(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0071740
(43) 공개일자 2020년06월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6806 (2018.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 14/705* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *C12N 15/10* (2017.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6806 (2018.05)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2020-7012453
(22) 출원일자(국제) 2018년09월28일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년04월28일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/053583
(87) 국제공개번호 WO 2019/068007
국제공개일자 2019년04월04일
(30) 우선권주장
62/564,454 2017년09월28일 미국(US)
62/649,429 2018년03월28일 미국(US)

(71) 출원인
임팩트-바이오 리미티드.
이스라엘 7403635 네스-지오나 일란 라몬 스트리트 2
가비쉬-가릴리 바이오 어플리케이션스 리미티드.
이스라엘 1101602 키리야트시모나 피.오.박스 831
(72) 발명자
그로스 기드온
이스라엘 1292200 모샤브 알마고르 엠.피. 코라짐 III-1-5 어드레스
깁슨 윌
이스라엘 7403635 네스-지오나 피.오. 박스 4044 일란 라몬 스트리트 2 임팩트-바이오 리미티드 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 66 항

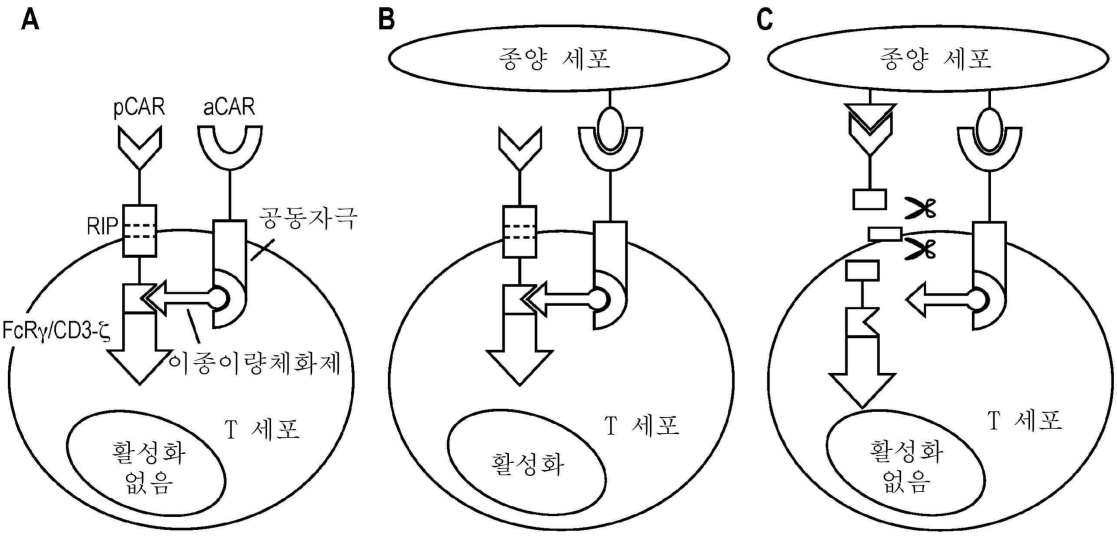
(54) 발명의 명칭 **저해성 키메라 항원 수용체 (ICAR)를 제조하기 위한 보편적 플랫폼**

(57) 요 약

본 발명은 효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호 키메라 항원 수용체 (pCAR)를 제조하기 위한 표적을 식별하는 방법을 제공한다.

또한, iCAR 표적의 목록뿐만 아니라, 핵산 분자를 포함하는 형질도입된 효과기 면역 세포 및 벡터 및 상기 형질도입된 효과기 면역 세포를 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법이 제공된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C07K 14/70521 (2013.01)
C07K 14/70578 (2013.01)
C07K 16/28 (2013.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
C07K 16/2833 (2013.01)
C12N 15/1055 (2013.01)
C12N 15/1093 (2013.01)
C12Q 2535/131 (2019.08)
C12Q 2600/156 (2013.01)
(72) 발명자
다하리 드비르
이스라엘 7403635 네스-지오나 피.오. 박스 4044 일란 라몬 스트리트 2 임팩트-바이오 리미티드 내
베이만 메라브
이스라엘 7403635 네스-지오나 피.오. 박스 4044 일란 라몬 스트리트 2 임팩트-바이오 리미티드 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호 키메라 항원 수용체 (pCAR)를 제조하기 위한 표적을 식별하는 방법으로서, 상기 표적은 하기를 포함하는 방법에 의해 식별되는, 방법:

(i) 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 단백질을 암호화하는 적어도 2개의 발현된 대립유전자를 갖는 유전자를 식별하는 단계;

(ii) 상기 발현된 대립유전자 중 적어도 하나가 세포외 다형성 에피토프 기준 서열에 비해 세포외 다형성 에피토프 서열에서의 아미노산 서열 변화를 나타내는 것을 확인하는 단계;

(iii) 상기 유전자가 종양 유형에서 이형접합성 상실 (LOH)을 겪는 염색체 영역에 위치하는 것을 확인하는 단계; 및

(iv) 상기 유전자가, 염색체 영역이 LOH를 겪는 것으로 밝혀진 종양 유형의 기원 조직에서 발현되는 것을 확인하는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 LOH 위치는 치환, 결실 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 LOH 위치는 SNP인, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA 유전자인, 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA_DQ, 또는 HLA-DR 유전자인, 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-A 유전자인, 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-B 유전자인, 방법.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-C 유전자인, 방법.

청구항 9

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-G 유전자인, 방법.

청구항 10

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-E 유전자인, 방법.

청구항 11

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-F 유전자인, 방법.

청구항 12

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-K 유전자인, 방법.

청구항 13

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-L 유전자인, 방법.

청구항 14

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-DM 유전자인, 방법.

청구항 15

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-DO 유전자인, 방법.

청구항 16

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-DP 유전자인, 방법.

청구항 17

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-DQ 유전자인, 방법.

청구항 18

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-DR 유전자인, 방법.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1, 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 20

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO, 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 21

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA,

IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1, 및 ZPLD1로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 22

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1, 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 23

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLCO6A1, SV2C, TENM2, TIMD4, 및 UGT3A1로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 24

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1, 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 25

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN, 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 26

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLCO5A1, TNFRSF10A, 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 27

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2, 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 28

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B, 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 29

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18, 및 ZP1로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 30

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO1B7, SLCO1C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8, 및 VSIG10로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 31

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6, 및 TNFRSF19로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 32

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4, 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 33

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRNB4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSMD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1, 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 34

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM,

ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219, 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 35

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRNB1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2, 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 36

제5항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15, 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 37

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR1I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B, 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 38

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4, 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 39

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2, 및 UMODL1로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 40

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6, 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 41

제1항에 있어서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4, 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양은 유방 종양, 전립선 종양, 난소 종양, 자궁경부 종양, 피부 종양, 췌장 종양, 결장직장 종양, 신장 종양, 간 종양, 뇌 종양, 림프종, 백혈병, 폐 종양 및 신경교종으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 43

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양은 부신 종양, 신장 종양, 흑색종, DLBC, 유방 종양, 육종, 난소 종양, 폐 종양, 방광 종양 및 간 종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 부신 종양은 부신피질 암종인, 방법.

청구항 45

제43항에 있어서, 상기 신장 종양은 비염색 신장 세포 암종인, 방법.

청구항 46

제43항에 있어서, 상기 흑색종은 포도막 흑색종인, 방법.

청구항 47

안전한 효과기 면역 세포로서, (i) 제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 따른 iCAR 또는 pCAR 및 (ii) 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR)를 발현하는, 안전한 효과기 면역 세포.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 aCAR은 종양-관련 항원 또는 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 효과기 면역 세포.

청구항 49

제47항에 있어서, 상기 aCAR은 종양-관련 단백질, 표 1에 열거된 CAR 표적, 상기 iCAR이 또한 발현되는 종양 조직에서 발현되는 임의의 세포 표면 단백질에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 효과기 면역 세포.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 비다형성 세포 표면 에피토프는 CD19, CD20, CD22, CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Igκ, ROR1, ROR2, CD30, LewisY, CD33, CD34, CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2, GD3, hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR-α, L1-CAM, ErbB2,3,4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13Rα2, FAP, Mesothelin, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGE-A1, MUC1, MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80, CD89, CDH17, CLD18, GPC3, TEM8, TGFB1, NY-ESO-1, WT-1 및 EGFR로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안전한 효과기 면역 세포.

청구항 51

제47항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안전한 효과기 면역 세포는 자가 또는 보편적인 (동종이계) 효과기 세포인, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 52

제47항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 안전한 효과기 면역 세포는 T 세포, 자연 살해 세포 및 사이토카인-유도 살해 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 53

제47항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 iCAR 또는 pCAR의 발현 수준은 상기 aCAR의 발현 수준 이상인, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 54

제47항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 iCAR 또는 pCAR은 제1 벡터에 의해 발현되고 상기 aCAR은 제2 벡터에 의해 발현되는, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 55

제47항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 iCAR 또는 pCAR 및 상기 aCAR은 모두 동일한 벡터에 의해 발현되는, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 상기 iCAR 또는 pCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치하는, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 57

제55항에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열은, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR 또는 pCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드를 포함하는, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 58

제57항에 있어서, 상기 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드는 토세아 아시그나 바이러스 (TaV)로부터의 T2A, 구제역 바이러스 (FMDV)로부터의 F2A, 에퀸 리니티스 A 바이러스 (ERAV)로부터의 E2A 및 돼지 테스코바이러스-1 (PTV1)로부터의 P2A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 59

제55항에 있어서, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 가요성 링커를 통해 상기 iCAR 또는 pCAR에 연결되는, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 60

제47항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 aCAR은 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 61

제60항에 있어서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는, 예를 들어 CD3ζ 또는 FcRγ 사슬의 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM)와 상동성인, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 62

제60항에 있어서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 활성화 살해 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR), 예를 들어 KIR2DS 및 KIR3DS와 상동성인, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 63

제60항에 있어서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 어댑터 분자, 예를 들어 DAP12와 상동성인, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 64

제60항에 있어서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40) 또는 GITR의 공동자극 신호전달 요소와 상동성인, 안전한 면역 효과기 세포.

