 홉킨턴))을 사용하여 중앙 생착 및 성장을 측정하였다. D-루피세핀 포타슘 염 (3 mg/마우스)의 수용액을 i.p. 주사한 후 5분 경과하였을 때, 영상화를 시작하고, 리빙 이미지 3.0(Living Image 3.0) 소프트웨어를 사용하여 루시페라제-발현 세포로부터 방출된 광자를 정량화하였다.

[0232] 결과

[0233] CD16V-BB- ζ 수용체의 발현

[0234] 개체 중 약 ¼에서 발현된 FCGR3A (CD16)의 V158 다형성은 고친화성 면역글로불린 Fc 수용체를 코딩하고, 항체 요법에 대한 바람직한 반응과 연관이 있다. FCGR3A 유전자의 V158 변이체를 CD8 α 의 힌지 및 막횡단 도메인, T 세포 자극 분자 CD3 ζ , 및 공동 자극 분자 4-1BB (도 1A)와 조합하였다. CD16V-BB- ζ 구축물 및 GFP를 함유하는 MCSV 레트로바이러스 벡터를 사용하여 12명의 공여자로부터 얻은 말초 혈액 T 림프구에 형질도입하였다: CD3+ 세포에서의 GFP 발현 중앙값은 89.9% (범위, 75.3%-97.1%)였고; 같은 세포에서, 항-CD16 염색에 의해 평가된, 키메라 수용체 표면 발현 중앙값은 83.0% (67.5%-91.8%)였다 (도 1B). 오직 GFP만을 함유하는 벡터가 형질도입된, 같은 공여자로부터 얻은 T 림프구의 GFP 발현 중앙값은 90.3% (67.8%-98.7%)였지만, 오직 1.0% (0.1%-2.7%)만이 CD16을 발현하였다 (도 1B). 수용체 발현은 CD4+ 및 CD8+ T 세포 사이에 유의적인 차이는 없었으며: 77.6% \pm 9.2% CD8+ 세포와 비교하였을 때, CD16V-BB- ζ 형질도입 후, 69.8% \pm 10.8% CD4+ 세포는 CD16+였다 (도 2).

[0235] 키메라 수용체의 다른 성분이 발현되었는지 확인하기 위해, CD3 ζ 발현 수준을 유세포 분석법에 의해 측정하였다. 도 1B에 제시된 바와 같이, CD16V-BB- ζ -형질도입된 T 림프구는 모의-형질도입된 세포에 의해 발현되는 것보다 훨씬 더 높은 수준으로 CD3 ζ 를 발현하였고: 평균 형광 강도의 평균 (\pm SD)은 후자인 경우는 12,547 \pm 4,296인 것에 반해, 전자의 것은 45,985 \pm 16,365였다 (t 검정에 의해 $P = 0.027$; $n = 3$; 도 1B). 항-CD3 ζ 항체로 프로빙된 웨스턴 블롯팅에 의해 키메라 단백질의 존재 또한 측정하였다. 도 1C에 제시된 바와 같이, CD16V-BB- ζ -형질도입된 T 림프구는 16 kDa의 내인성 CD3 ζ 이외에도, 환원 조건하에서 대략 25 kDa의 키메라 단백질을 발현하였다. 비환원 조건하에서, CD16V-BB- ζ 단백질은 단량체로서 또는 50 kDa의 이량체로서 발현되는 것으로 나타났다.

[0236] V158 대 F158 CD16 수용체의 항체 결합 능력

[0237] 면역글로불린 (Ig)에 결합할 수 있는 CD16V-BB- ζ 키메라 수용체의 능력을 시험하기 위해, 3명의 공여자로부터 얻은 말초 혈액 T 림프구를 형질도입시켰다. 도 3A에 제시된 바와 같이, CD16V-BB- ζ -발현 T 림프구는 리톡시맙과의 인큐베이션 후, 항체로 코팅되었다. 트라스투주맙 및 인간 IgG 경우에도 유사한 결과를 얻었다.

[0238] 이어서, 고친화성인 FCGR3A (CD16)의 V158 다형성을 함유한, CD16V-BB- ζ 수용체의 Ig-결합 능력을 대신 F158 변이체를 함유한 동일한 수용체 ("CD16F-BB- ζ ")의 것과 비교하였다. 저넷 세포에 상기 수용체 중 어느 하나를 도입한 후, 리톡시맙 및 (리톡시맙에 결합하는) 항-인간 Ig PE 항체와 인큐베이션시켰고, PE 형광 강도는 GFP의 것과 관련이 있었다. 도 3B에 제시된 바와 같이, 주어진 GFP의 어느 수준에서든, CD16V-BB- ζ 수용체가 형질도입된 세포는 CD16F-BB- ζ 수용체가 형질도입된 세포의 것보다 더 높은 PE 형광 강도를 가졌고, 이는 전자가 유의적으로 더 높은 항체-결합 친화도를 가졌다는 것을 시사하는 것이다. 트라스투주맙 및 인간 IgG 또한 CD16V-BB- ζ 수용체에 의해서 더 높은 친화도로 결합이 이루어졌다 (도 4).

[0239] CD16V-BB- ζ 수용체에서의 항체 결합이 이펙터 및 표적 세포의 응집을 촉진시킬 수 있는지 여부를 측정하기 위해, CD16V-BB- ζ (및 GFP)를 발현하는 저넷 세포를 (칼세인 AM 레드-오렌지로 표지된) CD20⁺ 다우디 세포주와 1:1 비율로 60분 동안 혼합하고, 리톡시맙을 첨가하거나, 또는 첨가하지 않고, GFP-칼세인 이중체 형성을 측정하였다. 3회에 걸쳐 수행된 실험에서, 저넷 세포가 CD16V-BB- ζ 수용체를 발현하고, 리톡시맙이 존재할 경우, 공배양물 중 39.0% \pm 1.9%의 이벤트는 이중체였다 (도 3C 및 D). 그에 반해, 리톡시맙 대신 인간 IgG가 존재할

때, 또는 리톡시맵의 존재 여부와 상관 없이, 모의-형질도입된 저켓 세포의 경우에, <5%의 이중체가 존재하였다.

[0240] *Ig의 CD16V-BB-ζ에의 결합이 T 세포 활성화, 탈과립화 및 세포 증식을 유도한다.*

[0241] 고정화된 항체에 의한 CD16V-BB-ζ 수용체 가교 결합이 T 림프구에서 활성화 신호를 유도할 수 있는지 여부를 평가하였다. 실제로, CD16V-BB-ζ가 형질도입된 T 림프구는, 리톡시맵으로 코팅된 플레이트 상에서 배양되었을 때, IL-2 수용체 발현 (CD25)을 현저히 증가시킨 반면, 항체 부재하에서, 또는 항체 존재 여부와 상관 없이, 모의-형질도입된 세포에서는 어떤 변화도 관찰되지 않았다 (도 5A 및 B).

[0242] IL-2 수용체의 발현 이외에도, CD16V-BB-ζ 수용체 가교 결합은 CD107a 염색에 의해 검출된 바, T 림프구에서 용해성 과립의 엑소사이토시스를 유발하였다. 따라서, 4명의 공여자로부터 얻은 T 림프구를 리톡시맵으로 코팅된 마이크로타이터 플레이트 상에 시딩하였거나 (n = 3) 또는 리톡시맵의 존재하에 다우디 세포와 함께 공동 배양한 (n = 3), 6회에 걸쳐 수행된 실험에서, CD16V-BB-ζ를 발현하는 T 림프구는 CD107a 양성이 되었다 (도 5C).

[0243] 마지막으로, 수용체 가교 결합이 세포 증식을 유도할 수 있는지 여부를 측정하였다. 도 5D에 제시되어 있는 바와 같이, CD16V-BB-ζ를 발현하는 T 림프구는 리톡시맵 및 다우디 세포 (T 림프구와 1:1 비율)의 존재하에서 확장되었고: 3회에 걸쳐 수행된 실험에서, 7일간의 배양 후 평균 T 세포 회수율은 유입된 세포의 632% (± 97%)였고; 4주간의 배양 후에는 6,877% (± 1,399%)였다. 중요하게는, 심지어 매우 높은 고농도에서도 (1-10 μg/mL) 비결합 리톡시맵은 표적 세포 부재하에서 세포 증식에 어떤 유의적인 영향도 미치지 않았고, 리톡시맵의 부재하에서, 또는 항체 및/또는 표적 세포 존재 여부와 상관 없이, 모의-형질도입된 T 세포에서는 어떤 세포 성장도 이루어지지 않았다 (도 5D). 따라서, CD16V-BB-ζ 수용체 가교 결합이 증식을 지속시키는 신호를 유도한다.

[0244] *CD16V-BB-ζ를 발현하는 T 림프구가 시험관내 및 생체내 ADCC를 매개한다.*

[0245] CD16V-BB-ζ 가교 결합이 용해성 과립의 엑소사이토시스를 일으켰다는 관찰 결과는 CD16V-BB-ζ T 림프구가 특이 항체의 존재하에서 표적 세포를 사멸시킬 수 있어야 한다는 것을 암시한다. 실제로, 4시간 동안의 시험관내 세포독성 검정법에서, CD16V-BB-ζ T 림프구는 리톡시맵의 존재하에서 B 세포 림프종 세포주 다우디 및 라모스에 대하여 고도의 세포독성을 보였고: 2:1의 E:T 비율로 4시간 동안의 공동 배양 후, 50% 초과와 표적 세포가 전형적으로 용해되었다 (도 6 및 도 7). 그에 반해, 항체 부재하에서 또는 모의-형질도입된 T 세포의 경우에는 표적 세포 사멸이 낮았다 (도 6 및 도 7). 특히, 본 실험에서 사용된 이펙터 세포는 CD3+ T 림프구로 고도로 강화되었고 (>98%), 어떤 검출불가능한 CD3 CD56+ NK 세포도 함유하지 않았다. CD20+ 1차 CLL 세포로 CD16V-BB-ζ T 림프구의 리톡시맵-매개 세포독성 또한 뚜렷이 나타났고 (n = 5); 도 6B에 제시된 바와 같이, 2:1의 E:T 비율로 4시간 동안의 공동 배양 후, 세포독성은 전형적으로 70%를 초과하였다. 골수 중간엽 기질 세포는 면역억제 효과를 발휘하는 것으로 나타났다. CD16V-BB-ζ T 림프구의 세포독성 능력에 영향을 미치는지 여부를 시험하기 위해, 1:2의 E:T로 24시간 동안 골수 유래 중간엽 기질 세포의 존재하에서 CLL 세포와 함께 공동 배양하였다. 도 6C에 제시된 바와 같이, 중간엽 세포는 ADCC 매개 림프구의 사멸 능력을 감소시키지 않았다.

[0246] 이어서, 상이한 면역치료학적 항체가 상응하는 항원을 발현하는 세포에 대하여 유사한 세포독성을 일으킬 수 있는지 여부에 관하여 조사하였다. 따라서, HER2 (유방암 세포주 MCF-7 및 SK-BR-3 및 위암 세포주 MKN7) 또는 GD2 (신경모세포종 세포주 CHLA-255, NB1691 및 SK-N-SH, 및 골육종 세포주 U2-OS)를 발현하는 고형 종양 세포에 대한 CD16V-BB-ζ T 림프구의 세포독성을 시험하였다. HER2를 표적화하기 위해 항체 트라스투주맵을 사용하였고, GD2를 표적화하기 위해 hu14.18K322A를 사용하였다. CD16V-BB-ζ T 림프구는 상응하는 항체의 존재하에서 상기 세포에 대해 고도의 세포독성을 보였다 (도 6 및 도 7). NB1691을 사용한 실험에서는 배양 시간을 24 시간까지로 연장함으로써 세포독성이 더욱더 낮은 E:T 비율에서도 달성될 수 있는지 여부에 관하여 시험하였다. 도 8에 제시된 바와 같이, hu14.18K322A의 존재하에 1:8 비율에서 세포독성은 50%를 초과하였다. CD16V-BB-ζ-매개 세포 사멸의 특이성을 추가로 시험하기 위해, CD20+ 다우디 세포를 CD16V-BB-ζ T 림프구 및 상이한 특이성을 가지는 항체와 배양하였고: 오직 리톡시맵만이 세포독성을 매개하였고, 트라스투주맵 또는 hu14.18K322A의 존재하에서는 어떤 세포독성 증가도 없었다 (도 8). 마지막으로, 면역치료학적 항체의 존재하에서 CD16V-BB-ζ-매개 세포 사멸이 비결합 단량체 IgG에 의해 억제될 수 있는지 여부에 관하여 측정하였다. 도 8에 제시된 바와 같이, T 세포 세포독성은 심지어 IgG가 세포 결합된 면역치료학적 항체보다 최대 1,000배 더 높은 농도로 존재하는 경우에도 영향을 받지 않았다.

- [0247] 생체내에서 CD16V-BB- ζ T 림프구의 항-종양 능력을 평가하기 위해, 루시페라제-표지된 다우더 세포가 생착된 NOD/scid IL2RG^{-/-} 마우스를 이용하여 실험을 수행하였다. 리톡시맙과 함께 CD16V-BB- ζ T 림프구를 받은 마우스에 실시간 영상화함으로써 종양 성장을 측정하고, 그의 결과를 리톡시맙 또는 T 림프구 중 어느 하나를 단독으로 받거나, 또는 어떤 처리도 받지 않은 마우스와 비교하였다. 도 9에 제시된 바와 같이, 리톡시맙을 받고, 이어서, CD16V-BB- ζ T 림프구를 받은 마우스를 제외한, 모든 마우스에서 종양 세포 확장이 일어났다. 비처리되거나, 또는 항체 또는 세포 중 하나를 단독으로 받은 12마리의 마우스 중에서는 0마리인 것과 달리, 상기 조합으로 처리된 5마리의 마우스 모두 종양 주사 후 >120일 경과 후에도 여전히 차도가 있었다. 신경모세포종 세포주 NB1691이 생착되고, hu14.18K322A 및 CD16V-BB- ζ T 림프구로 처리된 마우스에서도 또한 강력한 항-종양 활성이 관찰되었다 (도 10).
- [0248] *CD16V-BB- ζ 와 다른 수용체 비교*
- [0249] 먼저 CD16V-BB- ζ 또는 CD16F-BB- ζ 수용체를 보유하는 T 세포의 기능을 비교하였다. CD16F-BB- ζ 수용체는 모의-형질도입된 T 세포에서 측정된 것보다 더 높은 T 세포 증식 및 ADCC를 유도하였다. 그럼에도 불구하고, Ig에 대한 그의 더 높은 친화도에 부합하여, CD16V-BB- ζ 수용체는 더 낮은 친화도의 CD16F-BB- ζ 수용체에 의해 유발되는 것보다 유의적으로 더 높은 T 세포 증식 및 ADCC를 유도하였다 (도 11).
- [0250] 이어서, CD16V-BB- ζ 를 보유하는 T 세포의 기능을 다른 신호전달 특성을 가지는 다른 수용체를 발현하는 T 세포의 것과 비교하였다. 이는 신호전달 능력이 없는 수용체 ("CD16V-말단절단"), 4-1BB는 없지만, CD3 ζ 는 포함하는 것 ("CD16V- ζ "), 및 앞서 기술된 것으로서, CD16V를 Fc ϵ RI γ 의 막횡단 및 세포질 도메인과 조합한 수용체 ("CD16V-Fc ϵ RI γ ")를 포함하였다 (도 12). 활성화된 T 세포에서의 레트로바이러스 형질도입 후, 모든 수용체가 고도로 발현되었다 (도 13). 도 14에 제시된 바와 같이, CD16V-BB- ζ 는 모든 다른 구축물보다 유의적으로 더 높은 활성화, 증식 및 특이적인 세포독성을 유도하였다.
- [0251] *mRNA 전기천공에 의해 CD16V-BB- ζ 수용체의 발현*
- [0252] 상기의 모든 실험에서, CD16V-BB- ζ 발현은 레트로바이러스 형질도입에 의해 실시되었다. 대안적 방법인 mRNA의 전기천공 또한 ADCC 능력을 T 림프구에 부여할 수 있는지 여부를 시험하였다. 2명의 공여자로부터 얻은 활성화된 T 림프구를 전기천공시키고, 높은 발현율을 얻었는데: 전기천공 후 24시간 경과하였을 때, T 림프구의 55% 내지 82%가 CD16+가 되었다 (도 15A). 두번째 공여자에서는 3일째 수용체 발현 또한 시험하였는데, 수용체 발현이 43%일 때, 발현이 72 내지 96시간 동안 지속된, 또 다른 수용체를 이용한 이전 실험의 것과 유사한 결과였다. ADCC는 CD16V-BB- ζ mRNA로 전기천공된 T 림프구에서 활성화되었고: 리톡시맙의 존재하에서, 80% 라모스 세포는 2:1의 E:T 비율에서 4시간 경과 후 사멸한 반면, mRNA 부재하에 전기천공된 세포는 효과가 없었다 (도 15B).
- [0253] 문헌 [Kudo et al., *Cancer Res.* 2014 Jan 1;74(1):93-103] (상기 문헌의 내용은 본원에서 참조로 포함된다) 또한 참조할 수 있다.
- [0254] **논의**
- [0255] 본원에서는 ADCC를 발휘할 수 있는 능력을 T 림프구에 부여하는 키메라 수용체 개발을 기술한다. 종양 세포에 결합한 항체가 CD16V-BB- ζ 수용체에 결합하였을 때, T 세포 활성화가 일어나고, 증식이 지속되며, 항체에 의해 표적화된 암 세포에 대한 특이적인 세포독성이 일어난다. CD16V-BB- ζ T 림프구는 B 세포 림프종, 유방암 및 위암, 신경모세포종 및 골육종 뿐만 아니라, 원발성 CLL 세포를 비롯한, 매우 다양한 종양 세포 유형에 대하여 고도한 세포독성을 보였다. 세포독성은 전반적으로 표적 세포에 결합한 특이적인 항체의 존재에 의존하였고; 비결합 항체는 비특이적인 세포독성을 일으키지 않거나, 또는 세포 결합된 항체의 세포독성에 영향을 미치지 않았다. CD16V-BB- ζ T 세포는 또한 상기 미세환경의 공지된 면역억제 효과와 상관 없이, 중간엽 세포층 상에서 배양되었을 때, CLL 세포를 사멸시켰다. 또한, 리톡시맙 주입된 CD16V-BB- ζ T 림프구는 면역결핍 마우스에서 생착된 B 세포 림프종 세포를 근절시켰고, 신경모세포종 세포가 생착된 마우스에서 항-GD2 항체 존재하에 상당한 항-종양 활성을 보였다. 요약컨대, CD16V-BB- ζ 를 발현하는 T 세포는 시험관내 및 생체내에서 강력한 ADCC를 발휘하였다.
- [0256] Ig의 Fc 부위에 대한 CD16의 친화성은 ADCC의 중요한 결정 요인이며, 따라서, 항체 면역요법에 대한 임상 반응에 영향을 준다. 이러한 이유로, 예를 들어, 글리코조작에 의해, Fc γ R에 대한 Fc 단편의 친화도를 추가로 증진시키고자 하는 상당한 노력이 진행되고 있다. 본 개시내용의 키메라 수용체를 구축하기 위해, V158 다형성 (서열식별번호: 65)를 포함하는 *FCGR3A* (*CD16*) 유전자를 한 예로 선택하였다. 상기 변이체는 Ig에 대하여 더

높은 결합 친화도를 가지는 수용체를 코딩하며, 우수한 ADCC를 매개하는 것으로 밝혀져 있다. 실제로, 더욱 일반적인 F158 변이체를 함유하는 동일한 키메라 수용체와의 측별 비교(side-to-side comparison)에서, CD16V-BB-ζ가 유의적으로 더 높은, 인간 Ig Fc에 결합할 수 있는 능력을 가졌고, 더욱 활발한 증식 및 세포독성을 유도하였으며, 키메라 항원 수용체 기능에서 친화성 역할에 대하여 다른 최근 연구의 결과를 초래하였다. 현 "제2 세대" 키메라 수용체는 자극 분자를 공동 자극 분자를 조합하여 신호전달을 증강시키고, 활성화 유도된 아포토시스를 막는다. 그러므로, CD16 V158을 CD3 ζ 및 4-1BB (CD137)에 의해 구성된 자극 분자 텐덤과 함께 조합하였다. 실제로, CD16V-BB-ζ 수용체는 CD3 ζ 단독의 것을 통해 작용하는 수용체, 또는 FcεRIγ의 것보다 현저히 더 우수한 T 세포 활성화, 증식 및 세포독성을 유도하였다.

[0257] 종양 세포의 표면 상의 항원을 인식하고, 자극 신호를 전달할 수 있는 수용체를 발현하는 유전적으로 변형된 T 세포의 임상적 잠재능이 임상 시험의 결과에 의해 점점 더 계속해서 입증되고 있다. 무엇보다도 특히, 바이러스 형질도입에 의해 CD19 또는 CD20에 대한 키메라 항원 수용체를 발현하는 자가 T 림프구를 받은 B 세포 악성 종양 환자에서 유의적인 종양 축소 및/또는 완전한 관해가 보고되었다. 상기 전략법을 다른 종양으로 확장하는 것은 또 다른 키메라 항원 수용체 구축물 개발, 및 규제 요건에 따른 대규모 형질도입 조건 최적화를 비롯한, 상당한 노력을 포함한다. 이와 관련하여, 본원에 기술된 CD16V-BB-ζ 수용체는 하나의 단일 수용체가 다중의 암 세포 유형에 대해 사용될 수 있도록 허용함으로써 T 세포 요법 실행을 촉진시켜야 한다. 이는 또한, 단일 특이성을 가지는 키메라 수용체에 의해 표적화되는 마커가 없는 서브클론에 의해 유도되는 백혈병 재발에 관한 최근 보고에 의해 예시된 바와 같이, 면역회피 기전이 종양에 의해 이용된다면, 궁극적으로 이로울 수 있는 전략법인, 다중 항원의 동시 표적화를 허용하여야 한다. 항체 유도 세포독성은, 항체 투여의 간단한 중단에 의해 요구될 경우에는 언제나, 중단되어야 한다. CD16V-BB-ζ를 발현하는 T 세포는 오직 표적 세포에 결합된 항체에 의해서만 활성화되기 때문에, 가용성 면역글로불린은 주입된 T 세포에 대해서는 어떤 자극도 일으키지 않아야 한다. 본원에서 입증된 바와 같이, mRNA 전기천공은 수용체를 매우 효과적으로 발현시킬 수 있다.

[0258] 항체 요법이 다수의 암 서브유형에 대한 표준 치료법이 되어 왔으며; 그의 임상적 효능은 매개 Fc 수용체의 결속을 통해 ADCC를 일으킬 수 있는 그의 능력에 의해 측정된다. ADCC의 주요 이펙터는 NK 세포이지만, 암 환자에서는 그의 기능이 손상될 수 있다. 예를 들어, HER2를 과발현하는 위암 세포의 트라스투주맙 매개 ADCC는 조기 질환 환자 또는 건강한 공여자로부터 얻은 샘플을 이용하여 수득한 것과 비교하였을 때, 위암 환자 및 진행성 질환 환자로부터 얻은 말초 혈액 단핵 세포를 이용한 경우에 유의적으로 더 낮았다. 또한, 반응은 NK 세포 억제성 수용체 및 그의 리간드의 유전자형을 비롯한, 다른 인자에 의해 영향을 받을 수도 있다. 본원에서 제시하는 결과는, CD16V-BB-ζ 수용체가 유전적으로 조작된 자가 T 세포의 주입이 ADCC를 유의적으로 증강시켜야 한다는 것을 제안한다. 조합된 CD3 ζ/4-1BB 신호전달 또한 T 세포 증식을 유발하는 바, 종양 부위에 활성화된 T 세포가 축적되어야 하며, 이는 그의 활성을 추가로 강화시킬 수 있다. CD16V-BB-ζ 수용체는, 혈액 수집에서부터 CD16V-BB-ζ-발현 세포의 주입까지 단지 몇시간 밖에 소요되지 않는 바, 따라서, 임상적 적용에 매우 적합화된 방법인 mRNA 전기천공에 의해 활성화된 T 림프구에서 뿐만 아니라, 휴지 말초 혈액 단핵구 세포에서도 발현될 수 있다.

[0259] 실시예 2. 다양한 키메라 수용체의 구축

[0260] 키메라 수용체 서열식별번호: 1, 서열식별번호: 2, 서열식별번호: 3, 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5, 서열식별번호: 6, 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 9, 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 11, 및 서열식별번호: 14를 코딩하는 핵산 서열을 벡터 pVAX1의 HindIII 및 XbaI 부위로 클로닝하였다. 제한 엔도뉴클레아제 XbaI로 분해하여 DNA 벡터를 선형화하고, T7 RNA 폴리머라제를 사용하여 RNA로 전사시켰다. 이어서, RNA를 셀스크립트(Cellscrip)로부터 입수한 스크립트캡 캡핑 엔자임(ScriptCap Capping Enzyme) 및 스크립트캡(ScriptCap) 2'-O-메틸트랜스퍼라제를 이용하여 그의 5'-단부에서 효소적으로 캡핑하여 캡(Cap) 1 구조를 수득하고, 폴리-A 폴리머라제를 사용하여 그의 3'-단부에서 폴리-아데닐화시켰다. 생성된 mRNA를 인비트로젠 네온(Neon) 전기천공 시스템을 사용하여 저켓 세포 내로 전기천공시키고, 10% 우태아 혈청을 포함하는 RPMI-1640 배지 중 37℃에서 6 hr 동안 성장시켰다.

[0261] 이어서, 배지 중의 전기천공된 세포를 CD20-특이 항체 리톡산 (10 μg/mL)과 함께 37℃에서 30 min 동안 인큐베이션시켰다. 세포를 수거하고, 유세포 분석용 완충제 (FC 완충제; Ca²⁺ 및 Mg²⁺ 무함유 DPBS, 0.2% 우혈청 알부민, 0.2% NaN₃)로 2회에 걸쳐 세척하고, PE-표지된 항-CD16 항체 또는 항-CD32 항체 (서열식별번호: 6의 경우)로 염색하여 키메라 수용체 발현을 검출하거나, 또는 PE-표지된 염소-항-인간 항체로 염색하여 결합된 리톡산을 검출하였다. 염색된 세포는 유세포 분석법에 의해 분석하였다. PE-표지된 항-CD16 또는 항-CD32 항체를 사용하여 모든 구축물로부터의 키메라 수용체 단백질을 검출하였고, 평균 형광 값 범위는 36,000 내지

537,000였다. U구축물 1 (서열식별번호: 1)이 최고 발현 수준을 나타내었다.

[0262] 도 16 (패널 A 내지 C)은 서열식별번호: 1 mRNA로 전기천공된 세포 및 모의-전기천공된 세포에 결합하는 리톡산에 대한 유세포 분석 데이터를 보여주는 것이다. 모의-전기천공된 세포는 2% 미만인 것과 비교하였을 때, 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA로 전기천공된 세포 중 95% 초과인 세포가 염소-항-인간 항체로 염색되었으며, 이는 저켓 세포의 표면 상에서 발현된 키메라 수용체가 리톡산에 결합할 수 있었다는 것을 나타낸다 (도 16A 및 16B). PE-표지된 염소-항-인간 항체로 염색하였을 때, 서열식별번호: 1 mRNA-전기천공된 세포의 형광 값의 중앙값은 모의-전기천공된 세포의 형광 값의 중앙값보다 대략 700배 정도 더 높았다 (도 16C, 하기 표 8). 서열식별번호: 2, 서열식별번호: 3, 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5, 서열식별번호: 6, 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 9, 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 11, 및 서열식별번호: 14에 대해서도 유사한 분석을 수행하였다. PE-표지된 염소-항-인간 항체로 염색하였을 때, 상기 구축물에 대한 키메라 수용체 mRNA로 전기천공된 세포의 형광 값의 중앙값은 모의-전기천공된 세포의 형광 값의 중앙값보다 대략 14 내지 680배 정도 더 높았고 (하기 표 8), 이는 저켓 세포의 표면 상에서 발현된 상기 키메라 수용체 단백질 모두가 리톡산에 결합할 수 있었다는 것을 나타낸다.

[0263] 본 실험은 키메라 수용체 서열식별번호: 1, 서열식별번호: 2, 서열식별번호: 3, 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5, 서열식별번호: 6, 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 9, 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 11, 및 서열식별번호: 14 모두 저켓 세포에서 발현되었고, 이들은 모두 CD20-특이 항체 리톡산에 결합하였다는 것을 시사하였다.

[0264] <표 8>

[0265] 키메라 수용체 구축물에 대한 활성 실험에서의 키메라 수용체의 리톡산에의 결합, 및 CD25 및 CD69 발현에 대한 상대적인 형광 중앙값

			리톡산 결합	CD25 발현	CD69 발현
저켓 세포 내로 전기천공된 mRNA	SEQ ID	SEQ ID: 1에 대해 상대적인 변이	상대적인 형광 중앙값	상대적인 형광 중앙값	상대적인 형광 중앙값
없음	--	--	1	1	1
SEQ ID: 1	1	--	694.7	6.7	69.1
SEQ ID: 2	2	4-1BB TM 도메인	22.4	2.3	10.9
SEQ ID: 3	3	CD28 TM 도메인	77.7	5.1	25.0
SEQ ID: 4	4	CD34 TM 도메인	25.8	3.0	10.6
SEQ ID: 5	5	일반 TM 도메인	14.2	2.4	10.2
SEQ ID: 6	6	CD32 Fc 수용체	682.4	5.4	64.1
SEQ ID: 7	7	CD28 공동자극 도메인	232.7	4.7	35.2
SEQ ID: 8	8	OX40 공동자극 도메인	322.7	5.3	37.6
SEQ ID: 9	9	CD28 + 4-1BB 공동자극 영역	102.4	5.3	25.7
SEQ ID: 10	10	힌지 없음	24.0	5.8	13.0
SEQ ID: 11	11	XTEN 힌지	55.4	7.6	20.6
SEQ ID: 14	14	CD4 TM 도메인	32.1	4.8	13.0

[0266] 실시예 3. 키메라 수용체를 발현하는 세포는 T 세포 활성화 마커를 나타낸다.

[0268] 상기 실시예 2에 개시된 키메라 수용체를 발현하는 저켓 세포를 세포-표면 활성 마커인 CD25 및 CD69의 존재에 대해 모니터링함으로써 활성에 대해 평가하였다. 본 실험을 위해, 저켓 세포를 인비트로젠 네온 전기천공 시스템을 사용하여 mRNA 없이 (모의) 또는 상기 실시예 2에 기술된 키메라 수용체 구축물을 코딩하는 mRNA로 전기천공시키고, 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640 배지 중 37°C에서 8 - 9 hr 동안 성장시켰다. 세포를 수거하고, 10% 우태아 혈청, 50 U/mL 페니실린, 및 50 µg/mL 스트렙토마이신을 포함하는 RPMI-1640 배지로 세척하였다. 상기 세포를, 스트렉스(Streck's) 세포 보존제로 고정된, 세포 표면에 CD20을 발현하는 다우디 표적 세포와 1 대 1 비율로, 및 CD20-특이 항체 리톡산 (10 µg/mL)과 혼합하였다. 상기 혼합물을 10% 우태아 혈청, 50 U/mL 페니실린, 및 50 µg/mL 스트렙토마이신을 포함하는 RPMI-1640 배지 중 37°C에서 18 - 20 hr 동안 인큐베이션시켰다.

세포를 수거하고, 저켓 세포 상에서 각각 PE-표지된 항-CD7 항체로 염색하여 저켓 세포를 검출하고, APC-표지된 항-CD25 항체 또는 APC-표지된 항-CD69 항체로 염색하여 CD25 및 CD69 발현을 검출하였다. 염색된 세포를 유세포 분석법에 의해 평가하였다.