청구항 65

LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제64항 중 어느 한 항에 따른 iCAR을 발현하는 안전한 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 66

LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 제47항 내지 제64항 중 어느 한 항에 따른 안전한 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본원은 2017년 9월 28일에 출원된 미국 가출원 제62/564,454호, 및 2018년 3월 28일에 출원된 미국 가출원 제62/649,429호에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각은 원용에 의해 본원에 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 특허 출원은, ASCII 형식으로 전자적으로 제출되었으며 그 전체 내용이 원용에 의해 본원에 포함된 서열 목록을 포함한다. 2018년 9월 27일에 작성된 상기 ASCII 사본은 120575-5003_ST25.txt로 명명된다.

[0005] ASCII 표

[0006] 본원이 우선권을 주장하는 가출원은 긴 표 섹션을 포함한다. 상기 표의 사본은 2018년 3월 28일에 출원된 우선권 미국 가출원 제62/649,429호와 함께 ASCII 형식으로 콤팩트 디스크로 미국 특허청에 제출되었으며, 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 실시에 사용될 수 있다. 2018년 3월 28일에 작성된 상기 ASCII 표는 다음과 같다: 120575-5003-PR allCandExt1167Genes_5003_PR.txt, 272,719,870 bytes.

[0007] 기술분야

[0008] 본 발명은, 종양 세포의 표면에 발현되는 항원을 인식하는 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR), 정상 세포에 의해 발현되지만 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양에 의해서는 발현되지 않는 동일하거나 다른 세포 표면 항원의 대립유전자 변이체에 대해 지시된 억제성 CAR (iCAR) 및 보호 CAR (pCAR)을 사용하는, 입양 세포 전달에 의한 암 면역요법 분야에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0009] 종양 세포에 의해 독점적으로 발현되며 건강한 조직에 의해서는 발현되지 않는 표적화가능한 항원의 식별이 현재의 암 면역요법의 주요 도전 과제임은 의심할 여지가 없다. 암 치료를 위해 T 세포를 활용하기 위한 매우 다양한 접근법을 평가하는 수많은 연구로부터, T 세포가 종양 세포를 근절할 수 있다는 임상적 증거가 나왔다 (문헌 [Rosenberg and Restifo, 2015]). 이들 접근법은 공여자 림프구 주입을 통한 골수 이식, 종양 침윤성 림프구 (TIL)의 입양 전달, CAR (문헌 [Gross and Eshhar, 2016a]) 또는 T 세포 수용체 (TCR)를 통해 지정된 항원으로 유전적으로 재지시된 T 세포를 이용한 치료, 면역 체크포인트 억제제 또는 능동 백신 접종의 사용을 활용한다. 이들 중, 유전자 조작된 T 세포 및 능동 면역화를 위한 상이한 전략의 사용은, 지속적인 임상 반응을 나타내면서도 부작용을 최소화할 가능성이 있는 후보 항원에 대한 기존 정보를 수반한다. 그러나 S. Rosenberg의 최근 보고서의 명칭에 기술된 바와 같이, "적합한 표적을 찾는 것이 암 유전자 요법의 주요 장애물이다" (문헌 [Rosenberg, 2014]).

[0010] 키메라 항원 수용체 (또는 CAR)를 사용하여 선택된 항원에 대해 지시된 T 세포 (또는 면역계의 다른 살해 세포, 예를 들어 자연 살해 (NK) 세포 및 사이토카인-유도 살해 세포)를 MHC-독립적 방식으로 유전적으로 재지시시키는 개념은 Gross와 Eshhar에 의해 1980년대 후반에 처음 소개되었다 (문헌 [Gross 등, 1989]). 이들은 가요성 힌지 및 막횡단 표준적 모티프를 통해 T 세포를 활성화할 수 있는 CD3-ζ 또는 FcRγ 사슬의 면역수용체 티로신계 활성화 모티프를 포함하는 신호전달 성분에 융합된 세포외 단일쇄 항체 가변 단편 (scFv)을 암호화하는 키메라 유전자로부터 합성적으로 생산된다. 현재, CAR은 수십개의 임상 시험에서 검사되고 있으며 지금까지 B 세포 악성 종양에서 매우 높은 효능을 나타내었다 (문헌 [Dotti 등, 2014; Gill and June, 2015; Gross and Eshhar, 2016a]). CAR-T 세포 요법의 안전성은, 일반적으로, 종양과 건강한 조직을 구별하는 능력에 의해 결정된다. 임상 및 전임상 연구에서 보고된 자가면역 부작용의 주요 위험과 직접적인 원인은 표적 항원의 종양외 발현으로

인한 종양-외 (off-tumor), 표적-상 (on-target) 독성이다 (본 발명자들의 최근 보고서인 [문헌 Gross 및 Eshhar, 2016b] 및 [문헌 Klebanoff 등, 2016]에서 자세히 다루고 있음). 이러한 위험과 관련하여, CAR 요법에 대해 최근 임상적으로 또는 전임상적으로 시험된, 공유되는 돌연변이되지 않은 세포 표면 항원은 일반적으로 조직 분포 및 발현 방식에 따라 다음과 같은 다수의 범주로 나뉠 수 있다:

[0011] - 엄격하게 종양 특이적인 항원. 이 군에서 이미 임상적으로 검사되고 있는 유일한 구성원은 아마도, 교모세포종에서 자주 과발현되며 비소 세포 폐 암종 및 전립선, 유방, 두경부 및 난소 암에서 또한 발견되지만 정상 조직에서는 발견되지 않는 표피 성장 인자 수용체 (EGFRvIII)의 변이체 III일 것이다.

[0012] - 종양 및 필수적이지 않은 건강한 조직에 발현되는 표면 항원. 이 군의 잠재적인 CAR 항원은 주로 B 세포 계통으로 제한되는 분화-관련 분자이다. 이들 (및 수많은 임상 시험에서의 표적 항원) 중에서 두드러지는 것은, B 세포 분화에서 매우 초기에 획득되고 B 세포 수용체 (BCR)에 의한 신호전달에 관여하는 범-B 세포 마커 (pan-B cell marker)인 CD19이다. 막 전립선 항원은 이 범주 내에서 다른 부류의 항원을 구성한다.

[0013] - 비악성 종양-촉진 세포에 의해 전형적으로 발현되는 항원. 이러한 항원 중 하나는 다양한 원발성 및 전이성 암에서 종양-관련 섬유아세포에 의해 거의 항상 발현되는 세포 표면 세린 프로테아제인 섬유아세포 활성화 단백질 (FAP)이다. 또 다른 항원은 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)이며, 이는 종양 혈관형성 동안 고도로 발현되고, 많은 필수적인 기관의 혈관 및 림프 내피 세포에서 일반적으로 발현된다.

[0014] - 필수적인 건강한 조직과 공유되는 종양 관련 항원 (TAA).

[0015] 전임상 및 임상 연구에서 현재 평가되고 있는 대부분의 다른 TAA는 종양에 의해 과발현되지만, 필수적인 정상 조직에도, 일반적으로 더 낮은 수준으로, 존재한다.

[0016] CAR T 세포 요법에서 자가면역을 다루기 위해 고안된 광범위한 전략은, 손상이 이미 명백한 경우 전달된 T 세포를 제거하거나 억제하기 위한 전략 (반응적 조치) 및 애당초에 잠재적인 손상을 방지하기 위한 전략 (사전 조치)으로 나뉠 수 있다 (문헌 [Gross and Eshhar, 2016a]). 반응적 접근법은 종종 자살 유전자, 예를 들어 단순 헤르페스 바이러스 티미딘 키나제 (HSV-tk), 및 절단된 인간 카스파제 9 및 돌연변이된 FK506-결합 단백질을 포함하는 융합 폴리펩티드인 iC9를 사용한다. 다른 접근법은, 혼란을 일으키는 조작된 세포를 선택적으로 제거하기 위한 항체, 또는 최근에 입증된 바와 같이, CAR 인식 모이어티와 세포내 신호전달 도메인의 결합을 통제하는 이종이량체화 소분자 작용제를 사용한다 (문헌 [Wu 등, 2015]). 일부 사전 조치는 CAR T 세포의 생체내 지속성 또는 기능을 제한하도록 설계 (예를 들어, 유전자 전달을 위한 mRNA 전기천공의 사용)된 반면, 다른 것들은 비종양 조직의 손상을 피하기 위해 치료 CAR의 항원 선택성을 증가시키는 주요 도전 과제를 직접적으로 해결한다. 이들 중 다음 2개는, CAR T 세포에 의해 안전하게 표적화될 수 있는 종양 항원의 범위를 잠재적으로 넓힐 수 있기 때문에, 특히 관심을 끈다:

[0017] - 조합적 (또는 '분할된') 항원 인식. 진정한 종양-특이적 표면 항원은 드물지만, 특정 종양에 의해 공동 발현되는 종양-관련 항원으로 반드시 분류되는 것은 아닌 2개의 상이한 항원의 조합은 새로운 종양-특이적 시그니처 (tumor-specific signature)를 정의할 수 있다. CAR T 세포의 활성을 이러한 항원 쌍으로 제한하는 것은 중요한 안전성 기준을 제공하고, 결과적으로 종양-특이적 표적의 스펙트럼을 확장 시키며, 상당한 치료적 가치를 가질 수 있다. 2세대 및 3세대 CAR은 CAR 엔도도메인에서의 2개 이상의 신호전달 부분의 테더링을 통해 단일 항원과 결합시 활성화 및 공동자극 신호를 치료 T 세포에 제공하도록 설계되었다. 그러나, 활성화 및 공동자극이 동일한 T-세포에서 상이한 항원에 대해 각각 특이적인 2개의 CAR로 분할되는 경우, 본격적인 반응은 상기 2개의 항원의 존재하에서만 달성될 수 있는 2개의 상보적 신호의 협력을 요구할 것이다. 이 원리는 여러 전임상 연구에서 입증되었다 (문헌 [Kloss 등, 2013; Lanitis 등, 2013; Wilkie 등, 2012; WO 2016/126608]).

[0018] 의심할 여지없이 흥미롭게도, 이 접근법은, 유효한 표적-상 (on-target), 종양-상 (on-tumor) T 세포 반응성만을 허용하는 최적의 균형에 도달하기 위해 활성화 및 공동자극 신호 둘 모두의 강도에 대한 꼼꼼한 적정 (titration)의 필요성에 여전히 직면하고 있다. 임상 환경에서 이러한 균형을 일상적으로 달성할 수 있는지 여부에는 여전히 의문의 여지가 있다.

[0019] 2개의 항원의 고유한 조합을 발현하는 표적 세포로만 T 세포 반응을 제한하기 위한 완전히 새로운 접근법이 최근에 공개되었다 (문헌 [Roybal 등, 2016a]). 그의 핵심 요소는 노치 (Notch)를 포함한 여러 세포 표면 수용체의 작용 방식을 이용하는 '유전자 스위치'로 기능한다. 이러한 수용체가 그의 리간드에 결합한 후, 이는 이중 절단을 거치며, 이는 그의 세포내 도메인의 유리를 초래하고, 이는 세포핵으로 이동하여, 이 곳에서 이는 전사 인자로서 기능한다. 이 원리의 구현은 효과기 T 세포로의 2개의 유전자의 공동도입을 수반한다. 제1 유전자는

구성적으로 발현되고, 제1 항원에 대해 지시된 인식 모이어티를 갖는 키메라 절단성 수용체를 암호화한다. 표적 세포의 표면의 이 항원과의 결합은 제2 항원에 대해 지시된 통상적인 CAR을 암호화하는 제2 유전자의 발현을 촉발시킨다. 이 제2 항원도 공동 발현하는 경우에만 표적 세포가 살해된다.

[0020] 억제성 CAR. 종양-외 반응성은 CAR-재지시된 살해 세포의 표적 항원이 정상 조직과 공유되는 경우 발생한다. 이 정상 조직이 종양에 존재하지 않는 다른 표면 항원을 발현하는 경우, 유전자-변형된 세포에서, 억제성 신호전달 모이어티를 보유하는 이러한 비공유 항원을 표적화하는 추가적인 CAR을 공동 발현하는 것은 정상 조직에 의한 T-세포 활성화를 방지할 수 있다.

[0021] 활성화 도메인 (예를 들어 FcRγ 또는 CD3-ζ) 대신에, iCAR은 T 세포 활성화를 길항할 수 있는 억제성 수용체, 예를 들어 CTLA-4, PD-1 또는 NK 억제성 수용체로부터 유래한 신호전달 도메인을 보유한다. 후보인 aCAR 항원을 종양과 공유하는 정상 조직이 종양과 공유되지 않는 다른 표면 항원을 발현하는 경우, 이 비공유 항원을 표적화하는 동일한 T 세포에 의해 발현되는 iCAR은 상기 정상 조직을 보호할 수 있다 (**도 1**).

[0022] 체세포적으로 재배열된 유전자 분절에 의해 암호화되는 고유한 2쇄 TCR을 각각 발현하는 T 세포와는 달리, NK 세포는 항원-특이적 수용체를 발현하지 않는다. 대신에, NK 세포는 감염된 세포 및 건강한 세포의 세포 표면에서 다수의 활성화 및 억제성 리간드를 각각 인식하는 생식계열-암호화된 활성화 및 억제성 수용체의 어레이를 발현한다. KIR3DL1과 같은 NK 억제성 수용체에 기초한 iCAR의 보호 능력이 설명된 바 있다 (US 9,745,368). KIR3DL1 및 다른 NK 억제성 수용체는 면역학적 시냅스를 빠르고 포괄적인 방식으로 해체함으로써 기능한다. 단일 NK 세포는 억제성 및 활성화 리간드 둘 모두를 발현하는 저항성 세포를 살리면서도, 이것이 동시에 결합하는 활성화 리간드만을 발현하는 민감 세포를 살해할 수 있다는 설득력 있는 증거가 존재한다 (문헌 [Abeyweera 등, 2011; Eriksson 등, 1999; Treanor 등, 2006; Vyas 등, 2001]). 이러한 정교한 능력은, 결과적으로 세포용해 과립의 세포외배출에 영향을 미치는 각각의 면역 시냅스에서 형성된 신호전달 분자의 상이한 공간적 조직에 의해 통제된다 (검토를 위해 문헌 [Huse 등, 2013] 참조). 보다 최근에, Fedorov 등 (문헌 [Fedorov 등, 2013a; WO 2015/142314])은 이러한 목적으로 PD-1 및 CTLA-4의 세포내 도메인을 성공적으로 사용하였다. NK 억제성 수용체와는 달리, 이들 iCAR의 조절 효과는 전체 세포에 영향을 미쳤다. 그러나, 이들 효과는 일시적이어서, aCAR 항원만을 발현하는 표적 세포와의 후속 접촉시 완전한 T-세포 활성화를 허용하였다.

[0023] iCAR 및 aCAR에 의해 표적화되는 항원의 조직 분포는, 임상 효능을 손상시키지 않으면서 최대 안전성을 부여하는데 필요한 iCAR의 최적 작용 방식에 영향을 준다. 예를 들어, 종양의 해부학적 부위 및 보호될 정상 조직(들)이 교차하지 않는 경우, 일시적 억제 (CTLA-4- 또는 PD-1-유사)로 충분할 것이다. 그러나, 이들 부위가 중첩되는 경우, 시냅스-제한된 억제 (예를 들어, NK 작용 방식)만이 치료 세포의 지속적인 마비를 방지하고 이들의 효과적인 종양파괴 활성을 허용한다. 표적-상 종양-외 반응성을 감소시키기 위해 iCAR을 사용하는 접근법은, 종양 세포에서는 하향조절되지만 정상 조직에는 존재하는 항원의 심각한 결핍에 시달리고 있다.

[0024] 차세대 시퀀싱 (NGS)은 특정 종양 생검에서 모든 단백질-암호화 유전자 (전체 게놈의 약 1%)의 DNA 서열의 식별, 및 동일한 환자의 암 '진유전체'와 건강한 조직 (일반적으로 혈액 세포로부터의 것임)의 것의 비교를 가능하게 한다. 진유전체 시퀀싱은 생검 제거 후 수일 내에 비교적 저렴한 비용으로 완료될 수 있다. 동시에, 전사체 분석 (RNA-seq)은 동일한 세포 샘플에 의해 실제로 발현되는 유전자에 대한 상보적 정보를 제공할 수 있다.

[0025] 각각의 개별 종양의 돌연변이 환경이 고유하다는 것이 점점 더 명백해지고 있다 (문헌 [Lawrence 등, 2013; Vogelstein 등, 2013]). 비동의 돌연변이의 결과로, 종양 세포는 잠재적으로, 환자의 HLA 생성물 중 하나 이상에서 환자의 면역계에 네오펩티드의 전용 세트를 제시할 수 있다. 실제로, 최근 몇 년 동안, 환자 자신의 CD8 또는 CD4 T 세포 레퍼토리에 의해 인식될 수 있으면서 면역요법의 표적으로서 기능할 수 있는 종양-특이적 네오에피토프를 식별하기 위해 막대한 노력이 수행되고 있다 (검토를 위해 문헌 [Blankenstein 등, 2015; Van Buuren 등, 2014; Heemskerk 등, 2013; Overwijk 등, 2013; Schumacher 및 Schreiber, 2015] 참조). 그러나, 누적된 발견들은, 신생항원-기반 T 세포 면역요법은 흑색종 및 폐암과 같이 더 높은 돌연변이 부하를 나타내는 암에 효과적일 가능성이 더 높기는 하지만, 더 적은 돌연변이를 갖는 대부분의 암에서 이점을 나타내지 못하는 경우가 많을 수 있음을 암시한다 (문헌 [Savage, 2014; Schumacher and Schreiber, 2015]). 또한, 상당한 종양내 이질성 (Burrell 등, 2013)은 돌연변이-상실 변이체의 출현을 피하기 위해 여러 항원의 동시적인 공동 표적화를 수반하며, 이 과제는 유용한 면역원성 네오펩티드의 부족으로 인해 점점 더 요구가 많아지고 있다.

[0026] 대체로, 유전적으로 재지시된 살해 세포의 입양 전달을 통해 암 면역요법에 적합한 표적을 식별하기 위한 시급한 요구는 여전히, 크게 충족되지 못하고 있는 실정이다.

발명의 내용

[0027] 일부 측면에서, 본 발명은 효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호 키메라 항원 수용체 (pCAR)를 제조하기 위한 표적을 식별하는 방법을 제공하며, 여기서 상기 표적은 하기를 포함하는 방법에 의해 식별된다:

[0028] (i) 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 단백질을 암호화하는 적어도 2개의 발현된 대립유전자를 갖는 유전자를 식별하는 단계;

[0029] (ii) 상기 발현된 대립유전자 중 적어도 하나가 세포외 다형성 에피토프 기준 서열에 비해 세포외 다형성 에피토프 서열에서의 아미노산 서열 변화를 나타내는 것을 확인하는 단계;

[0030] (iii) 상기 유전자가 종양 유형에서 이형접합성 상실 (LOH)을 겪는 염색체 영역에 위치하는 것을 확인하는 단계; 및

[0031] (iv) 상기 유전자가, 염색체 영역이 LOH를 겪는 것으로 밝혀진 종양 유형의 기원 조직에서 발현되는 것을 확인하는 단계.

[0032] 일부 구현예에서, 상기 LOH 위치는 치환, 결실 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 LOH 위치는 SNP이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA 유전자이다.

[0033] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA_DQ, 또는 HLA-DR 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-A 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-B 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-C 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-G 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-E 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-F 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-K 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-L 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-DM 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 HLA-DO 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프는 HLA-DP 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프는 HLA-DQ 유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프는 HLA-DR 유전자이다.

[0034] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 1번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1, 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0035] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 2번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO, 및

TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0036] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 3번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1, 및 ZPLD1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0037] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 4번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1, 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0038] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 5번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLCO6A1, SV2C, TENM2, TIMD4, 및 UGT3A1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0039] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 6번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1, 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0040] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 7번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN, 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0041] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 8번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLCO5A1, TNFRSF10A, 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0042] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 9번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4,

TMEM2, 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0043] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 10번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B, 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0044] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 11번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18, 및 ZP1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0045] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 12번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO1B7, SLCO1C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8, 및 VSIG10로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0046] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 13번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6, 및 TNFRSF19로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0047] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 14번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4, 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0048] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 15번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRNB4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSMD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1, 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0049] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 16번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219, 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0050] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 17번 염색체에 위치한다. 일부 구현

예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRNB1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2, 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0051] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 18번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15, 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0052] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 19번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR1I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B, 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0053] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 20번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4, 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0054] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 21번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2, 및 UMODL1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0055] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 22번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6, 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0056] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 X 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4, 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0057] 일부 구현예에서, 상기 종양은 유방 종양, 전립선 종양, 난소 종양, 자궁경부 종양, 피부 종양, 췌장 종양, 결장직장 종양, 신장 종양, 간 종양, 뇌 종양, 림프종, 백혈병, 폐 종양 및 신경교종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0058] 일부 구현예에서, 상기 종양은 부신 종양, 신장 종양, 흑색종, DLBC, 유방 종양, 육종, 난소 종양, 폐 종양, 방광 종양 및 간 종양으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 부신 종양은 부신피질 암종이다. 일부 구현예에서, 상기 신장 종양은 비염색 신장 세포 암종이다. 일부 구현예에서, 상기 흑색종은 포도막 흑색종이다.