[0269] CD7 양성 세포를 CD25 및 CD69, 둘 모두의 발현에 대하여 평가하였다. 모의-전기천공 조건하에서는 3% 미만의 CD7 양성 세포가 APC-표지된 항-CD25 항체로 염색된 것과 비교하였을 때, 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA가 사용된 조건하에서는 45% 초과인 CD7 양성 세포가 염색되었으며, 이는 상기 실험의 조건하에서 키메라 수용체를 발현하지 않는 세포와 비교하였을 때, 상기 수용체를 발현하는 저켓 세포 상에서 CD25 활성 마커의 발현이 증가되었다는 것을 나타낸다 (도 17A 및 17B). CD7 양성 세포를 APC-표지된 항-CD25 항체를 이용한 염색에 대하여 평가하였을 때, 서열식별번호: 1 mRNA 조건하에서의 형광 값의 중앙값은 모의-전기천공된 세포의 형광 값의 중앙값보다 대략 6.7배 정도 더 높았다 (도 17C, 하기 표 8). 모의-전기천공 조건하에서는 대략 46%의 CD7 양성 세포가 APC-표지된 항-CD69 항체로 염색된 것과 비교하였을 때, 서열식별번호: 1을 코딩하는 mRNA가 사용된 조건하에서는 98% 초과인 CD7 양성 세포가 염색되었으며, 이는 상기 실험의 조건하에서 키메라 수용체를 발현하지 않는 세포와 비교하였을 때, 상기 수용체를 발현하는 저켓 세포 상에서 CD69 활성 마커의 발현이 증가되었다는 것을 나타낸다 (도 18A 및 18B). CD7 양성 세포를 APC-표지된 항-CD69 항체를 이용한 염색에 대하여 평가하였을 때, 서열식별번호: 1 mRNA 조건하에서의 형광 값의 중앙값은 모의-전기천공된 세포의 형광 값의 중앙값보다 대략 69배 정도 더 높았다 (도 18C, 하기 표 8).

[0270] 서열식별번호: 2, 서열식별번호: 3, 서열식별번호: 4, 서열식별번호: 5, 서열식별번호: 6, 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 9, 서열식별번호: 10, 서열식별번호: 11, 및 서열식별번호: 14에 대해서도 유사한 분석을 수행하였다. CD7 양성 세포를 APC-표지된 항-CD25 항체를 이용한 염색에 대하여 평가하였을 때, 세포가 상기 구축물에 대한 키메라 수용체를 발현하는 것인 조건에 대한 형광 값의 중앙값은 모의-전기천공된 세포의 형광 값의 중앙값보다 대략 2.3 내지 7.6배 정도 더 높았고 (하기 표 8), 이는 상기 실험의 조건하에서 키메라 수용체를 발현하지 않는 세포와 비교하였을 때, 상기 각각의 수용체를 발현하는 저켓 세포 상에서 CD25 활성 마커의 발현이 증가되었다는 것을 나타낸다 (하기 표 8). CD7 양성 세포를 APC-표지된 항-CD69 항체를 이용한 염색에 대하여 평가하였을 때, 세포가 상기 구축물에 대한 키메라 수용체를 발현하는 것인 조건에 대한 형광 값의 중앙값은 모의-전기천공된 세포의 형광 값의 중앙값보다 대략 10 내지 64배 정도 더 높았고 (하기 표 8), 이는 상기 실험의 조건하에서 키메라 수용체를 발현하지 않는 세포와 비교하였을 때, 상기 각각의 수용체를 발현하는 저켓 세포 상에서 CD69 활성 마커의 발현이 증가되었다는 것을 나타낸다 (하기 표 8).

[0271] 본 실험은 본 수용체가 CD20-특이 항체인 리툭산 및 CD20을 발현하는 다우디 표적 세포와 상호작용하는 조건하에서 상기 키메라 수용체를 발현하는 저켓 세포가 키메라 수용체를 발현하지 않는 저켓 세포와 비교하였을 때, 활성 마커인 CD25 및 CD69의 증가를 나타낸다는 것을 시사하는 것이다.

[0272] 실시예 4. 키메라 수용체가 저켓 세포 상에서 발현된다

[0273] 키메라 수용체를 코딩하는 mRNA로 전기천공된 저켓 세포를 항-CD ζ 항체를 이용하는 웨스턴 블롯 분석에 의해 키메라 수용체 발현에 대하여 분석하였다. 본 실험을 위해, 저켓 세포를 인비트로젠 네온 전기천공 시스템을 사용하여 mRNA 없이 (모의) 또는 상기 실시예 2에 개시된 구축물을 코딩하는 mRNA로 전기천공시키고, 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640 배지 중 37°C에서 8 - 9 hr 동안 성장시켰다. 세포를 수거하고, 포스파타제 및 프로테아제 억제제의 존재하에서 RIPA 완충제 (50 mM 트리스(Tris)-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% NP-40, 0.5% 소듐 데옥시콜레이트, pH 7.4)로 용해시켰다. 각 용해물에 대하여, 25 μ g의 전체 단백질을 4-12% 비스-트리스(Bis-Tris) 폴리아크릴아미드 겔의 한 레인 상에 로딩하였다. 단백질을 PVDF 막으로 옮겨 놓고, 막을 실온에서 1 hr 동안 TBST 완충제 (500 mM 트리스-HCl, 1.5M NaCl, 1% 트윈(Tween)-20, pH 7.4) 중 5% 밀크로 차단하였다. 막을 4°C에서 밤새도록 항-CD ζ 항체로 프로빙하고, TBST 완충제로 3회에 걸쳐 세척하고, 호스래디시-퍼옥시다제-결합 염소-항-인간 2차 항체로 프로빙하였다. 호스래디시 퍼옥시다제 화학발광성 기질을 사용하여 단백질 밴드를 시각화하였다.

[0274] 웨스턴 블롯 실험 결과는 도 19에 제시되어 있다. 항-CD ζ 항체는 CD ζ 세포내 단백질 서열을 함유하는 키메라 수용체 단백질의 C-말단 영역을 검출한다. 모든 키메라 수용체 구축물에 대하여, 전장의 수용체 단백질에 상응하는 밴드가 검출되었다 (레인 2-13). 키메라 수용체 단백질의 이동성은 단백질의 상이한 분자량과 일관된 방식으로 다르게 나타났다.

[0275] 본 결과는 상기 키메라 수용체가 상응하는 mRNA를 이용한 전기천공 이후에 저켓 세포에서 모두 발현되었다는 것을 입증한다.

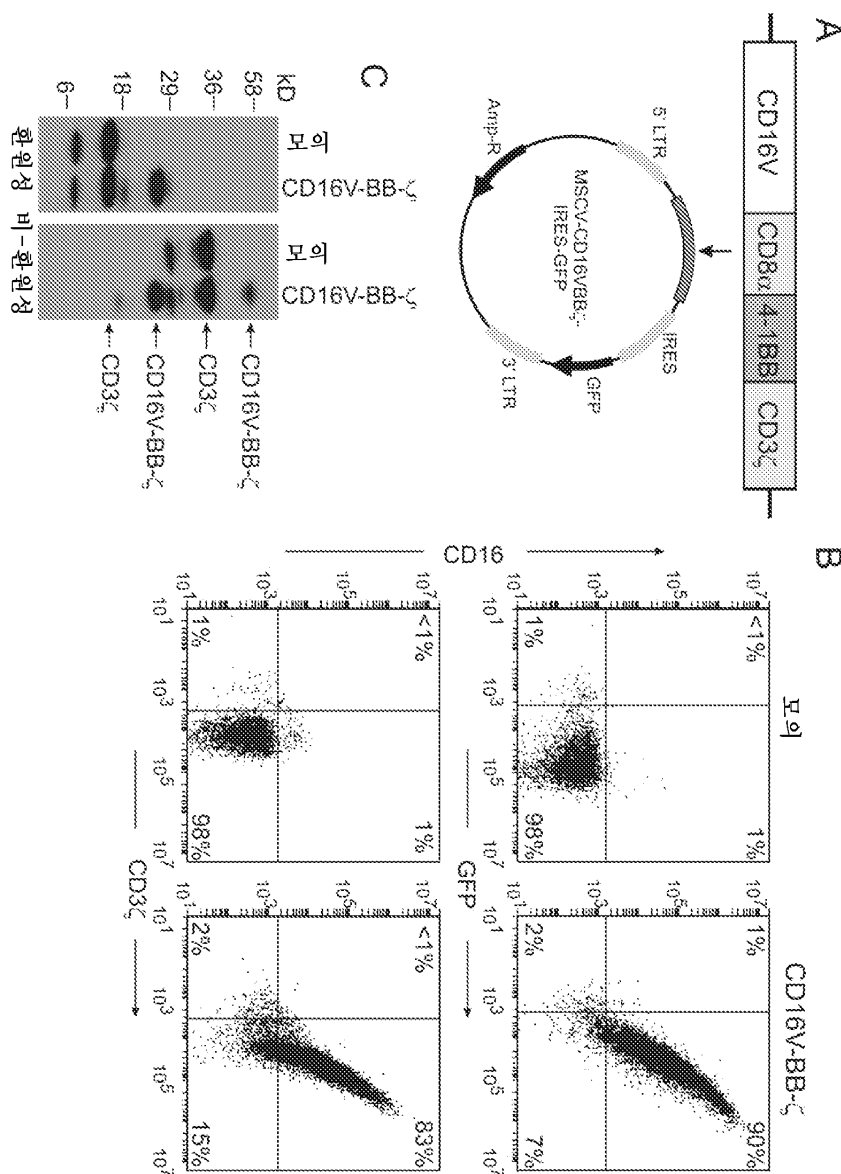
[0276] 다른 실시양태

[0277] 본 명세서에 개시된 특징들은 모두 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각 특징은 동일하거나, 등가이거나, 또는 유사한 목적을 달성하기 위한 대안적 특징에 의해 대체될 수 있다. 따라서, 달리 명확하게 언급되지 않는 한, 개시된 각 특징은 단지 등가적인 또는 유사한 특징을 나타내는 포괄적 시리즈의 예일 뿐이다.

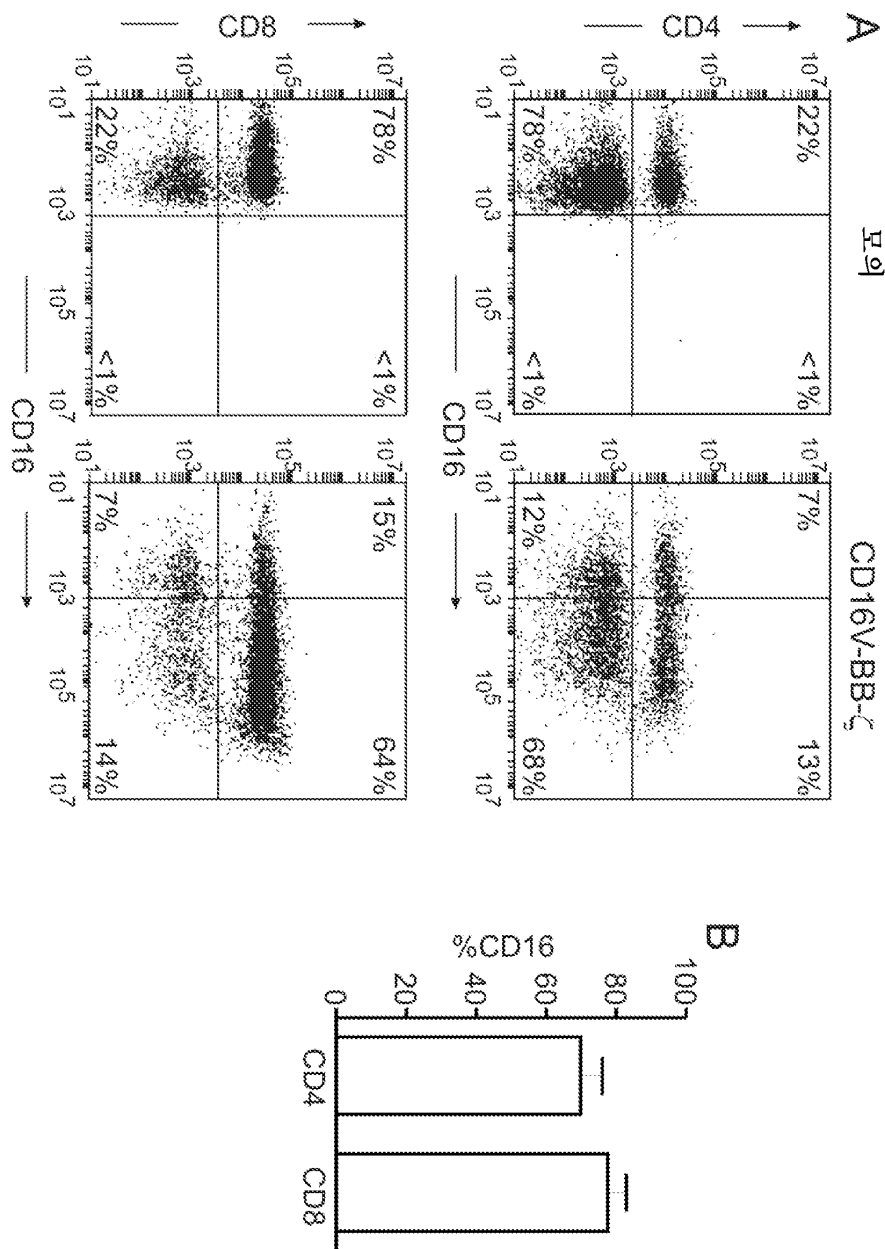
[0278] 상기 설명으로부터 통상의 기술자는 본 개시내용의 본질적인 특징을 쉽게 확인할 수 있고, 그의 정신 및 범주로부터 벗어남 없이, 본 개시내용을 다양하게 변형 및 수정시킴으로써 다양한 용도 및 조건에 맞게 적합화시킬 수 있다. 따라서, 다른 실시양태 또한 특허청구범위 내에 포함된다.