[0059] 본 발명은 또한 안전한 효과기 세포를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 (i) 제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 따른 iCAR 또는 pCAR 및 (ii) 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR)를 발현하는 안전한 효과기 면역 세포를 제공한다.

[0060] 일부 구현예에서, 제47항의 안전한 효과기 면역 세포로서, 여기서 상기 aCAR은 종양-관련 항원 또는 비다형성

세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR의 보호 효과로 인해, 상기 aCAR은 암 세포에 발현되는 임의의 표면 단백질에 대해 지시될 수 있다.

[0061] 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 종양-관련 단백질, 표 1에 열거된 CAR 표적, 상기 iCAR이 또한 발현되는 종양 조직에서 발현되는 임의의 세포 표면 단백질에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0062] 일부 구현예에서, 상기 비다형성 세포 표면 에피토프는 CD19, CD20, CD22, CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Igκ, ROR1, ROR2, CD30, LewisY, CD33, CD34, CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2,GD3, hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR-α, L1-CAM, ErbB2,3,4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13Rα2, FAP, Mesothelin, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGE-A1, MUC1, MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80, CD89, CDH17, CLD18, GPC3, TEM8, TGFB1, NY-ESO-1, WT-1 및 EGFR로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0063] 51. 제47항 내지 제50항 중 어느 한 항의 안전한 면역 효과기 세포로서, 상기 안전한 효과기 면역 세포는 자가 또는 보편적인 (동종이계) 효과기 세포이다.

[0064] 일부 구현예에서, 상기 안전한 효과기 면역 세포는 T 세포, 자연 살해 세포 및 사이토카인-유도 살해 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0065] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR의 발현 수준은 상기 aCAR의 발현 수준 이상이다.

[0066] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR은 제1 벡터에 의해 발현되고 상기 aCAR은 제2 벡터에 의해 발현된다.

[0067] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR 및 상기 aCAR은 모두 동일한 벡터에 의해 발현된다.

[0068] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 상기 iCAR 또는 pCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치한다.

[0069] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 상기 뉴클레오티드 서열은, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR 또는 pCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드를 포함한다.

[0070] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 상기 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드는 *토세아 아시그나 바이러스* (TaV)로부터의 T2A, 구제역 바이러스 (FMDV)로부터의 F2A, *에퀸 리니티스 A 바이러스* (ERAV)로부터의 E2A 및 *돼지 테스코바이러스-1* (PTV1)로부터의 P2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0071] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 가요성 링커를 통해 상기 iCAR 또는 pCAR에 연결된다.

[0072] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함한다.

[0073] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는, 예를 들어 CD3ζ 또는 FcRγ 사슬의 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM)와 상동성이다.

[0074] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 활성화 살해 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR), 예를 들어 KIR2DS 및 KIR3DS와 상동성이다.

[0075] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 어댑터 분자, 예를 들어 DAP12와 상동성이다.

[0076] 상기 안전한 효과기 면역 세포의 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40) 또는 GITR의 공동자극 신호전달 요소와 상동성이다.

[0077] 본 발명은 또한 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원

에 기술된 iCAR을 발현하는 안전한 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0078] 일부 구현예에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법을 추가로 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 안전한 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0079] 일 측면에서, 본 발명은 효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공하며, 여기서 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 포유류 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 및 필수적인 기관에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인; 및 효과기 면역 세포를 억제하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는 세포내 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR 표적은 상기 aCAR 표적이 정상적으로 발현되는 모든 세포에서 발현된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR 표적은 상기 aCAR이 발현되는 필수적인 기관 세포에서 발현된다.

[0080] 추가적인 측면에서, 본 발명은 본원에 정의된 본 발명의 핵산 분자, 및 상기 핵산 분자에 작동가능하게 연결된 적어도 하나의 제어 요소, 예를 들어 프로모터를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0081] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 정의된 본 발명에 따른, 효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (i) 공지된 변이체의 적어도 하나의 데이터베이스로부터 단백질-암호화 유전자의 인간 게놈 변이체의 목록을 검색하는 단계; (ii) (a) 상응하는 기준 대립유전자와 비교하여 각각의 유전자에 의해 암호화되는 단백질에서 아미노산 서열 변이를 야기하는 변이체를 선택하고, (b) 아미노산 서열 변이가 암호화된 단백질의 세포외 도메인에 존재하는 유전자의 변이체를 선택하고, (c) 적어도 하나의 종양에서 이형접합성 상실 (LOH)을 겪는 유전자의 변이체를 선택하고, (d) (c)에 따라 적어도 LOH를 겪는 상기 적어도 하나의 종양의 기원 조직에서 발현되는 유전자의 변이체를 선택하여, LOH로 인해 상기 적어도 하나의 종양에서 상실되고 적어도 상기 적어도 하나의 종양의 기원 조직에서 발현되는 각각의 유전자에 의해 암호화되는 단백질의 세포외 도메인에 아미노산 서열 변이를 갖는 변이체의 목록을 획득함으로써, 검색된 변이체의 상기 목록을 필터링하는 단계; (iii) (ii)에서 획득된 목록으로부터 적어도 하나의 단일 변이체를 포함하는 서열 영역을 정의하고, 상기 적어도 하나의 단일 변이체를 포함하는 상기 서열 영역 및 상응하는 기준 대립유전자를 포함하는 서열 영역을 서브클로닝하고 발현하여, 각각의 에피토프 펩티드를 수득하는 단계; (iv) (iii)에서 수득된, 상기 클로닝된 서열 영역에 의해 암호화되는 에피토프 펩티드, 또는 상응하는 기준 대립유전자에 의해 암호화되는 에피토프 펩티드에 특이적으로 결합하는 iCAR 결합 도메인을 선택하는 단계; 및 (vii) (iv)에 정의된 iCAR 결합 도메인을 각각 포함하는 본원에 정의된 iCAR을 제조하는 단계를 포함한다.

[0082] 또 다른 측면에서, 본 발명은 안전한 효과기 면역 세포를 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (i) 종양-관련 항원에 대해 지시된 TCR-조작된 효과기 면역 세포를 본원에 정의된 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자로 형질감염시키거나 또는 상기 세포를 본원에 정의된 벡터로 형질도입시키는 단계; 또는 (ii) 천연 효과기 면역 세포를 본원에 정의된 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 본원에 정의된 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자로 형질감염시키는 단계; 또는 효과기 면역 세포를 본원에 정의된 벡터로 형질도입시키는 단계를 포함한다.

[0083] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기술된 본 발명의 방법에 의해 수득된 안전한 효과기 면역 세포를 제공한다. 상기 안전한 효과기 면역 세포는 외인성 T 세포 수용체 (TCR) 및 iCAR을 발현하는 재지시된 T 세포일 수 있으며, 여기서 상기 외인성 TCR은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되며, 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되며, 상기 iCAR은 본원에 정의된 바와 같고; 상기 안전한 효과기 면역 세포는 본원에 정의된 iCAR 및 aCAR을 발현하는 재지시된 효과기 면역 세포, 예를 들어 자연 살해 세포 또는 T 세포이다.

[0084] 추가적인 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 대상체에 대한 개인화된 바이오마커를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (i) 상기 대상체로부터 종양 생검을 수득하는 단계; (ii) 상기 대상체로부터 정상 조직의 샘플, 예를 들어 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)을 수득하는 단계; 및 (iii) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하여, 상기 대상체에 대한 개인화된 바이오마커를 식별하는 단계를 포함한다.

[0085] 추가적인 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상

기 방법은 본원에 정의된 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 암호화하는 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다.

[0086] 추가적인 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자를 치료하는데 사용하기 위한 본원에 정의된 안전한 효과기 면역 세포에 관한 것이며, 여기서 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 상기 환자의 필수적인 기관을 비롯한, 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 암호화하는 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR은 상기 aCAR 표적이 정상적으로 발현되는 모든 세포에서 발현된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR은 상기 aCAR이 발현되는 필수적인 기관 세포에서 발현된다.

[0087] 추가적인 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 (i) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 정보를 식별하거나 얻는 단계; (ii) 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 정보를 식별하거나 얻는 단계로서, 여기서 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 상기 암 환자의 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되는, 단계; (iii) 본원에 정의된 iCAR을 정의하는 적어도 하나의 핵산 분자 및 본원에 정의된 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 적어도 하나의 핵산 분자, 또는 적어도 하나의 본원에 정의된 벡터를 선택하거나 얻는 단계로서, 여기서 상기 iCAR은 (i)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하고, 상기 aCAR은 (ii)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는, 단계; (iv) 효과기 면역 세포를 (iii)의 핵산 분자로 형질감염시키거나 효과기 면역 세포를 (iii)의 벡터로 형질도입함으로써, 안전한 재지시된 효과기 면역 세포의 적어도 하나의 집단을 제조하거나 얻는 단계; 및 (v) (iv)의 안전한 재지시된 면역 효과기 세포의 적어도 하나의 집단을 상기 암 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0088] 유사한 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하기 위한 안전한 재지시된 면역 효과기 세포의 적어도 하나의 집단을 제공하며, 여기서 상기 안전한 재지시된 면역 세포는 (i) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 정보를 식별하거나 얻는 단계; (ii) 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 정보를 식별하거나 얻는 단계로서, 여기서 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 상기 암 환자의 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되는, 단계; (iii) 본원에 정의된 iCAR을 정의하는 적어도 하나의 핵산 분자 및 본원에 정의된 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 적어도 하나의 핵산 분자, 또는 적어도 하나의 본원에 정의된 벡터를 선택하거나 얻는 단계로서, 상기 iCAR은 (i)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하고, 상기 aCAR은 (ii)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는, 단계; (iv) 효과기 면역 세포를 (iii)의 핵산 분자로 형질감염시키거나 효과기 면역 세포를 (iii)의 벡터로 형질도입함으로써, 안전한 재지시된 효과기 면역 세포의 적어도 하나의 집단을 제조하거나 얻는 단계에 의해 수득된다.

[0089] 또 다른 측면에서, 본 발명은 제어된 효과기 면역 세포 활성화 시스템의 상이한 구성원을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 각각 포함하는 2개 이상의 핵산 분자의 조합에 관한 것이며, 상기 핵산 분자는 단일한 연속적인 핵산 분자의 일부이거나 이러한 핵산 분자를 형성하거나, 또는 2개 이상의 별개의 핵산 분자를 포함하고, 여기서 상기 제어된 효과기 면역 활성화 시스템은 효과기 면역 세포에게 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 하나 이상의 염색체 또는 그의 단편을 상실한 종양 세포를 살해하도록 지시하고 관련 정상 조직의 세포를 살리며, (a) 제1 구성원은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제1 세포외 도메인을 포함하는 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR) 폴리펩티드를 포함하며, 상기 비다형성 또는 다형성 세포 표면 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 관련 비정상 및 정상 포유류 조직의 세포에 의해 공유되고; (b) 제2 구성원은 LOH로 인해 비정상 포유류 조직에 의해 발현되지는 않지만 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제2 세포외 도메인을 포함하는 조절 폴리펩티드를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0090] **도 1**은 iCAR의 개념을 도시한다 (문헌 [Fedorov 등, 2013a]에서 발췌함).

도 2는 aCAR/pCAR 분자 설계 및 작용 방식을 도시한다. 정상 세포 상의 항원에 대한 pCAR의 결합은, 이들이 aCAR 항원을 발현하는지 여부에 관계없이, 신속한 RIP를 초래하고 폴리펩티드를 3개의 별개의 단편으로 분해시킬 것으로 예측된다.

도 3a 내지 3c는 HLA 클래스 I 유전자좌를 암호화하는 염색체 영역에서 LOH를 겪는 종양 샘플의 백분율을 도시한다. TCGA 데이터베이스로부터의 종양 유형에서, **A.** HLA-G, **B.** HLA-A, **C.** ZNRD1. 신장 비염색 [KICH], 부신피질 암종 [ACC], 췌장 선암종 [PAAD], 육종 [SARC], 신장 유두 세포 암종 [KIRP], 식도 암종 [ESCA], 폐 편평 세포 암종 [LUSC], 신장 투명 세포 암종 [KIRC], 방광 요로상피세포 암종 [BLCA], 난소 장액 낭선암종[OV], 흉선종 [THYM], 자궁경부 편평 세포 암종 및 자궁경내 선암종 [CESC], 두경부 편평 세포 암종 [HNSC], 유방 침습성 암종 [BRCA], 위 선암종 [STAD], 림프성 종양 확산성 거대 B-세포 림프종 [DLBC], 다형 교모세포종 [GBM], 결장 선암종 [COAD], 직장 선암종 [READ], 폐 선암종 [LUAD], 고환 생식 세포 종양 [TGCT], 중피종 [MESO], 담관암종 [CHOL], 자궁 암육종 [UCS], 피부 흑색종 [SKCM], 자궁 체부 자궁내막 암종 [UCEC], 뇌 저등급 신경교종 [LGG], 전립선 선암종 [PRAD], 간세포 암종 [LIHC], 갑상선 암종 [THCA], 크롬친화세포종 및 부신경절종 [PCPG], 급성 골수성 백혈병 [LAML], 포도막 흑색종 [UVM]

도 4는 게놈에서의 다른 모든 단백질 암호화 유전자에 대비한 HLA-A의 발현을 도시한다. 각 유전자에 대한 값은 GTEX (gtexportal.org)에서 획득한 조직 중간값의 평균 RPKM 값을 반영한다.

도 5는 실시예 5에서의 암들에 대한 HLA 단백질 이형접합성 상실의 분석을 위한 제안된 워크플로우를 도시한다.

도 6은 ABSOLUTE 처리된 카피 수 데이터를 사용하여 pancan12 데이터세트에서의 LOH의 빈도를 도시한다. 선은 빈도에 대한 95% 이항 신뢰 구간을 도시한다.

도 7은 HLA-A에서 관찰된 LOH의 유형을 도시한다. HLA-A LOH의 588개의 에피소드 중, HLA-A 유전자 내의 중단점에 관여한 것은 없었다.

도 8은 HLA-A를 포함하는 결실의 길이 (염기쌍)의 분포를 도시한다. 이들 결실의 대부분은 6p 염색체의 길이보다 크다.

도 9는 임계값 -0.1에서 상대 및 ABSOLUTE 카피 수 데이터에서의 HLA-A의 LOH를 갖는 환자의 분율의 상관 관계를 도시한다.

도 10a 내지 도 10c는 32개의 암들에 대한 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C의 LOH 비율의 비교가 거의 동일한 LOH 패턴을 나타냄을 도시한다.

도 11은 6p 염색체의 결실에 대해 분류된 AML 카피 수 프로파일의 IGV 스크린샷을 도시한다. 청색은 결실을 나타내고 적색은 증폭을 나타낸다. HLA-A의 결실은 존재하지 않는다.

도 12는 모든 SNP에 대해 LOH를 겪는 포도막 흑색종 종양의 비율을 도시한다.

도 13은 TCGA 연구 약어를 제공한다 (https://gdc.cancer.gov/resources-tcga-users/tcga-code-tables/tcga-study-abbreviations에서도 입수가능함).

도 14는 17번 염색체에 암호화된 종양 억제 단백질 TP53에 인접한 염색체 영역의 상실을 도시한다. iCAR 표적으로 식별된 17번 염색체에 암호화된 유전자를 사용하여 환자 RC001을 치료할 수 있다.

도 15는 iCAR 및 aCAR 구조체의 개략도를 제공한다.

도 16은 ELISA에 의해 측정된 IL-2 분비에 관한 데이터를 제공한다. iCAR은 iCAR 표적을 발현하는 표적 세포와의 상호작용시 IL-2 분비를 특이적으로 억제한다.

도 17은 iCAR이, CBA에 의해 측정하였을 때, iCAR 표적을 발현하는 표적 세포와의 상호작용시 IL-2 분비를 특이적으로 억제함을 나타낸다.

도 18은 CD19 발현 표적 세포에 의한 CD19 aCAR 저캇-NFAT의 특이적 활성화를 도시한다.

도 19는 CD19 aCAR/HLA-A2 iCAR 저캇-NFAT에서의 NFAT 활성화의 특이적 억제를 도시한다.

도 20은 상이한 E/T 비에서의 NFAT 활성화의 특이적 억제를 도시한다.

도 21은 **도 15**의 iCAR 및 aCAR 구조체에 대한 서열을 제공한다.

도 22는 1167개의 잠재적 iCAR, pCAR 및/또는 aCAR 표적을 제공한다.

도 23은 **도 22**에 열거된 1167개의 유전자로부터의 3288개의 SNP를 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0091] **I. 서론**

[0092] 1971년에 A. G. Knudson이 제시한 종양 억제 유전자 (TSG)의 혁신적인 개념 (문헌 [Knudson Jr., 1971])을 언급하면서, Devilee, Cleton-Jansen 및 Cornelisse는 'Knudson 이후로 (Ever since Knudson)'라는 명칭의 보고서 (문헌 [Devilee 등, 2001])의 도입절에서 다음과 같이 기술하였다: "다양한 간행물이 다양한 종양에서의 많은 상이한 염색체에서의 LOH를 기록하였으며, 이는 다수의 TSG의 존재를 암시한다. Knudson의 2회 충격 가설 (two-hit hypothesis)은 이들 LOH 사건이 TSG의 두 대립유전자의 불활성화의 제2 단계라고 예측한다". 인간 암의 유전적 불안정성에 대한 중요한 보고서 (문헌 [Lengauer 등, 1998])에서 Lengauer, Kinzler 및 Vogelstein은 다음과 같이 기술하였다: "핵형 연구는 대부분의 암이 염색체를 상실하였거나 획득하였음을 입증하였고, 분자 연구는 핵형 데이터가 이러한 변화의 실제 정도를 실제로 과소 평가함을 나타낸다. 종양에서의 이형접합성 상실, 즉 모계 또는 부계 대립유전자의 상실은 광범위하며, 종종 반대 대립유전자의 이득을 동반한다. 종양은 예를 들어, 8번 부계 염색체를 복제하면서 8번 모계 염색체를 상실할 수 있으며, 이는 해당 세포가 정상적인 8번 염색체 핵형을 갖지만 비정상적인 8번 염색체 '대립유전자형'을 갖도록 만든다. 결장, 유방, 췌장 또는 전립선의 '평균적인' 암은 그의 대립유전자의 25%를 상실할 수 있으며 종양이 그의 대립유전자의 절반 이상을 상실하는 것은 드문 일이 아니다." 이러한 관찰은 이후 많은 보고서에서 실질적으로 모든 암종을 포함한 거의 모든 인간 암으로 보강되고 확장되었다 (검토를 위해 문헌 [McGranahan 등, 2012] 참조). 거의 모든 개별 종양이 다양한 크기의 전체 염색체, 전체 염색체 아암 (arm) 또는 하위 염색체 영역의 다중 상실을 나타내는 것이 분명하게 확립되었다. 진유전체 서열 데이터에 기초하여 임의의 특정 세포 샘플에서의 LOH 프로파일의 측정을 위한 새로운 알고리즘이 빠르게 개발되고 있다 (예를 들어, 문헌 [Sathirapongsasuti 등, 2011]). 통계적 편견이 현재 일부 해석의 타당성에 의문을 제기할 수 있지만 (문헌 [Teo 등, 2012]), 이러한 알고리즘은 NGS 이전 시대에 이러한 목적을 위해 사용되었던 LOH 프로파일을 확립하기 위한 대부분의 다른 방법론을 개선하고 대체할 가능성이 있다.

[0093] 초기 LOH 사건은, 동일한 조직의 전암 세포에서는 검출되지만 주변 정상 세포에서는 검출되지 않을 수 있다 (문헌 [Barrett 등, 1999]). LOH는 비가역적이고 사건은 단지 축적될 수만 있으므로, 종양 이질성은 종양 진행 전반에 걸친 상실의 축적을 반영한다. 후기 LOH 사건에 있어 상이한 종양 서브클론이 발생할 수 있지만, 특정 환자에서 전암 세포, 추정 종양 줄기 세포 및 모든 종양 서브클론에 의해 공유되는 최소 LOH 시그니처의 존재가 지배적인 것으로 예측된다. 이 '트렁크 (trunk)' LOH 패턴에서 유래한 분파는 동일한 환자의 모든 종양 세포를 포함하는 부분적으로 중첩되는 시그니처의 제한된 세트를 여전히 생성한다.