도면

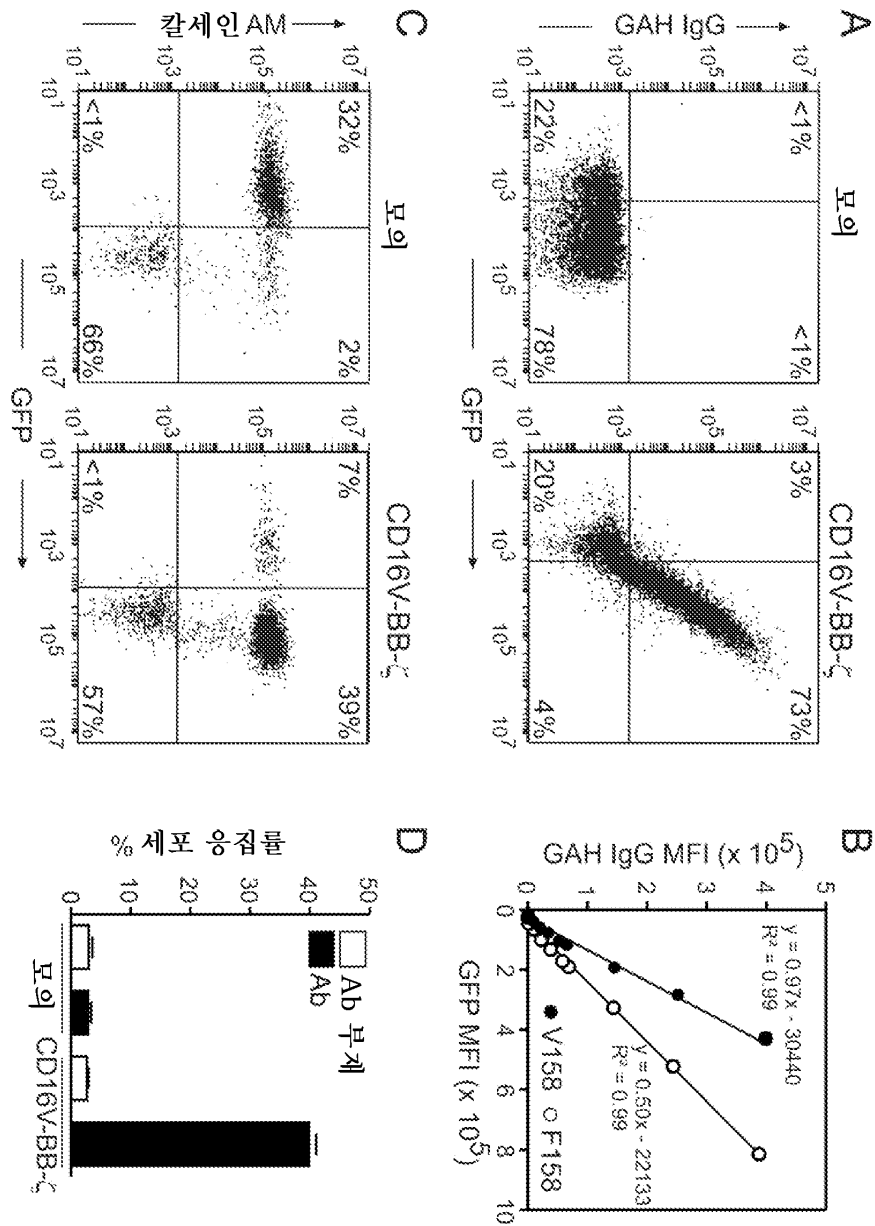
도면1



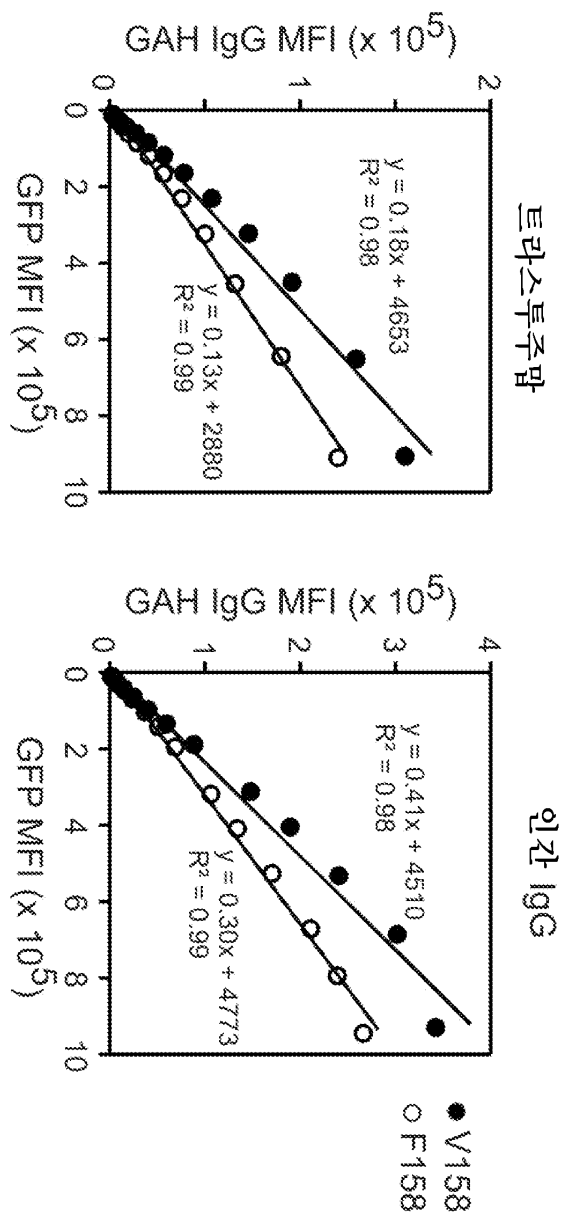
도면2



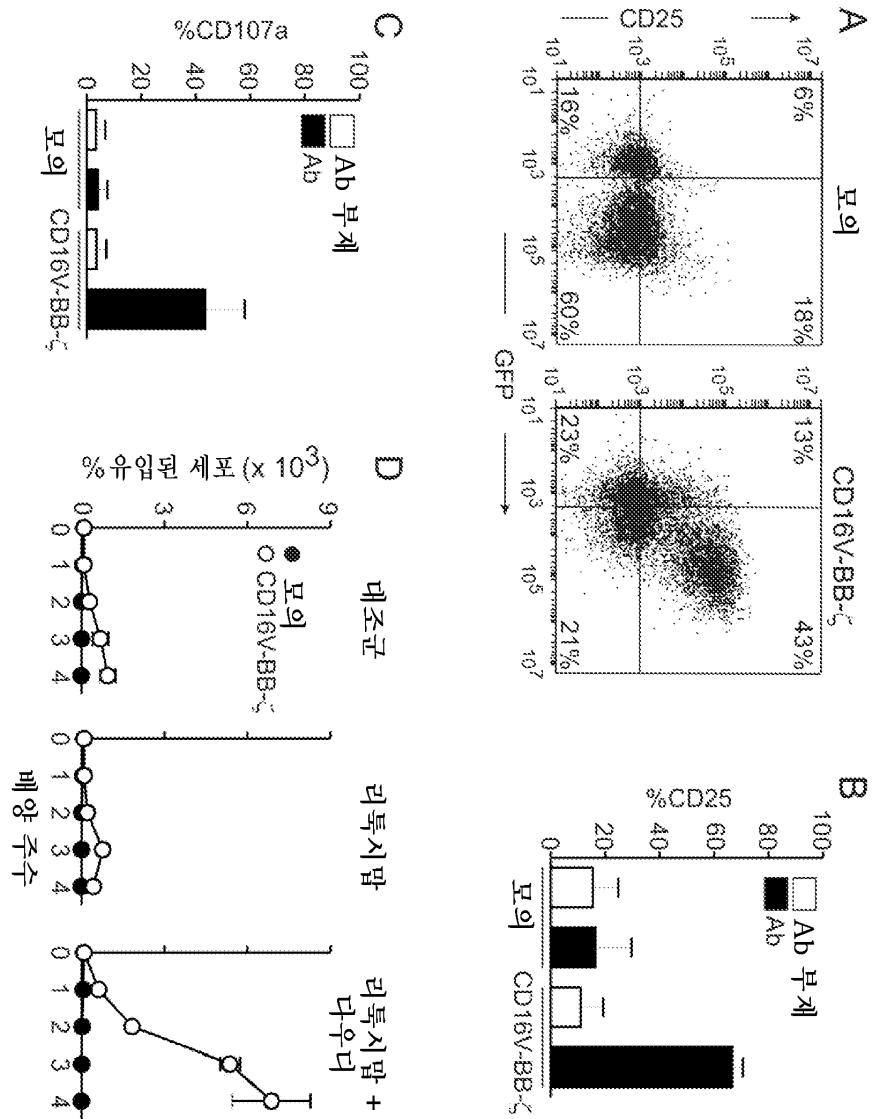
도면3



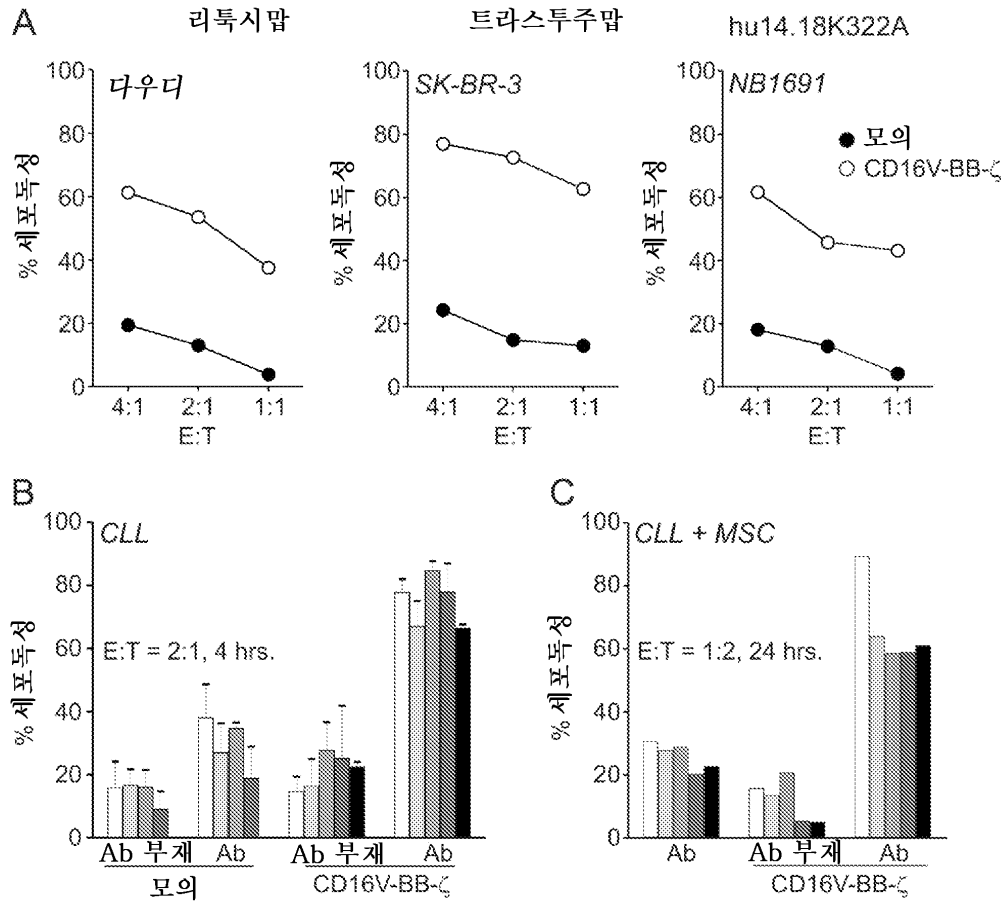
도면4



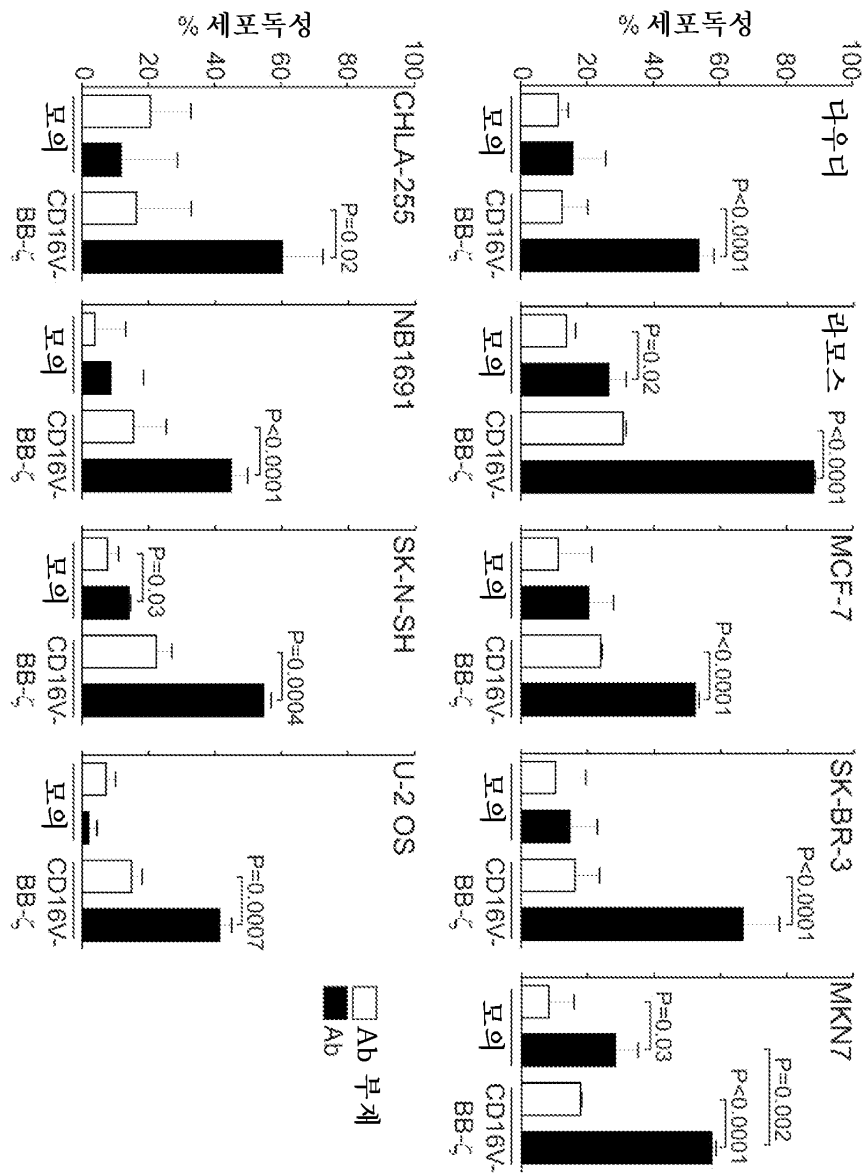
도면5



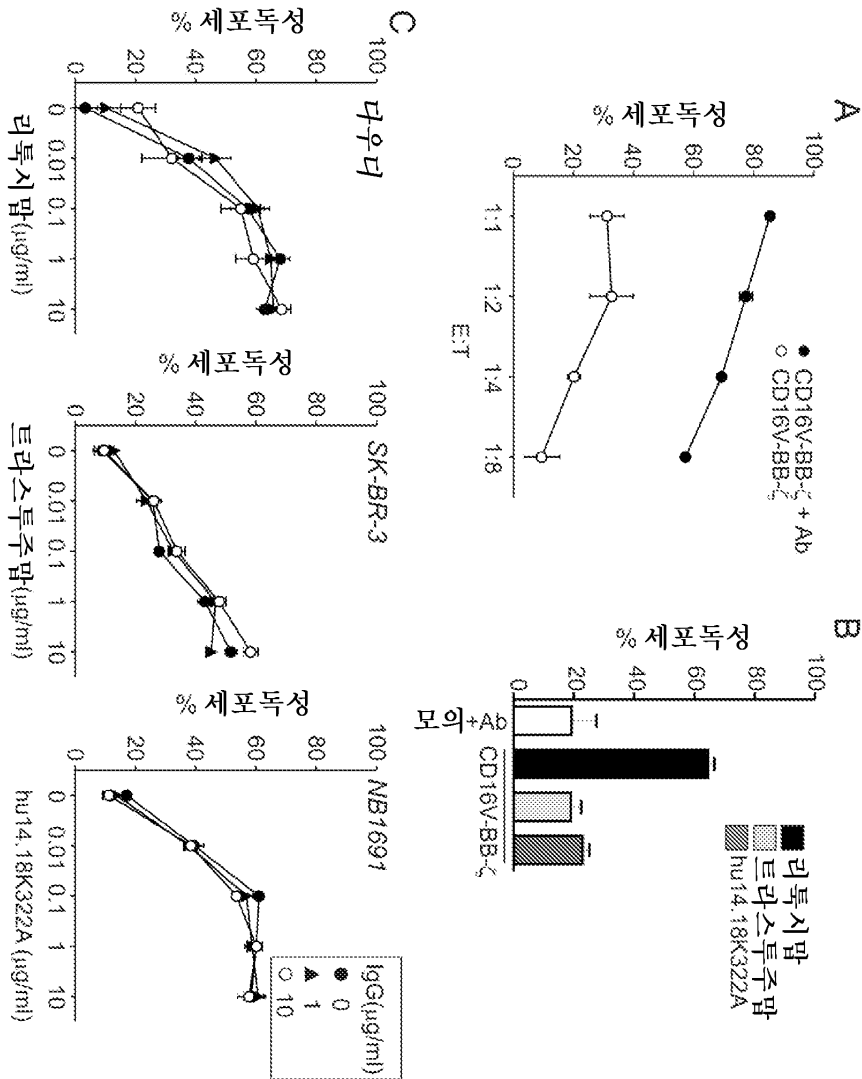
도면6



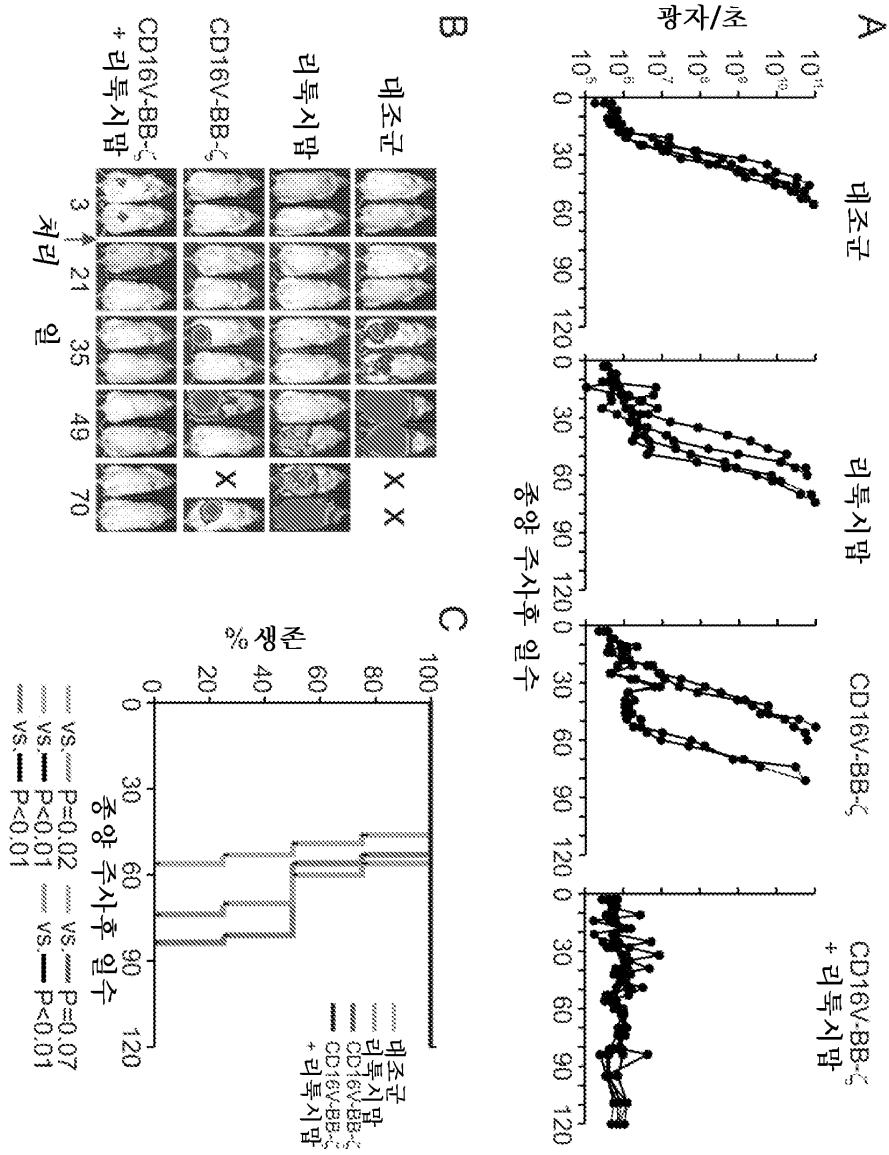
도면7



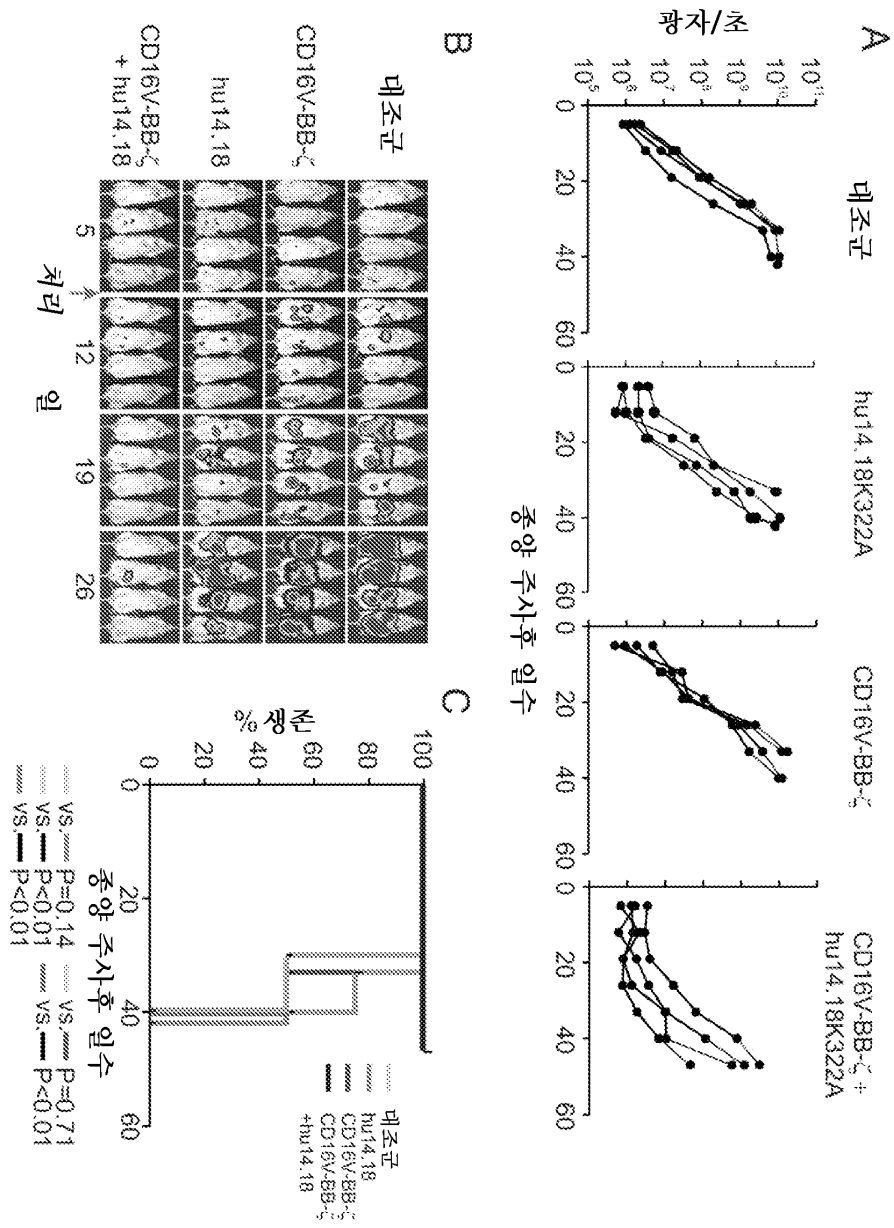
도면8



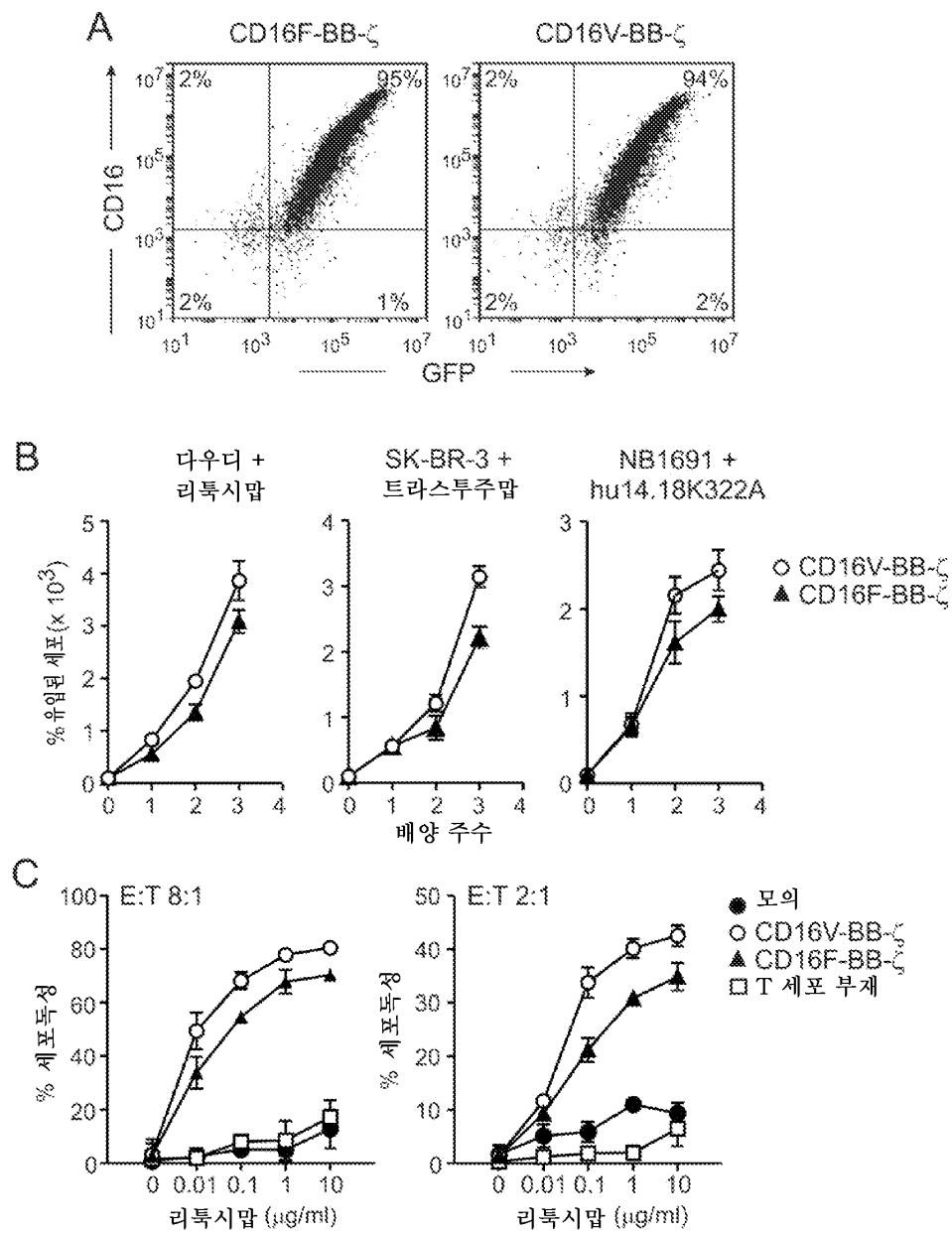
도면9



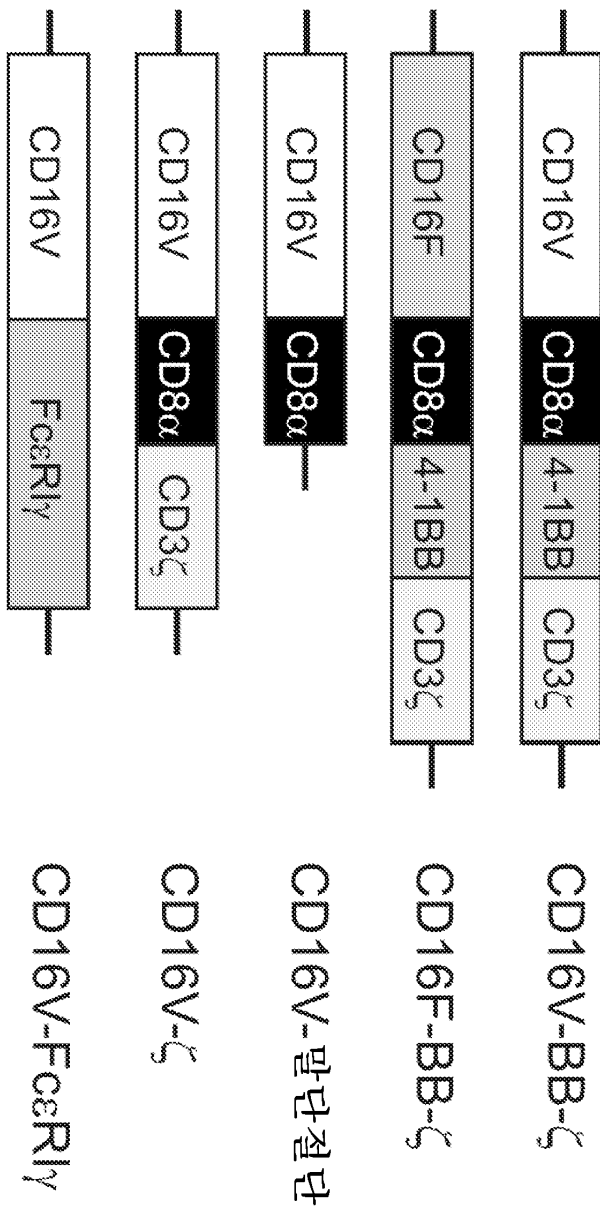
도면10



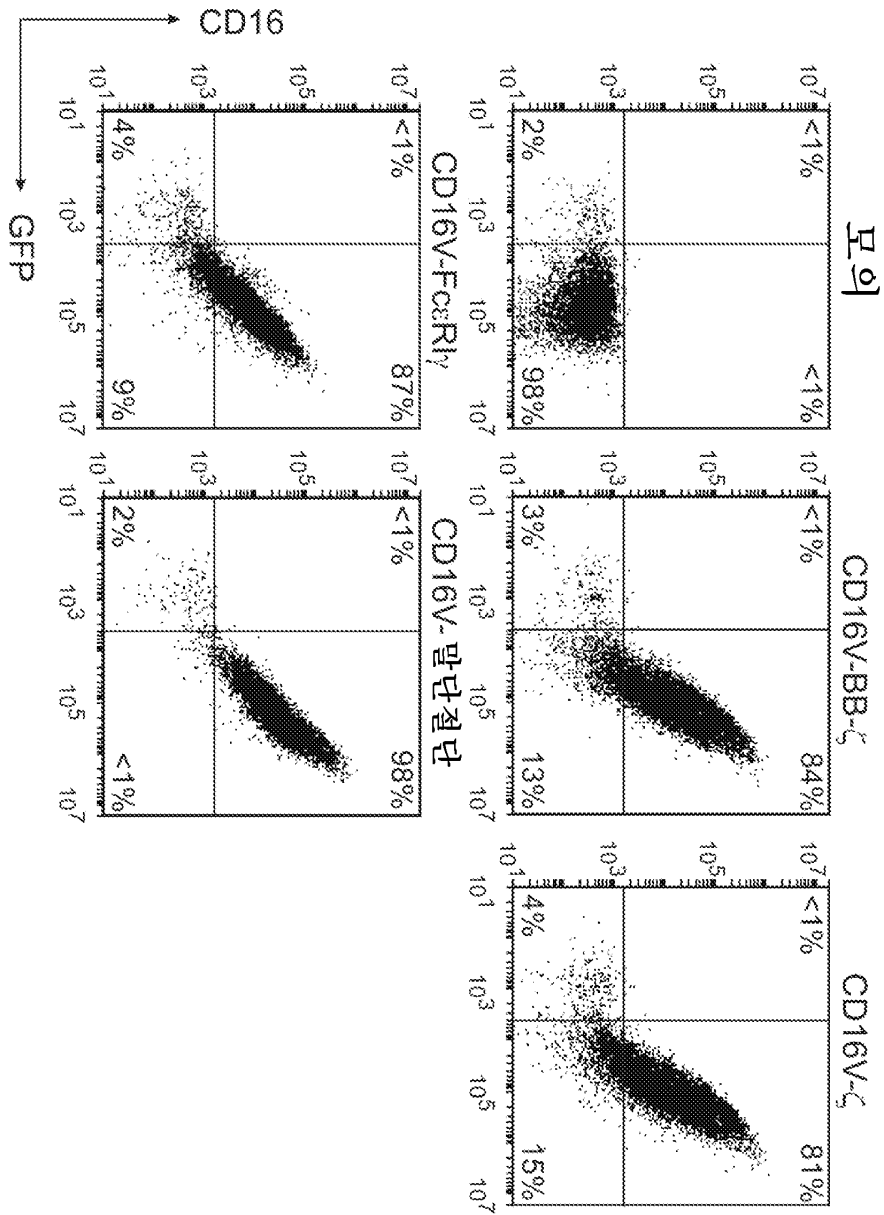
도면11