[0094] 총 LOH 사건의 불가피한 결과는 결실된 염색체 물질에 존재하는 다른 모든 유전자의 부수적인 상실이며, 이들은 자연적으로, 막횡단 단백질을 암호화하는 많은 유전자를 포함한다. 이들의 정체성과 관련하여, 3,702개의 상이한 인간 세포 표면 단백질 ('서피세옴 (surfaceome)')의 카탈로그가 작성되었다 (문헌 [Da Cunha 등, 2009]). 서피세옴 유전자의 ≈42%의 발현은 광범위한 조직 분포를 나타내는 반면, ≈85개의 유전자가 검사된 모든 조직에 의해 발현되는데, 이는 하우스키핑 유전자의 홀마크 (hallmark)이다. 이들 유전자가 후보이며, 이들의 상이한 다형성 변이체는 본 발명의 iCAR 및 aCAR에 대한 표적으로서 작용할 수 있다.

[0095] 보다 최근에, Bausch-Fluck 등 (문헌 [Bausch-Fluck 등, 2015])은 그들의 화학단백질체 세포 표면 포획 기술 (Chemoproteomic Cell Surface Capture technology)을 적용하여 41개의 인간 세포 유형에서 1492개의 세포 표면 당단백질의 조합된 세트를 식별하였다. 서피세옴의 많은 부분이 임의의 특정 종양에 의해 발현되며, 각각은 특징적인 프로파일을 나타낼 것으로 예측된다. 세포 표면 단백질을 암호화하는 유전자는 다른 모든 유전자보다, 이들의 암호화 영역에 단일-뉴클레오티드 다형성 (SNP)이 약간 풍부한 것으로 밝혀졌다 (문헌 [Da Cunha 등, 2009]). 다형성 프레임내 삽입 및 결실 (이들은 드묾)은 변이체의 수에 더 기여하고 퓁티드 서열-변경 (비동의) SNP보다 폴리퓁티드 생성물에 더 강력한 구조적 효과를 발휘할 가능성이 있다. 전체적으로, 전형적인 게놈은 비동의 변이체를 갖는 10,000 내지 12,000개의 부위 및 190 내지 210개의 프레임내 삽입/결실을 포함한다 (문헌 [Abecasis 등, 2010; Auton 등, 2015]). 이들 변이체는 HLA 유전자좌와 같은 고도 다형성 유전자로서 게놈 전체에 균등하게 분포되지 않거나 (http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html), 또는 특정 G-단백질-결합 수용체 (GPCR) 유전자 (문헌 [Lee 등, 2003; Rana 등, 2001])는 별개의 변이체 '핫스팟 (hotspot)'을 생성한다.

LOH-관련 핫스팟의 또 다른 층은 상이한 암에서의 특정 염색체 또는 염색체 아암의 빈번한 상실 (예를 들어, 소세포 폐 암종에서 3p 및 17p (문헌 [Lindblad-Toh 등, 2000]), 결장직장암에서 17p 및 18q (문헌 [Vogelstein 등, 1989]), 유방암에서 17q 및 19 (문헌 [Li 등, 2014; Wang 등, 2004)], 흑색종에서 9p (문헌 [Stark and Hayward, 2007]), 교모세포종에서 10q (문헌 [Ohgaki 등, 2004]) 등)로 인한 것이다.

[0096] 표면 단백질의 대립유전자 변이의 상당 부분은 각각의 유전자 생성물의 세포외 부분에 영향을 미쳐서, 원칙적으로 고특이적 mAb에 의해 다른 변이체로부터 구별되고 인식될 수 있는 별개의 대립유전자-제한된 에피토프를 잠재적으로 생성할 수 있다. 단일 아미노산에 있어서만 상이한 동일한 단백질의 2개의 변이체를 구별하는 mAb가 단리될 수 있다는 점은 잘 증명되어 있다 (예를 들어, 정교한 특이성을 갖는 Ras 종양 유전자의 점돌연변이 생성물을 인식하는 mAb의 초기 예 참조 (문헌 [Carney 등, 1986])). 흥미롭게도, 단백질 에피토프에서의 단일 아미노산 교환에 특이적인 2개의 mAb는 이들의 중쇄 및 경쇄 V 유전자 풀과는 구조적으로 다른 가변 영역을 사용할 수 있다는 것이 입증되었다 (문헌 [Stark and Caton, 1991]). 최근 Skora 등 (문헌 [Skora 등, 2015])은 돌연변이된 KRAS와 EGFR 단백질에서 유래한 HLA-I-결합 네오펩티드와 이들의 야생형 대응물을 구별할 수 있는 펩티드-특이적 scFv의 단리를 보고하였다.

[0097] 종합하면, 종양 세포의 고유한 항원성 시그니처가 출현하며, 이는 개별 환자의 신체 전체에 존재하는 다른 모든 세포와 이들의 명백한 구별을 가능하게 한다. 이는, LOH로 인해 종양 세포 표면에는 존재하지 않지만 암 기원 조직의 정상 세포 또는 이들 유전자를 발현하는 다른 조직에는 존재하는 대립유전자 변이체에 의해 암호화되는 모든 막횡단 단백질을 포함한다. 당연히, LOH에 의해 영향을 받는 각각의 유전자는 진짜 하우스키핑 유전자를 제외하고는 뚜렷한 패턴의 조직 분포를 특징으로 한다. 이들 유전자의 대부분은 형질전환된 표현형의 종양 형성 또는 유지에 직접 관여할 것으로 예측되지 않으며, 이러한 의미에서, 이들의 상실은 '패신저 (passenger)' 성질을 갖는다.

[0098] 상기에 제시된 이론적 근거는, 고유한 분자 묘사는 거의 모든 종양에 대해 필연적으로 LOH에 의해 형성되며, 이는 정상 세포에 존재하는 수많은 다형성 표면 구조의 부재에 의해 나타남을 입증한다. 개별 종양의 이러한 추정된 시그니처를 항원성 에피토프의 표적화가능한 세트로 전환시키는 것은 특정 '부재 (absence)'에 대한 인식을 표적 세포 살해를 유발할 수 있는 활성화 신호로 번역하기 위한 실행가능한 면역학적 전략을 수반한다. 중요하게는, 표적-상 종양-외 반응성을 엄격히 피할 수 있도록 안전 장치를 포함하는 것이 이 전략의 향후 임상 구현에 있어 매우 유리하다

[0099] 본 발명은 단일 유전자 쌍의 각각의 치료용 살해 세포에서의 공동 발현을 통해 이러한 도전 과제에 대처한다. 이 쌍의 한 파트너는 활성화 CAR (aCAR)을 암호화하고 다른 파트너는 보호 CAR (pCAR) 또는 억제성 CAR (iCAR)을 암호화한다.

[0100] **II. 정의 선택**

[0101] 본원에서, 용어 "핵산 분자"는 DNA 또는 RNA 분자를 지칭한다.

[0102] 용어 "암호화"는 뉴클레오티드의 정의된 서열 (즉, rRNA, tRNA 및 mRNA) 또는 아미노산의 정의된 서열 및 그로부터 초래된 생물학적 특성을 갖는 생물학적 공정에서의 다른 중합체 및 거대분자의 합성을 위한 주형으로서 작용하기 위한 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 유전자, cDNA, 또는 mRNA에서의 뉴클레오티드의 특이적 서열의 선천적 특성을 지칭한다. 따라서, 유전자는, 그 유전자에 상응하는 mRNA의 전사 및 번역이 세포 또는 다른 생물학적 시스템에서 단백질을 생성하는 경우, 상기 단백질을 암호화한다. 뉴클레오티드 서열이 mRNA 서열과 동일하고 일반적으로 서열 목록에 제공되는 암호화 가닥, 및 유전자 또는 cDNA의 전사를 위한 주형으로서 사용되는 비암호화 가닥 둘 모두가 그 유전자 또는 cDNA의 단백질 또는 다른 생성물을 암호화하는 것으로 지칭될 수 있다.

[0103] 달리 명시되지 않는 한, "아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열"은 서로의 축퇴 버전 (degenerate version)이며 동일한 아미노산 서열을 암호화하는 모든 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 단백질 및 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 인트론을 포함할 수 있다.

[0104] 용어 "내인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템 내에서 생산되거나 이들로부터 유래한 임의의 물질을 지칭한다.

[0105] 용어 "외인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템 외부에서 생산되거나 이들로부터 유래한 임의의 물질을 지칭한다.

[0106] 본원에서, 용어 "발현"은 그의 프로모터에 의해 구동된 특정 뉴클레오티드 서열의 전사 및/또는 번역으로서 정

의된다.

[0107] "발현 벡터"는 발현될 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현 제어 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 지칭한다. 발현 벡터는 발현을 위한 충분한 시스-작용 요소 (cis-acting element)를 포함하고; 발현을 위한 다른 요소는 숙주 세포에 의해서 또는 시험관내 발현 시스템 내에서 공급될 수 있다. 발현 벡터는 당업계에 공지된 모든 것들, 예를 들어, 재조합 폴리뉴클레오티드를 포함하는 코스미드, 플라스미드 (예를 들어, 노출되거나 리포솜 내에 포함됨) 및 바이러스 (예를 들어, 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 및 아데노-관련 바이러스)를 포함한다.

[0108] 본원에서, 용어 "게놈 변이체"는 동일한 게놈 위치에서 기준 또는 공통 서열과 비교하여 시퀀싱된 샘플에서의 게놈 수준에서의 적어도 하나의 뉴클레오티드의 변화를 지칭한다.

[0109] 변이체와 관련하여 본원에 사용된 용어 "상응하는 기준 대립유전자"는 변이체와 동일한 게놈 위치에서의 기준 또는 공통 서열 또는 뉴클레오티드를 의미한다.

[0110] 단백질과 관련하여 본원에 사용된 용어 "세포외 도메인"은 세포막 외부에 위치한 단백질의 영역을 의미한다.

[0111] 본원에서, 용어 "이형접합성 상실" 또는 "LOH"는 체세포의 2개의 염색체의 한 카피에서의 염색체 물질, 예를 들어 완전한 염색체 또는 그의 일부의 상실을 의미한다.

[0112] 변이체 또는 기준 대립유전자와 관련하여 본원에 사용된 용어 "서열 영역"은 변이체의 위치의 상류에서 시작하여 그의 하류에서 끝나는 서열을 의미하며, 이는 항체에 의해 인식될 수 있는 "에피토프 펩티드"로 번역될 수 있다.