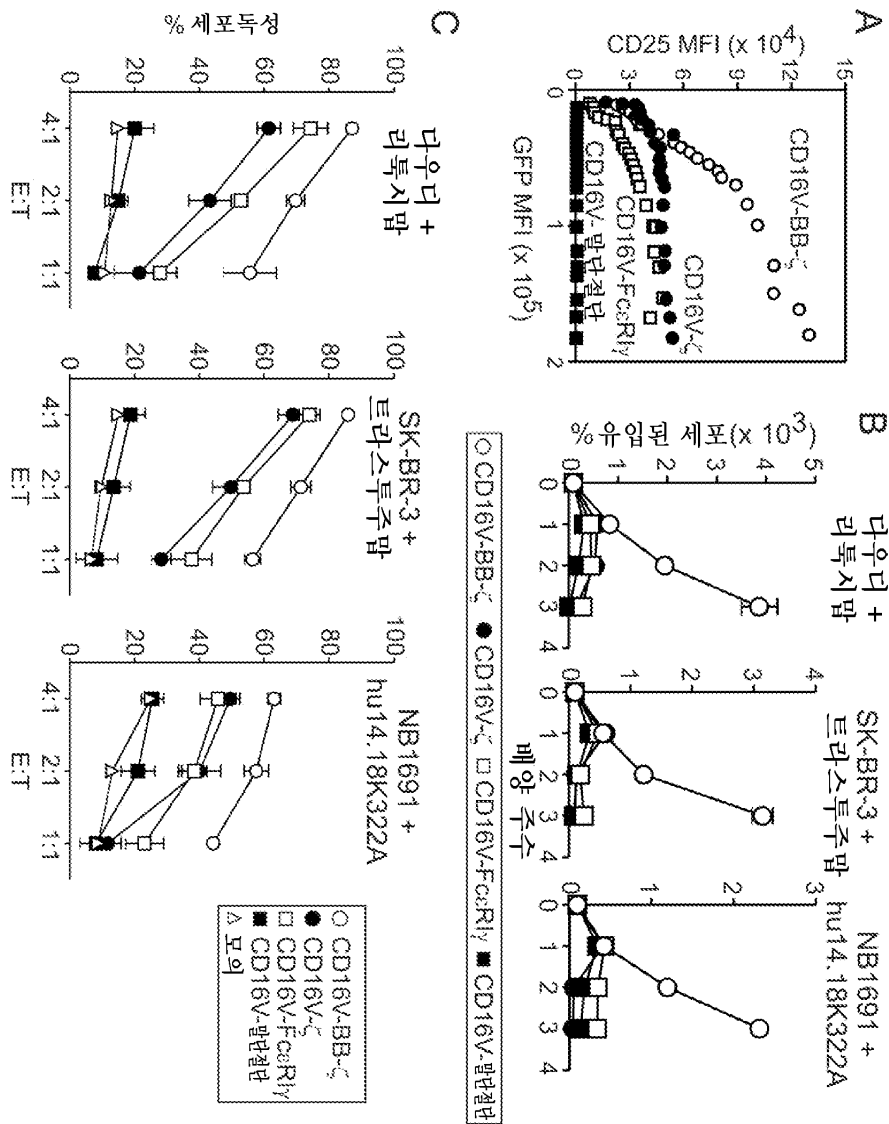
도면12



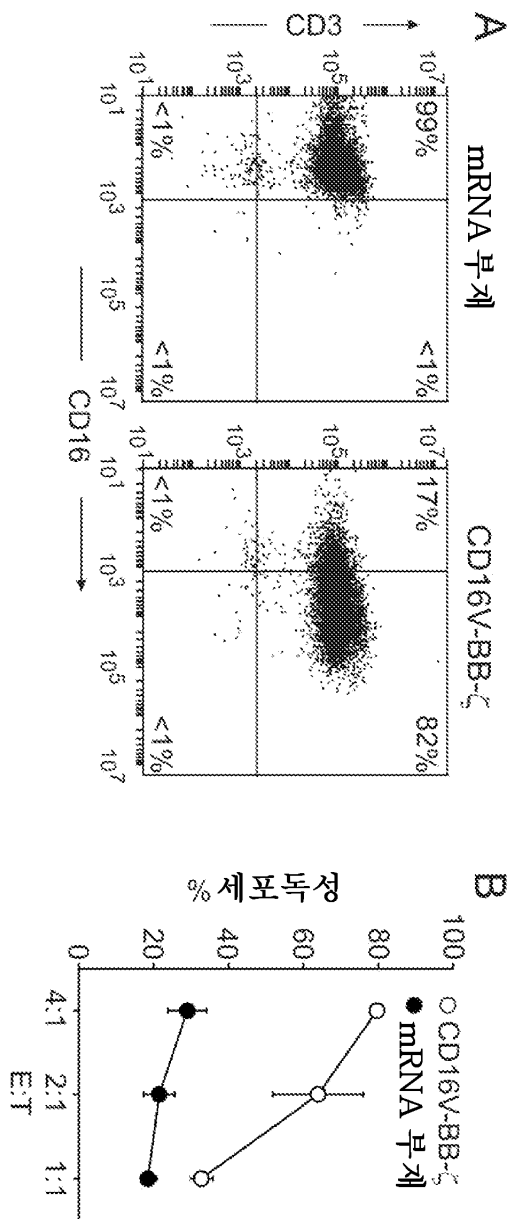
도면13



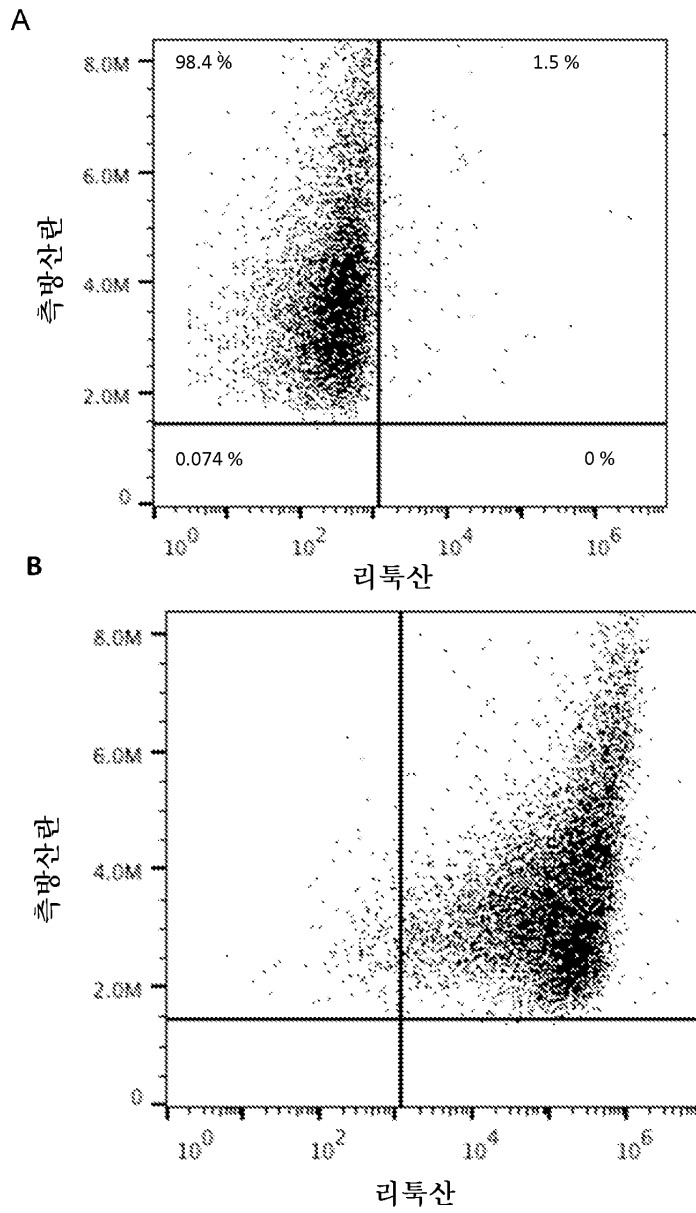
도면14



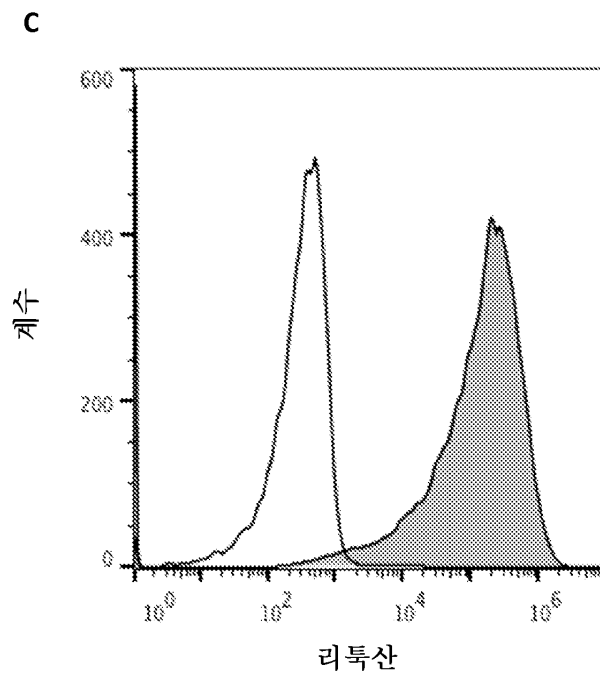
도면15



도면16ab

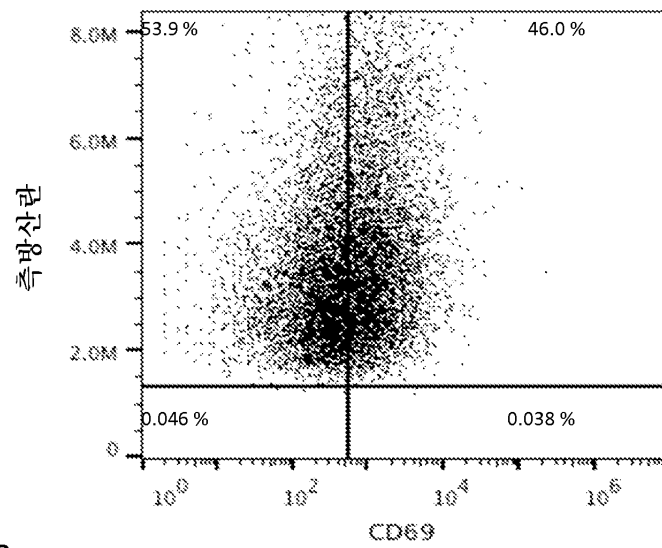


도면16c

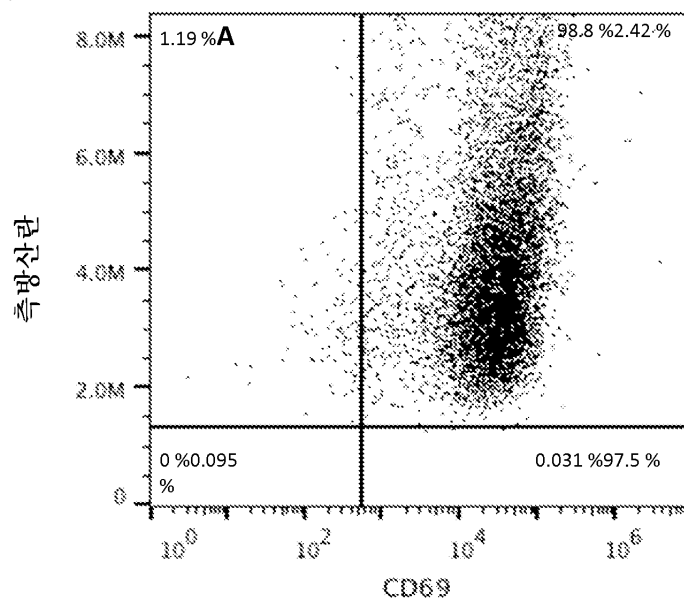


도면17ab

A

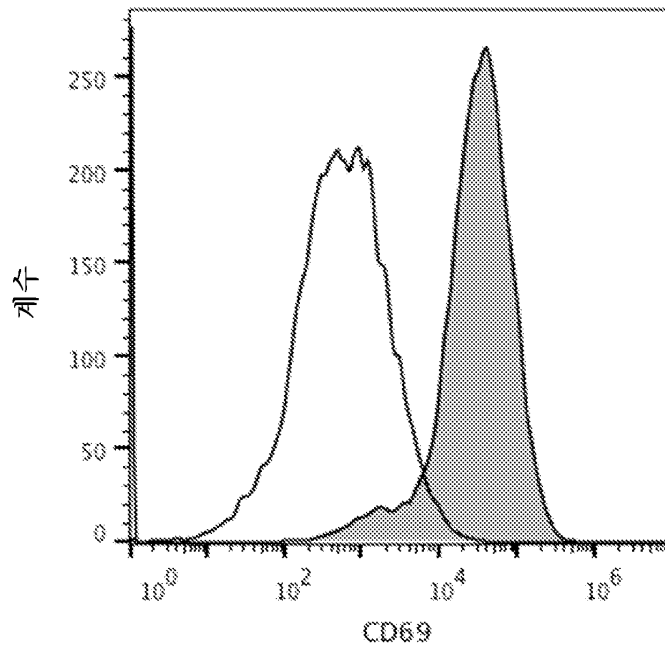


B0.011
%



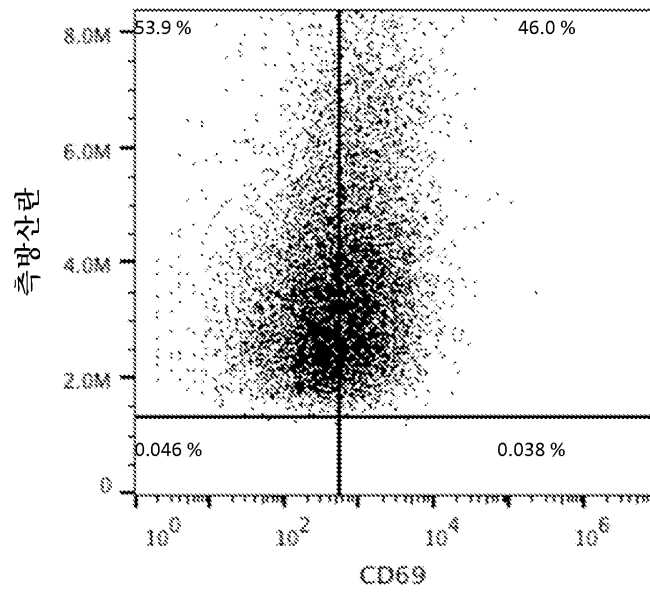
도면17c

c

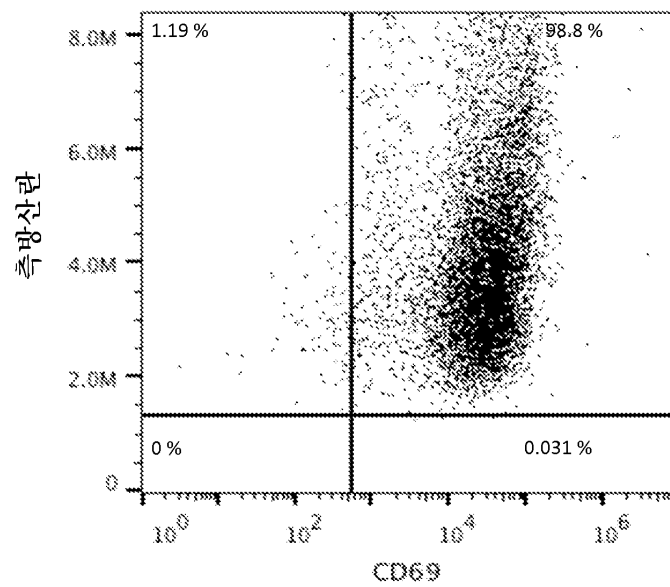


도면18ab

A

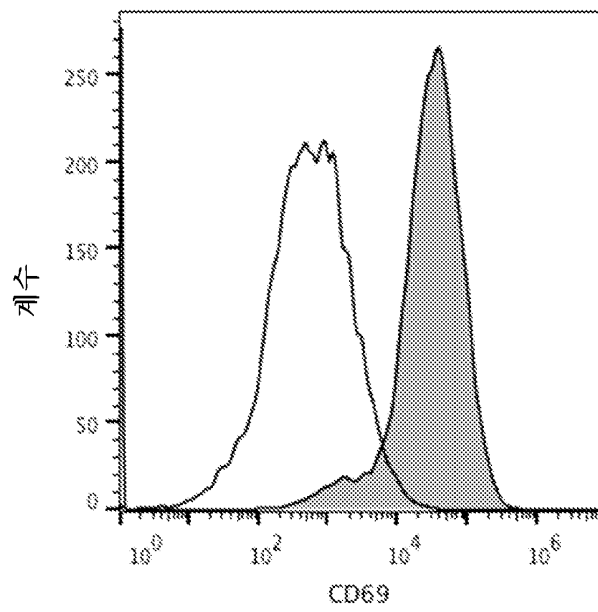


B

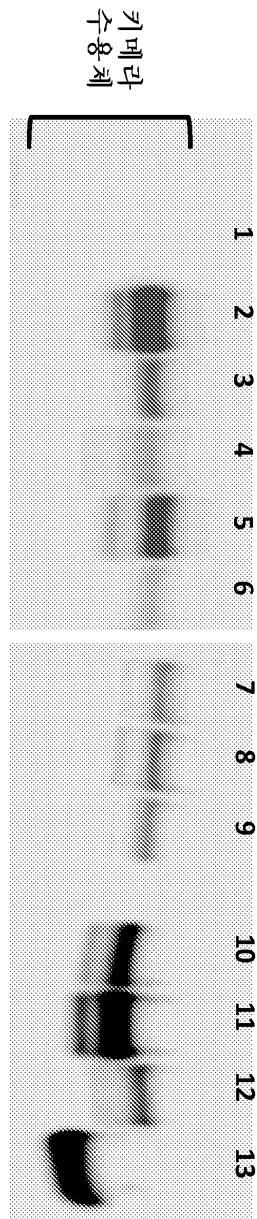


도면18c

c



도면19



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Unum Therapeutics

<120> CHIMERIC RECEPTORS AND USES THEREOF IN IMMUNE THERAPY

<130> U1199.70000W000

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 62/047,916

<151> 2014-09-09

<160> 87

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 1

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205

 Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 210 215 220
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 260 265 270