[0113] 본원에서, 용어 "CAR"은 예를 들어, T 세포 또는 NK 세포로부터의 세포 면역-기능 수용체 또는 어댑터 분자와 구조적 및 기능적 특성을 공유하는 키메라 폴리펩티드를 지칭한다. CAR은 TCAR 및 NKR-CAR을 포함한다. 동족 항원에 결합시, CAR은 그것이 배치된 세포독성 세포를 활성화 또는 비활성화하거나, 또는 세포의 항종양 활성을 조절하거나, 또는 그렇지 않으면, 세포 면역 반응을 조절할 수 있다.

[0114] 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인, 예를 들어 scFv와 관련하여 본원에 사용된 용어 "특이적 결합"은 하나의 대립유전자 변이체에 대한 상기 scFv의 상대적 결합, 및 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상응하는 상이한 대립유전자 변이체에는 상기 scFv가 결합하지 못함을 지칭한다. 이는 결합성 (T 세포 상의 CAR 카피 수, 표적 세포 (또는 보호될 세포) 표면 상의 항원 분자의 수 및 사용된 특정 CAR의 친화도)에 의존하기 때문에, 기능적 정의는, 상기 특정 scFv가 이에 대해 특이적인 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 대해 ELISA에서 현저한 신호를 제공하거나, scFv를 나타내는 CAR로 형질감염된 세포가 FACS 분석에서 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체로 명확히 표지되는 반면, 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상응하는 상이한 대립유전자 변이체를 사용하는 동일한 분석은 검출가능한 신호를 제공하지 않는다는 것이다.

[0115] 본원에서, 용어 "치료하는"은 목적하는 생리학적 효과를 달성하는 수단을 지칭한다. 상기 효과는 질환 및/또는 상기 질환에 기인한 증상을 부분적으로 또는 완전히 치유하는 관점에서 치료적일 수 있다. 상기 용어는 질환을 억제하는 것, 예를 들어 그의 진행을 정지시키는 것; 또는 질환을 개선하는 것, 예를 들어 질환의 퇴행을 유발하는 것을 지칭한다.

[0116] 본원에서, 용어 "대상체" 또는 "개체" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유류"는 진단, 예후 또는 치료가 필요한 임의의 대상체, 특히 포유류 대상체, 예를 들어 인간을 지칭한다.

[0117] 문구 "안전한 효과기 면역 세포" 또는 "안전한 효과기 세포"는 본원에 기술된 적어도 하나의 iCAR 또는 pCAR을 발현하는 본 발명에 의해 기술된 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 "안전한 효과기 면역 세포" 또는 "안전한 효과기 세포"는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 "안전한 효과기 면역 세포" 또는 "안전한 효과기 세포"는 본원에 기술된 aCAR을 추가로 발현한다. 일부 구현예에서, 상기 "안전한 효과기 면역 세포" 또는 "안전한 효과기 세포"는 본원에 기술된 iCAR 또는 pCAR을 추가로 발현한다. 일부 구현예에서, 상기 "안전한 효과기 면역 세포" 또는 "안전한 효과기 세포"는 본원에 기술된 iCAR 또는 pCAR 및 본원에 기술된 aCAR을 추가로 발현한다.

[0118] 본 발명에 따라 사용하기 위한 약학적 조성물은 하나 이상의 생리학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 사용하여 통상적인 방식으로 제제화될 수 있다. 상기 담체(들)는 상기 조성물의 다른 성분들과 상용성이고 수용체에

게 유해하지 않다는 의미에서 "허용가능"해야 한다.

[0119] 문구 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 본원에서 상호 교환적으로 사용되며, 특정 생물학적 결과를 달성하는데 효과적인 본원에 기술된 화합물, 제제, 물질 또는 조성물의 양을 지칭한다.

[0120] 담체, 투여 방식, 제형 등에 대한 하기 예시는 상기 담체, 투여 방식, 제형 등이 본 발명에 사용되기 위해 선택될 수 있는 공지된 가능성으로서 열거된다. 그러나, 당업자는 선택된 임의의 특정 제제 및 투여 방식이 목적하는 결과를 달성하는지를 측정하기 위해서는 먼저 그것이 시험되어야 한다는 것을 이해할 것이다.

[0121] 투여 방법은 비경구, 예를 들어 정맥내, 복강내, 근육내, 피하, 점막 (예를 들어, 경구, 비강내, 협측, 질, 직장, 안구내), 척추강내, 국소 및 피내 경로를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 투여는 전신 또는 국소일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 약학적 조성물은 경구 투여에 적합하다.

[0122] 용어 "담체"는 활성제와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제 또는 비히클을 지칭한다. 상기 약학적 조성물 내의 담체는 결합제, 예를 들어 미정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈 (폴리비돈 또는 포비돈), 검 트래거캔스, 젤라틴, 전분, 락토스 또는 락토스 일수화물; 붕해제, 예를 들어 알긴산, 옥수수 전분 등; 윤활제 또는 계면 활성제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트 또는 라우릴 황산나트륨; 및 활택제, 예를 들어 콜로이드성 이산화규소를 포함할 수 있다.

[0123] 본원에서, 용어 "말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)"는 림프구, 단핵구 또는 대식세포와 같은 둥근 핵을 갖는 임의의 혈액 세포를 지칭한다. 혈액으로부터 PBMC를 단리하는 방법은 당업자에게 명백하다. 비제한적인 예는, 단핵구 및 림프구가 혈장 층 아래에서 연막을 형성시키면서 혈액 층을 분리하는 친수성 다당류인 피콜을 사용하거나, 또는 적혈구 및 백혈구-부족 혈장을 공여자에게 돌려주면서 백혈구 농축액을 제조하는 방법인 백혈구분반술(leukapheresis)에 의해, 전혈로부터 이들 세포를 추출하는 것이다.

[0124] 본원에서, 용어 "암"은 비정상 세포의 신속하고 비제어된 성장을 특징으로 하는 질환으로 정의된다. 암 세포는 국소적으로 또는 혈류 및 림프계를 통해 신체의 다른 부분으로 확산될 수 있다. 다양한 암의 예는 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 췌장암, 결장직장암, 신장암, 간암, 뇌암, 림프종, 백혈병, 폐암, 신경교종 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0125] **III. CAR-T 시스템: iCAR, pCAR 및 aCAR**

[0126] 본 발명은 정상 세포를 안전하게 유지하면서 종양 세포의 특이적 표적화를 가능하게 하는 새로운 방안을 제공한다는 것이 강조되어야 한다. 본원에 제시된 개념은 iCAR (또는 pCAR 또는 보호 CAR)에 대한 새로운 표적의 식별을 제공하며, 이들 표적은, 정상 조직에서는 발현이 유지되면서 종양 세포가 존재하는 염색체 영역의 LOH로 인해 종양 세포로부터는 상실되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 포함하는 것으로 정의된다. 상기 다형성 변이로 인해, 2개의 대립유전자를 구별하고 종양 세포에 결손된 대립유전자만을 표적화하는 것이 가능하다. 또한, 표적 항원 자체가 반드시 종양 억제 유전자, 또는 암과 관련될 것으로 예측되는 유전자일 필요는 없는데, 이는, 그것은 LOH에 의해 상실된 영역에 존재하도록 선택되며 따라서 이러한 유전자에 간단히 연결될 수 있기 때문이다. 이는, 다형성에 관계없이 종양에서 하향조절되는 항원 또는 종양 관련 항원을 표적화하는, 암 요법에서 지금까지 사용되거나 제안된 방법과 개념적으로 상이하다. 본 방법은 또한 본원에 기술된 iCAR 및/또는 pCAR의 공동 발현을 통해 정상 세포의 보호를 제공함으로써, 종양 관련 항원을 넘어선 aCAR의 선택의 확장을 제공한다.

[0127] 게놈 사건인 LOH는 종양으로부터의 특정 변이체의 완전한 상실을 초래하며, 상실된 대립유전자를 다시 획득할 확률은 매우 드물기 때문에, 상기 구별이 중요하다. LOH 사건이 종양의 발달에서 매우 일찍 발생하는 경우, 이는 전이성 종양을 비롯한 초기 전암 조직으로부터 유래한 모든 종양 세포에서 균일한 표적 시그니처를 보장한다. 또한, LOH는 거의 모든 유형의 암에서 발생하므로, 이 개념은 이러한 모든 암 유형과 관련된 마커를 개발하기 위한 보편적인 도구로 사용될 수 있다. LOH 사건은 어느 정도 무작위적이므로, 본 발명은 환자에서 발생한 특정 LOH 사건에 기초하여 각각의 개별 암 환자에 대한 개인화된 종양 마커의 선택을 추가로 제공한다. 이러한 개념, 즉 상기 aCAR 및 상기 iCAR을 실행하기 위해 사용된 도구는 널리 공지되어 있고, 예를 들어 WO 2015/142314 및 US 9,745,368에 교시된 바와 같이 당업계에 널리 공지된 방법을 사용하여 용이하게 제조될 수 있으며, 상기 두 문헌은 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함된다.

[0128] 한 전략에 따르면, 모든 특정 쌍에서의 2개의 CAR은 환자가 이형접합성인 동일한 표적 유전자의 상이한 대립유전자 변이체의 생성물을 특이적으로 인식한다. 기본 원리는 다음과 같다: 상기 aCAR은, 특정 종양 세포에 의해 발현되고 LOH에 의해 영향을 받지 않는 선택된 세포 표면 단백질의 대립유전자 변이체를 표적화하는 반면, 상기

pCAR 또는 iCAR은 LOH로 인해 이 종양 세포에서 상실된 동일한 유전자의 대립유전자 변이체에 의해 암호화되는 생성물을 표적화한다. 상기 유전자를 발현하는 개별 환자의 기타 정상 조직에는, 두 대립유전자가 존재하고 동등하게 기능하는 것으로 알려져 있으며, 즉, (무작위적인 단일대립유전자 발현을 나타낼 수 있는 다른 유전자와 달리) 발현이 모든 조직에서 이중대립유전자성이다 (문헌 [Chess, 2012; Savova 등, 2016]). 하나의 시나리오에서, 상기 2개의 CAR은 단백질 생성물 상의 동일한 위치에 존재하는, 하나 또는 오직 소수의 아미노산만이 상이한, 2개의 관련 에피토프를 표적화한다. 다른 시나리오에서, 상기 aCAR은 동일한 단백질 상의 비다형성 에피토프를 표적화하는 반면, 상기 pCAR 또는 iCAR은 대립유전자-특이적이다. 이 경우, 정상 세포에서의 aCAR 에피토프의 밀도는 일반적으로 iCAR 또는 pCAR 에피토프의 밀도보다 2배 높을 것이다. 일부 구현예에서, 단일 핵산 벡터는 상기 aCAR 및 iCAR 또는 pCAR 모두를 암호화한다.