 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335

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

 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 2
 <211> 442
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 2
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15

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

 Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
 85 90 95
 Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
 100 105 110
 Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
 115 120 125
 Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140

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

180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205

 Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 210 215 220
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu
 260 265 270

 Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly
 275 280 285
 Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
 290 295 300
 Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
 305 310 315 320
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
 325 330 335

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

 Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
 405 410 415
 Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 420 425 430

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

435

440

<210> 3

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 3

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1

5

10

15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20

25

30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35

40

45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50

55

60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65

70

75

80

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

85

90

95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100

105

110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115

120

125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130

135

140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145

150

155

160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165

170

175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180

185

190

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

195 200 205

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn

340 345 350

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg

355 360 365

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro

370 375 380

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala

385 390 395 400

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His

405 410 415

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

420 425 430

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

435 440

<210> 4

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 4

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Leu Ile Ala Leu Val Thr Ser Gly Ala Leu Leu Ala Val Leu
260 265 270

Gly Ile Thr Gly Tyr Phe Leu Met Asn Arg Lys Arg Gly Arg Lys Lys
275 280 285

Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
290 295 300

Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
305 310 315 320

Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
325 330 335

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
340 345 350

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
355 360 365

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
370 375 380

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
385 390 395 400

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
405 410 415

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
420 425 430

Leu Pro Pro Arg
435

<210> 5

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 5

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

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

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

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

 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435

<210> 6

<211> 428

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 6

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ala Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys

20 25 30

Leu Glu Pro Pro Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu

35 40 45

Thr Cys Gln Gly Ala Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe

50 55 60

His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe

65 70 75 80

Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln

85 90 95

Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu

100 105 110

Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met

115 120 125

Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe

130 135 140

Phe Gln Asn Gly Lys Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe

145 150 155 160

Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr

165 170 175

Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr

180 185 190

Val Gln Val Pro Ser Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Thr Thr Thr

195 200 205

Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
210 215 220

Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
225 230 235 240

His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
245 250 255

Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
260 265 270

Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
275 280 285

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
290 295 300

Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
305 310 315 320

Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
325 330 335

Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
340 345 350

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
355 360 365

Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
370 375 380

Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
385 390 395 400

Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
405 410 415

Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
420 425

<210> 7

<211> 435

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 7

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

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

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

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

195 200 205
Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys

225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu

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

 325 330 335
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 340 345 350
 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 355 360 365
 Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 370 375 380
 Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

 385 390 395 400
 Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
 405 410 415
 Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
 420 425 430
 Pro Pro Arg
 435
 <210> 8
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 8

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

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

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

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

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

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
260 265 270

Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Ala Leu Tyr Leu Leu Arg
275 280 285

Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly Gly
290 295 300

Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr
305 310 315 320

Leu Ala Lys Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
325 330 335

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
340 345 350

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
355 360 365

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
370 375 380

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
385 390 395 400

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
405 410 415

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
420 425 430

Leu Pro Pro Arg
435

<210> 9

<211> 477

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 9

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

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

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

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

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

245 250 255
Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu

260 265 270
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Arg Ser Lys Arg Ser Arg

275 280 285
Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro

290 295 300
Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala

305 310 315 320
Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln

325 330 335
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser

340 345 350
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys

355 360 365
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln

370 375 380
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

385 390 395 400
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

405 410 415
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

420 425 430
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly

435 440 445
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

450 455 460
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

465 470 475

<210> 10

<211> 391

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 10

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp

275 280 285

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn

290 295 300

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg

305 310 315 320

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly

325 330 335

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu

340 345 350

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu

355 360 365

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

370 375 380

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

385 390

<210> 11

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 11

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

 Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
 85 90 95
 Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
 100 105 110
 Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
 115 120 125
 Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140

 Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
 145 150 155 160
 Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
 165 170 175
 Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205

 Pro Pro Gly Tyr Gln Gly Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr
 210 215 220
 Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr
 225 230 235 240
 Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser
 245 250 255
 Pro Thr Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu

[illegible]

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

 Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
 85 90 95
 Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
 100 105 110
 Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
 115 120 125
 Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140

 Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
 145 150 155 160
 Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
 165 170 175
 Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205

 Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 210 215 220
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu

[illegible]

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

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

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

260	265	270
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Arg Ser Lys Arg Ser Arg		
275	280	285
Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro		
290	295	300
Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala		
305	310	315
320		
Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln		
325	330	335
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser		
340	345	350
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys		
355	360	365
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln		
370	375	380
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu		
385	390	395
400		
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg		
405	410	415
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met		
420	425	430
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly		
435	440	445
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp		
450	455	460
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
465	470	475
<210> 14		
<211> 437		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 14

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

210 215 220

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

225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu
 260 265 270
 Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Lys Arg Gly Arg Lys
 275 280 285
 Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr

 290 295 300
 Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
 305 310 315 320
 Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
 325 330 335
 Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
 340 345 350
 Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro

 355 360 365
 Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
 370 375 380
 Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
 385 390 395 400
 Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
 405 410 415
 Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln

 420 425 430
 Ala Leu Pro Pro Arg

 435

<210> 15

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 15

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu
260 265 270

Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Arg Ser Lys Arg Ser
275 280 285

Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly
290 295 300

Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala
305 310 315 320

Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
325 330 335

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
340 345 350

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
355 360 365

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
370 375 380

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
385 390 395 400

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
405 410 415

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
420 425 430

Leu Pro Pro Arg
435

<210> 16
<211> 436
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Polypeptide
<400> 16

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

245 250 255
 Cys Asp Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu Phe Leu Tyr Gly Ile
 260 265 270
 Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr

290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

420 425 430
 Leu Pro Pro Arg

435

<210> 17

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 17

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

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

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

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

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

 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255

Cys Asp Leu Leu Leu Ile Leu Leu Gly Val Leu Ala Gly Val Leu Ala
 260 265 270
 Thr Leu Ala Ala Leu Leu Ala Arg Ser Lys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 18
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 18
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30
 Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
 35 40 45
 Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
 50 55 60
 Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
 65 70 75 80
 Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
 85 90 95
 Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
 100 105 110
 Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
 115 120 125
 Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140
 Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
 145 150 155 160
 Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
 165 170 175
 Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205
 Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 210 215 220
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Thr Leu Gly Leu Leu Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu

260 265 270
 Val Ser Leu Gly Val Ala Ile His Leu Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr

 290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

 355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 19
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 19
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30
 Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

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

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

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

 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp
 260 265 270

Thr Gly Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Lys Arg Gly Arg Lys Lys
275 280 285

Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
290 295 300

Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
305 310 315 320

Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
325 330 335

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
340 345 350

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
355 360 365

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
370 375 380

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
385 390 395 400

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
405 410 415

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
420 425 430

Leu Pro Pro Arg
435

<210> 20
<211> 436
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Polypeptide
<400> 20

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

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

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Cys Asp Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Leu

260 265 270

Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Lys Arg Gly Arg Lys Lys

275 280 285
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr

290 295 300
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
305 310 315 320
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
325 330 335
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
340 345 350
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

355 360 365
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
370 375 380
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
385 390 395 400
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
405 410 415
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

420 425 430
Leu Pro Pro Arg

435
<210> 21
<211> 436
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Polypeptide
<400> 21

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr

290 295 300
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
305 310 315 320
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
325 330 335
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
340 345 350
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

355 360 365
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
370 375 380
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
385 390 395 400
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
405 410 415
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

420 425 430
Leu Pro Pro Arg

435
<210> 22
<211> 441
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Polypeptide
<400> 22

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Cys Asp Val Met Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile

260 265 270

Thr Gly Gly Leu Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys

275 280 285
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg

290 295 300
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
305 310 315 320
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
325 330 335
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
340 345 350
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

355 360 365
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
370 375 380
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
385 390 395 400
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
405 410 415
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala

420 425 430
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
435 440

<210> 23

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 23

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val Leu Ala
260 265 270

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

275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350

 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415

 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 24
 <211> 437
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 24
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Gly Ile Ile Val Thr Asp Val Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala
260 265 270

Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His Glu Thr Lys Arg Gly Arg Lys

275 280 285
 Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
 290 295 300
 Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
 305 310 315 320
 Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
 325 330 335
 Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
 340 345 350

 Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
 355 360 365
 Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
 370 375 380
 Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
 385 390 395 400
 Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
 405 410 415

 Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
 420 425 430
 Ala Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 25
 <211> 435
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 25
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe
260 265 270

Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu

275 280 285
 Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
 290 295 300
 Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly
 305 310 315 320
 Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 325 330 335
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 340 345 350

 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 355 360 365
 Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 370 375 380
 Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
 385 390 395 400
 Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
 405 410 415

 Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
 420 425 430
 Pro Pro Arg
 435
 <210> 26
 <211> 438
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 26
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Ile Ile Val Ala Val Val Ile Ala Thr Ala Val Ala Ala Ile
260 265 270

Val Ala Ala Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys Arg Lys Lys Arg Gly Arg

275 280 285
 Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
 290 295 300
 Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
 305 310 315 320
 Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
 325 330 335
 Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
 340 345 350

 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
 355 360 365
 Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
 370 375 380
 Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
 385 390 395 400
 Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
 405 410 415

 Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
 420 425 430
 Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 27
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 27
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Val Leu Phe Tyr Leu Ala Val Gly Ile Met Phe Leu Val Asn
260 265 270

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

275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350

 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415

 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 28
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 28
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Ile Ile Ile Leu Val Gly Thr Ala Val Ile Ala Met Phe Phe
260 265 270

Trp Leu Leu Leu Val Ile Ile Leu Arg Thr Lys Arg Gly Arg Lys Lys

275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350

 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415

 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 29
 <211> 432
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 29
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Leu Gly Trp Leu Cys Leu Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile
260 265 270

Val Trp Val Lys Arg Lys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

275 280 285
 Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
 290 295 300
 Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 305 310 315 320
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 325 330 335
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 340 345 350

 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 355 360 365
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
 370 375 380
 Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 385 390 395 400
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 405 410 415

 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 420 425 430

 <210> 30
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 30
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30

 Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
 35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
 50 55 60
 Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
 65 70 75 80
 Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
 85 90 95
 Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
 100 105 110
 Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
 115 120 125
 Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140
 Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
 145 150 155 160
 Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
 165 170 175
 Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205
 Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 210 215 220
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Ala Ile Tyr Cys Ile Gly Val Phe Leu Ile Ala Cys Met
 260 265 270
 Val Val Thr Val Ile Leu Cys Arg Met Lys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr

290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350

 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415

 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 31
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 31
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30

 Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
 35 40 45
 Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50				55				60							
Trp	Phe	His	Asn	Glu	Ser	Leu	Ile	Ser	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Tyr	Phe
65				70				75				80			
Ile	Asp	Ala	Ala	Thr	Val	Asp	Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Arg	Cys	Gln	Thr
85				90				95							
Asn	Leu	Ser	Thr	Leu	Ser	Asp	Pro	Val	Gln	Leu	Glu	Val	His	Ile	Gly
100				105				110							
Trp	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Arg	Trp	Val	Phe	Lys	Glu	Glu	Asp	Pro
115				120				125							
Ile	His	Leu	Arg	Cys	His	Ser	Trp	Lys	Asn	Thr	Ala	Leu	His	Lys	Val
130				135				140							
Thr	Tyr	Leu	Gln	Asn	Gly	Lys	Gly	Arg	Lys	Tyr	Phe	His	His	Asn	Ser
145				150				155				160			
Asp	Phe	Tyr	Ile	Pro	Lys	Ala	Thr	Leu	Lys	Asp	Ser	Gly	Ser	Tyr	Phe
165				170				175							
Cys	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ser	Lys	Asn	Val	Ser	Ser	Glu	Thr	Val	Asn
180				185				190							
Ile	Thr	Ile	Thr	Gln	Gly	Leu	Ala	Val	Ser	Thr	Ile	Ser	Ser	Phe	Phe
195				200				205							
Pro	Pro	Gly	Tyr	Gln	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro
210				215				220							
Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys
225				230				235				240			
Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala
245				250				255							
Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu
260				265				270							
Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys
275				280				285							
Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr
290				295				300							

Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg
 435
 <210> 32
 <211> 476
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 32
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gln Val Asp Thr Thr Lys Ala Val Ile Thr Leu
 20 25 30
 Gln Pro Pro Trp Val Ser Val Phe Gln Glu Glu Thr Val Thr Leu His
 35 40 45
 Cys Glu Val Leu His Leu Pro Gly Ser Ser Ser Thr Gln Trp Phe Leu
 50 55 60

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

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

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

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

Leu Gln Leu Pro Thr Pro Val Trp Phe His Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
290 295 300
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu

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

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

 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 420 425 430
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 435 440 445
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 450 455 460
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 465 470 475
 <210> 33
 <
 211> 623
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 33
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30
 Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45
 Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

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

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

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

 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ile Tyr Ile
435 440 445
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
450 455 460
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
465 470 475 480
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
485 490 495
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
500 505 510
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
515 520 525
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp

530 535 540
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
545 550 555 560
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp

565 570 575
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
580 585 590
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
595 600 605
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615 620

<210> 34

<211> 510

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 34

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

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

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

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

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

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

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

355 360 365
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys

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

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

500 505 510

<210> 35

<211> 403

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 35

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

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

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

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

 Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
 245 250 255
 Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
 260 265 270
 Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
 275 280 285
 Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr

290 295 300

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 305 310 315 320

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 325 330 335

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 340 345 350

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
 355 360 365

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
 370 375 380

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
 385 390 395 400

Pro Pro Arg

<210> 36

<211> 421

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 36

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

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

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
 35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
 50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
 65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
 85 90 95
 Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
 100 105 110
 Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
 115 120 125
 Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140

 Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
 145 150 155 160
 Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
 165 170 175
 Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205

 Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 210 215 220
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Phe
 225 230 235 240
 Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
 245 250 255
 Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
 260 265 270

 Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
 275 280 285
 Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
 290 295 300
 Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
 305 310 315 320
 Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly

370 375 380

Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln

385 390 395 400

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

405 410 415

Ala Leu Pro Pro Arg

420

<210> 37

<211> 406

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 37

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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

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

 Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
 290 295 300
 Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
 305 310 315 320
 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
 325 330 335
 Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu

340 345 350

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Gln Ala Leu Pro Pro Arg

405

<210> 38

<211> 406

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 38

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140
 Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
 145 150 155 160
 Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
 165 170 175
 Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205
 Pro Pro Gly Tyr Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 210 215 220
 Gly Gly Gly Ser Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
 225 230 235 240
 Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
 245 250 255
 Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
 260 265 270
 Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
 275 280 285
 Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
 290 295 300
 Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
 305 310 315 320
 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
 325 330 335
 Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
 340 345 350
 Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
 355 360 365
 Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr

370 375 380
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
385 390 395 400
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
405
<210> 39
<211> 421
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Polypeptide
<400> 39
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
20 25 30
Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45
Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60
Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80
Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95
Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110
Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125
Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140
Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160
Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

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

 210 215 220
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Gly Ser Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
 245 250 255
 Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
 260 265 270
 Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr

 275 280 285
 Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
 290 295 300
 Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
 305 310 315 320
 Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
 325 330 335
 Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro

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

 405 410 415

Ala Leu Pro Pro Arg

420

<210> 40

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 40

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205
 Pro Pro Gly Tyr Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 210 215 220
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 260 265 270
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 275 280 285
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 290 295 300
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 305 310 315 320
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 325 330 335
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 340 345 350
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 355 360 365
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 370 375 380
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 385 390 395 400
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 405 410 415
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 420 425 430
 Leu Pro Pro Arg

435

<210> 41

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 41

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35

40

45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100

105

110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165

170

175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205
 Pro Pro Gly Tyr Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 210 215 220
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

 225 230 235 240
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 260 265 270
 Ser Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
 275 280 285
 Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu

 290 295 300
 Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
 305 310 315 320
 Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
 325 330 335
 Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg

 355 360 365
 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 370 375 380
 Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 385 390 395 400
 Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
 405 410 415
 Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu

 420 425 430
 Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
 435 440 445

Pro Pro Arg

450

<210> 42

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 42

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205
 Pro Pro Gly Tyr Gln Gly Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr
 210 215 220
 Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr
 225 230 235 240
 Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser Ala Pro Gly Ser Pro Ala Gly Ser
 245 250 255
 Pro Thr Ser Thr Glu Glu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Ser Glu Gly Ser
 260 265 270
 Ala Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
 275 280 285
 Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
 290 295 300
 Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
 305 310 315 320
 Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
 325 330 335
 Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 355 360 365
 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 370 375 380
 Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 385 390 395 400
 Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
 405 410 415
 Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
 420 425 430
 Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu

435 440 445

Pro Pro Arg

450

<210> 43

<211> 421

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 43

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190
Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe

195 200 205
Pro Pro Gly Tyr Gln Gly Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr

210 215 220
Glu Glu Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser Gly Pro Gly Thr

225 230 235 240
Ser Thr Glu Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val

245 250 255
Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys

260 265 270
Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr

275 280 285
Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu

290 295 300
Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro

305 310 315 320
Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly

325 330 335
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro

340 345 350
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr

355 360 365
Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly

370 375 380
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln

385 390 395 400
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln

405 410 415
Ala Leu Pro Pro Arg

420

<210> 44

<211> 406

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 44

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205

Pro Pro Gly Tyr Gln Gly Gly Ser Pro Ala Gly Ser Pro Thr Ser Thr

210

215

220

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

225

230

235

240

Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

290

295

300

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

305

310

315

320

Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

325

330

335

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

340

345

350

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile

355

360

365

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

370

375

380

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

385

390

395

400

Gln Ala Leu Pro Pro Arg

405

<210> 45

<211> 433

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 45

Met Leu Arg Leu Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val

1 5 10 15

Thr Gly Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu

20 25 30

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

35 40 45

Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His

50 55 60

Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu

100 105 110

Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu

115 120 125

Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu

130 135 140

Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr

210 215 220

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

225 230 235 240

Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
245 250 255

Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser
260 265 270

Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
275 280 285

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
290 295 300

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
305 310 315 320

Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
325 330 335

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
340 345 350

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
355 360 365

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
370 375 380

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
385 390 395 400

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
405 410 415

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
420 425 430

Arg

<210> 46

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 46

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

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

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

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

Leu Pro Pro Arg
 435

<210> 47

<211> 431

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 47

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Val Ser Ala

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

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

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

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

 Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
 245 250 255

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
260 265 270

Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
275 280 285

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
290 295 300

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
305 310 315 320

Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
325 330 335

Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
340 345 350

Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
355 360 365

Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
370 375 380

Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
385 390 395 400

Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
405 410 415

Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
420 425 430

<210> 48

<211> 432

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 48

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

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

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
260 265 270

Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Cys Trp Leu Thr Lys Lys

275 280 285
Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met
290 295 300

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

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

<210> 49

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 49

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

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

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

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

 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 260 265 270
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Gln Arg Arg Lys Tyr Arg
 275 280 285
 Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu Pro Ala Glu Pro Cys Arg Tyr

290 295 300
 Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser Thr Ile Pro Ile Gln Glu Asp
 305 310 315 320
 Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser Pro Arg Val Lys Phe Ser Arg
 325 330 335
 Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
 340 345 350
 Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
 355 360 365

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

 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 435 440
 <210> 50
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 50
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30
 Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
 35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
 50 55 60
 Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
 65 70 75 80
 Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
 85 90 95
 Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
 100 105 110
 Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
 115 120 125
 Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140
 Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
 145 150 155 160
 Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
 165 170 175
 Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205
 Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 210 215 220
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 260 265 270
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Gln Leu Gly Leu His Ile
 275 280 285
 Trp Gln Leu Arg Ser Gln Cys Met Trp Pro Arg Glu Thr Gln Leu Leu

290 295 300
 Leu Glu Val Pro Pro Ser Thr Glu Asp Ala Arg Ser Cys Gln Phe Pro
 305 310 315 320
 Glu Glu Glu Arg Gly Glu Arg Ser Ala Glu Glu Lys Gly Arg Leu Gly
 325 330 335
 Asp Leu Trp Val Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 340 345 350
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg

 355 360 365
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 370 375 380
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 385 390 395 400
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 405 410 415
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

 420 425 430
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 435 440 445
 Leu Pro Pro Arg
 450
 <210> 51
 <211> 454
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 51
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

 20 25 30
 Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

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

 85 90 95
 Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
 100 105 110
 Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
 115 120 125
 Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
 130 135 140
 Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

 145 150 155 160
 Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
 165 170 175
 Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
 180 185 190
 Ile Thr Ile Thr Gln Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe
 195 200 205
 Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

 210 215 220
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 225 230 235 240
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 245 250 255
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 260 265 270
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Cys Val Lys Arg Arg Lys

 275 280 285

Pro Arg Gly Asp Val Val Lys Val Ile Val Ser Val Gln Arg Lys Arg

290 295 300

Gln Glu Ala Glu Gly Glu Ala Thr Val Ile Glu Ala Leu Gln Ala Pro

305 310 315 320

Pro Asp Val Thr Thr Val Ala Val Glu Glu Thr Ile Pro Ser Phe Thr

325 330 335

Gly Arg Ser Pro Asn His Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

340 345 350

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

355 360 365

Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

370 375 380

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

385 390 395 400

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Gln Ala Leu Pro Pro Arg

450

<210> 52

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 52

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

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

275 280 285
 Lys Glu Val Gln Gln Leu Ser Val Ser Phe Ser Ser Leu Gln Ile Lys
 290 295 300
 Ala Leu Gln Asn Ala Val Glu Lys Glu Val Gln Ala Glu Asp Asn Ile
 305 310 315 320
 Tyr Ile Glu Asn Ser Leu Tyr Ala Thr Asp Arg Val Lys Phe Ser Arg

 325 330 335
 Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
 340 345 350
 Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
 355 360 365
 Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
 370 375 380
 Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala

 385 390 395 400
 Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
 405 410 415
 Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 420 425 430
 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 435 440
 <210> 53
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide

 <400> 53
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val
 20 25 30
 Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45
 Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
 50 55 60

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

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

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

 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 260 265 270
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Tyr Lys Val Gly Phe Phe
 275 280 285

Lys Arg Asn Leu Lys Glu Lys Met Glu Ala Gly Arg Gly Val Pro Asn
290 295 300

Gly Ile Pro Ala Glu Asp Ser Glu Gln Leu Ala Ser Gly Gln Glu Ala
305 310 315 320

Gly Asp Pro Gly Cys Leu Lys Pro Leu His Glu Lys Asp Ser Glu Ser
325 330 335

Gly Gly Gly Lys Asp Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
340 345 350

Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
355 360 365

Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
370 375 380

Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
385 390 395 400

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
405 410 415

Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
420 425 430

Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
435 440 445

Ala Leu Pro Pro Arg
450

<210> 54

<211> 510

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 54

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

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

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val
35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln
50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Thr Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr
85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly
100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro
115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val
130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser
145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe
165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn
180 185 190

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

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
210 215 220

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
225 230 235 240

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
245 250 255

Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
260 265 270

Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Lys Lys Gln Arg

275 280 285
 Ser Arg Arg Asn Asp Glu Glu Leu Glu Thr Arg Ala His Arg Val Ala
 290 295 300

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

Gln Gln Lys Gly Pro Pro Leu Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys Pro
 370 375 380
 Pro His Gly Ala Ala Glu Asn Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn Arg Val
 385 390 395 400
 Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 405 410 415
 Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 420 425 430

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

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 500 505 510

<210> 55

<211> 365

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 55

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

50 55 60

Trp Phe His Asn Glu Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Leu Ser Thr Leu Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly

100 105 110

Trp Leu Leu Leu Gln Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro

115 120 125

Ile His Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val

130 135 140

Thr Tyr Leu Gln Asn Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser

145 150 155 160

Asp Phe Tyr Ile Pro Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe

165 170 175

Cys Arg Gly Leu Val Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn

180 185 190

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

195 200 205

Pro Pro Gly Tyr Gln Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Gly Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile Gln Val Arg

275 280 285

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

290 295 300

Leu Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu Thr Leu Lys His Glu Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

355 360 365

<210> 56

<211> 366

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 56

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val

20 25 30

Val Phe Leu Glu Pro Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val

35 40 45

Thr Leu Lys Cys Gln Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln

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

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

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

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

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

<210> 57

<211> 192

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 57

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

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

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

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
 145 150 155 160
 Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
 165 170 175

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
 180 185 190

<210> 58

<211> 69

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 58

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

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
 35 40 45
 Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
 50 55 60

Ile Thr Leu Tyr Cys

65

<210> 59

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 59

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
 1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
 20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35

40

<210> 60

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 60

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

<210> 61

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 61

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1

5

10

15

His Ala Ala Arg Pro

20

<210> 62

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 62

cttctgcagg gggcttgttg ggagtaaaaa tgtgtc 36

<210> 63

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 63

gacacatttt tactccaac aagccccctg cagaag 36

<210> 64

<211> 1311

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 64

atggccttac cagtgaccgc cttgtctctg ccgctggcct tgcgtctcca cgccgccagg 60

ccgggcatgc ggactgaaga tctcccaaag gctgtggtgt tcctggagcc tcaatggtac 120

agggtgctcg agaaggacag tgtgactctg aagtgccagg gagcctactc ccctgaggac 180

aattccacac agtggtttca caatgagagc ctcatctcaa gccaggcctc gagctacttc 240

attgacgctg ccacagtga cgacagtga gtagacaggt gccagacaaa cctctccacc 300

ctcagtgaac cgggtgcagct agaagtccat atcggtggc tgttgcctca ggccccctcg 360

tgggtgttca aggaggaaga ccctattcac ctgagggtgc acagctggaa gaacactgct 420

ctgcataagg tcacatattt acagaatggc aaaggcagga agtattttca tcataattct 480

gacttctaca ttccaaaagc cactcaaaa gacagcggct cctacttctg cagggggcctt 540

gttgggagta aaaatgtgtc ttacagagact gtgaacatca ccatcactca aggtttggca 600

gtgtcaacca tctcatcatt tttccacct gggtacaaaa ccacgacgcc agcgccgcga 660

ccaccaacac cggcgccccc catcgctcg cagccccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 720

cggccagcgg cggggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcctg tgatatctac 780

atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg gtccttctcc tgtcactggt tatcacctt 840
tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatatcca aacaaccatt tatgagacca 900

gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 960
ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc 1020
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 1080
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 1140
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1200
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1260
accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc cccctcgcta a 1311

<210> 65

<211> 576

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 65

ggcatgcgga ctgaagatct cccaaaggct gtggtgttcc tggagcctca atggtacagg 60
gtgctcgaga aggacagtgt gactctgaag tgccaggag cctactcccc tgaggacaat 120
tccacacagt ggtttcacaa tgagagcctc atctcaagcc aggcctcgag ctacttcatt 180
gacgtgccca cagtcgacga cagtggagag tacaggtgcc agacaaacct ctccaccctc 240
agtgaccggg tgcagctaga agtccatata ggctggctgt tgctccaggc ccctcggtgg 300
gtgttaagg aggaagaccc tattcacctg aggtgtcaca gctggaagaa cactgctctg 360

cataaggtea catatttaca gaatggcaaa ggcaggaagt attttcatca taattctgac 420
ttctacattc caaaagccac actcaaagac agcggctcct acttctgcag ggggcttgtt 480
gggagtaaaa atgtgtcttc agagactgtg aacatcacca tcaactcaagg ttggcagtg 540
tcaaccatct catcattctt tccacctggg taccaa 576

<210> 66

<211> 207

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 66

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgctc gcagccctg 60

tccttcgccc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg	120
gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg cccttgccg ggacttgtgg ggtccttctc	180
ctgtcactgg ttatcacccct ttactgc	207
<210> 67	
<211> 126	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Polynucleotide	
<400> 67	
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacac catttatgag accagtacaa	60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt	120
gaactg	126
<210> 68	
<211> 339	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Polynucleotide	
<400> 68	
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc	60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc	120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctgaggaagg cctgtacaat	180
gaactgcaga aagataagat ggcgagggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc	240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc	300
tacgacgcc ttacatgca ggccctgccc cctcgctaa	339
<210> 69	
<211> 63	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Polynucleotide	
<400> 69	
atggccttac cagtgaccgc cttgtcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg	60
ccg	63

<210> 70

<211> 192

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 70

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
1 5 10 15

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
20 25 30

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
50 55 60

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
85 90 95

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
100 105 110

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
115 120 125

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
130 135 140

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Phe
145 150 155 160

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
165 170 175

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
180 185 190

<210> 71

<211> 1311

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 71

```

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg      60
ccgggcatgc ggactgaaga tctcccaaag gctgtggtgt tcctggagcc tcaatggtac    120
agggtgctcg agaaggacag tgtgactctg aagtgccagg gagcctactc ccctgaggac    180
aattccacac agtggtttca caatgagagc ctcatctcaa gccaggcctc gagctacttc    240
attgacgctg ccacagtcca cgacagtgga gactacaggt gccagacaaa cctctccacc    300
ctcagtgacc cgggtgcagct agaagtccat atcggctggc tgttgctcca ggcccctcgg    360
tgggtgttca aggaggaaga ccctattcac ctgaggtgtc acagctggaa gaacactgct    420

ctgcataagg tcacatattt acagaatggc aaaggcagga agtattttca tcataattct    480
gacttctaca ttccaaaagc cactctcaa gacagcggct cctacttctg cagggggcctt    540
tttgggagta aaaaatgtgtc ttccagagct gtgaacatca ccatcactca aggtttggca    600
gtgtcaacca tctcatcatt ctttcacct gggtacaaa ccacgacgcc agcgcccgca    660
ccaccaacac cggcgccac catcgctcg cagcccctgt ccctgcgcc agaggcgtgc    720
cggccagcgg cggggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcctg tgatatctac    780
atctgggcgc ctttggccgg gacttgtggg gtccttctcc tgtcactggt taccacctt    840

tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatatcca aacaaccatt tatgagacca    900
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga    960
ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg agcgacagc ccccgcgta ccagcagggc    1020
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttgac    1080
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa    1140
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg    1200
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc    1260

accaaggaca cctacgacgc cttcacatg caggccctgc cccctcgcta a              1311

```

<210> 72

<211> 576

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 72
 ggcatgcgga ctgaagatct cccaaaggct gtggtgttcc tggagcctca atggtacagg 60
 gtgctcgaga aggacagtgt gactctgaag tgccaggagag cctactcccc tgaggacaat 120
 tccacacagt ggtttcacaa tgagagcctc atctcaagcc aggcctcgag ctacttcatt 180
 gacgctgcca cagtcgacga cagtggagag tacaggtgcc agacaaacct ctccaccctc 240
 agtgaccceg tgcagctaga agtccatatc ggctggctgt tgctccaggc ccctcgggtg 300

glgttcaagg aggaagaccc tattcacctg aggtgtcaca gctggaagaa cactgctctg 360
 cataagtgca catatttaca gaatggcaaa ggcaggaagt attttcatca taattctgac 420
 ttctacattc caaaagccac actcaaagac agcggctcct acttctgcag ggggcttttt 480
 gggagtaaaa atgtgtcttc agagactgtg aacatcacca tcactcaagg tttggcagtg 540
 tcaaccatct catcattctt tccacctggg taccaa 576

<210> 73

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 73

cttctgcagg gggcttgttg ggagtaaaaa tgtgtc 36

<210> 74

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polynucleotide

<400> 74

gacacatddd tactcccaac aagccccctg cagaag 36

<210> 75

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 75

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Val Ser Ala

1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

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

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp
225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
245 250

<210> 76

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 76

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400>

> 77

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

1 5 10 15

<210> 78

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 78

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 79

<211>

> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 79

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40 45

<210> 80

<211> 60

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45

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

50 55 60

<210> 81

<211> 75

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 81

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

65 70 75

<210> 82

<211> 150

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Ser

145 150

<210> 83

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 83

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ser

225

<210> 84

<211> 300

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 210 215 220
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 245 250 255

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 260 265 270
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 275 280 285
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 290 295 300

<210> 85

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 85

Glu Thr Gln Arg Cys Thr Trp His Met Gly Glu Leu Val Trp Cys Glu

1 5 10 15

Arg Glu His Asn

20

<210> 86

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 86

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

1 5 10 15

Ala Gly Val Glu

20

<210> 87

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 87

Asp Cys Ala Trp His Leu Gly Glu Leu Val Trp Cys Thr

1

5

10