[0129] 다른 전략에서, 상기 pCAR 또는 iCAR은 하우스키핑 유전자의 단백질 생성물을 표적화한다. 정의상, 이들 유전자는 신체의 모든 세포에서 발현되므로, 이들은 pCAR 또는 iCAR에 대한 안전한 표적이다. 즉, 상기 pCAR 또는 iCAR이 특정 환자가 이형접합성인 하우스키핑 유전자의 막 생성물을 표적화하는 경우, LOH로 인해 이 대립유전자를 상실한 종양 세포를 제외한 신체의 모든 세포가 보호된다. 이 전략은 pCAR 또는 iCAR 표적 유전자 생성물로부터의 aCAR 표적 유전자 생성물의 분리 (uncoupling)을 가능하게 한다. 실제로, 이 경우 상기 aCAR 표적은 종양에 의해 발현되는 임의의 비다형성 에피토프일 수 있다. 이 전략의 변형은 비다형성 종양-관련 항원, 예를 들어 임상적으로 사용 중이거나 임상 시험에서 시험 중인 aCAR을 표적화하는 공지된 aCAR을, 특정 환자가 이형접합성이고 적어도 종양의 기원 조직에서, 바람직하게는 aCAR 표적 항원이 발현되는 추가적인 중요한 정상 조직에서 발현되는 유전자의 막 생성물에 대해 지시된 iCAR 또는 pCAR와 조합하여 사용한다.

[0130] iCAR/pCAR표적 항원으로부터 aCAR 표적 항원의 분리를 가능하게 하는 동일한 이론적 근거에 따라, iCAR/pCAR표적 항원은 반드시 하우스키핑 유전자의 생성물일 필요는 없다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR은 종양 이외에 상기 aCAR 표적 항원을 발현하는 필수적인 정상 조직을 보호할만큼 발현 패턴이 충분히 넓은 임의의 유전자의 생성물이다. 결론적으로, aCAR 항원은, 하우스키핑 유전자에 대해 논의된 바와 같이, 공지된 '종양-관련 항원'에 국한되지 않는, 종양에 의해 발현되는 임의의 비다형성 에피토프일 수 있으며, 이에 대한 고려는 후보 aCAR의 목록을 크게 확장시킬 수 있다. 일반적으로, 하우스키핑 및 비-하우스키핑 유전자 모두에 대해, 이러한 정상적인 필수적인 조직의 정체성 및 발현 수준은 aCAR가 표적화하는 이러한 후보의 우선 순위 결정에서 중요한 기준으로 작용할 것이다.

[0131] 상기 iCAR에 의해 전송된 억제 신호가 aCAR 신호에 대비해 엄격하고 영구적으로 우세하도록 하며, 상기 iCAR과 상기 aCAR간에 교차 인식이 발생하지 않도록 주의해야 한다. 상기 iCAR의 우세는 두 대립유전자 모두를 발현하는 정상 세포와의 접촉시 살해 세포의 활성화가 방지될 것을 보장한다. 그러나, 이 기본 브레이크는 종양 세포와의 결합시 작동하지 않을 것이다: 표적 항원의 부재시, 상기 iCAR은 억제 신호를 전달하지 않을 것이며, 이는 예측되는 aCAR-매개 세포 활성화 및 후속 종양 세포 용해를 촉발시킨다.

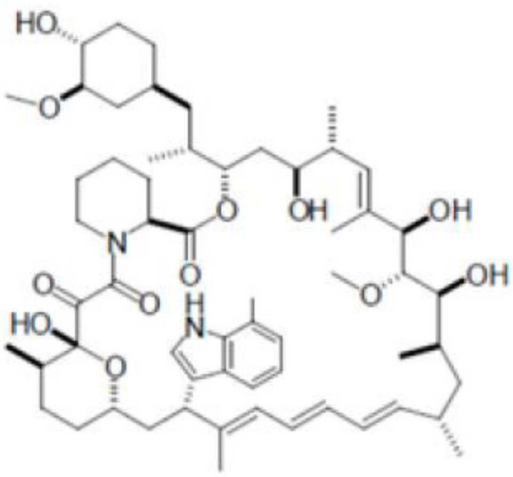
[0132] iCAR 기술은 면역 체크포인트를 기반으로 할 수 있다. 이와 관련하여, PD-1 및 CTLA-4의 조절 요소는, iCAR 신호전달 성분으로서 포함되는 경우, 강력한 T 세포 억제 능력을 갖는다는 입증 (문헌 [Fedorov 등, 2013b; WO 2015/142314])이 유망하나, 이러한 관찰의 보편성에 대해 최근 의문이 제기되었다 (문헌 [Chicaybam and Bonamino, 2014, 2015]). 또한, 이들 체크포인트 단백질에 의해 유발된 정확한 분자 경로는 완전히 이해되지는 않았지만, 이들의 관여는 근위 및 원위 메커니즘을 통해 T-세포 활성화를 약화시켜, T 세포를 수반되는 활성화 자극에 반응하지 않도록 만든다 (문헌 [Nirschl and Drake, 2013]). 따라서, PD-1 및 CTLA-4 iCAR에 의해 확보된 불활성화 상태는 실제로 일시적이고 가역적이지만 (문헌 [Fedorov 등, 2013b]), iCAR 및 aCAR 표적 둘 모두를 발현하는 조직에서 T 세포 활성화를 허용하지 않을 것이다. 대조적으로, 활성화 수용체에 대비한 NK 억제성 수용체의 우세는 건강한 세포가 일시적인 메커니즘보다는 공간적 메커니즘을 통해 NK 세포 공격으로부터 보호된다는 것을 확인시켜 준다. (문헌 [Long 등, 2013]). 단일 NK 세포는 억제성 및 활성화 리간드 둘 모두를 발현하는 저항성 세포를 살리면서도, 이것이 동시에 결합하는 활성화 리간드만을 발현하는 민감 세포를 살해할 수 있다는 설득력 있는 증거가 존재한다. 이러한 정교한 능력은, 결과적으로 세포용해 과립의 세포외배출에 영향을 미치는 각각의 면역 시냅스에서 형성된 신호전달 분자의 상이한 공간적 조직에 의해 통제된다 (예를 들어, 문헌 [Abeyweera 등, 2011; Eriksson 등, 1999; Treanor 등, 2006; Vyas 등, 2001; US 9,745,368]).

[0133] iCAR에 의해 확고해지는 제어에 기초한 전략은 위에서 설명한 바와 같이 aCAR 활성에 대비한 iCAR 활성의 우세에 의존한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 이러한 유형의 iCAR을 제공하며, 이는 본원에서 pCAR (보호 CAR에 대해, 도 2 참조)로 지칭되며, 이는 시냅스-선택적 방식으로 CAR T 세포에서 작동하며 공동 발현된 aCAR에 대비한 완전한 우세를 보장하도록 설계된다. 일부 구현예에서, 본 발명에 의해 제공되는 iCAR은 본원에서 보호 CAR

(pCAR)로 지칭되는 이러한 특정 유형의 iCAR이다.

[0134] 일부 구현예에서, 본 발명의 pCAR은 2개의 기술적 특징을 통합한다. 먼저, 상기 pCAR은, 이들을 2개의 상이한 폴리펩티드 생성물에 유전적으로 배치함으로써, 인식 단위 및 공동자극 요소 (예를 들어, CD28, 4-1BB, CD134 (OX40, GITR, IL2Rβ 및 STAT3 결합 모티프 (YXXQ))로부터의 상기 aCAR의 활성화 모이어티 (FcRɣ/CD3-ζ)의 분리를 가능하게 한다. aCAR 기능에 필수적인, 이들 요소의 재결합은 각각의 폴리펩티드에 개별적으로 포함된 각각의 결합 부위를 연결할 수 있는 이종이량체화 약물의 첨가에 의해서만 발생한다 (**도 2b**). 유사하게 분할된 인식 및 활성화 모이어티를 이종이량체화 약물에 의해 연결하는 것에 의한 완전히 기능적인 CAR의 재구성이 최근 Wu 등 (문헌 [Wu 등, 2015])에 의해 보고되었다. 이러한 목적을 위해, 이들 저자는 라파마이신 유사체 AP21967 (하기 화학식 I)의 존재하에 이종이량체화되는 FKBP-라파마이신 결합 도메인 (FRB, 89개 아미노산)의 T2089L 돌연변이체 및 FK506 결합 단백질 도메인 (FKBP, 104개 아미노산)을 사용하였다. 이 약물은 라파마이신과 비교하여 1000배 적은 면역억제 활성을 가지며 (문헌 [Bayle 등, 2006; Graef 등, 1997; Liberles 등, 1997]) 상업적으로 입수가능하다 (ARGENTTM, Regulated Heterodimerization Kit, ARIAD). 일부 구현예에서, 상기 약물은 경구 투여된다.

[0135] **화학식 I.** AP21967의 구조



[0136]

[0137] 둘째로, 2개의 막내 절단 부위를 포함하는 RIP-제어된 수용체의 막횡단 도메인의 2개의 표면에 pCAR 인식 단위 및 결손 활성화 도메인을 각각 이식한다 (**도 2a**). 상기 pCAR의 그의 항원에 대한 결합은 먼저 엑토도메인을 제거하는 세포외 디스인테그린 및 금속단백분해효소 (ADAM) 패밀리의 구성원, 및 이후, 상기 pCAR의 세포내 도메인을 유리시키는 세포내 ɣ-세크레타제에 의한 암호화된 폴리펩티드의 이중 절단을 유발한다. 이 제1 절단 사건은, 절단된 aCAR이 그의 결손 활성화 요소의 기능적이고 막-고정된 구성에 접근하는 능력을 방해하여, 작동 모드를 획득할 것으로 예측된다 (**도 2c**). 이 원리는 최근에, RIP를 통해 기능하는 잘 연구된 2개의 수용체인 노치 수용체 (문헌 [Morsut 등, 2016; Roybal 등, 2016b]) 또는 상피 세포 부착 분자 (EpCAM, Pizem, Y., M.Sc. 본 발명자 감독하의 논문)를 적용한, CAR T 세포 활성을 종양 세포 상의 2개의 상이한 항원의 동시 인식으로 제한하도록 설계된 새로운 유전자 스위치의 개발에 이용되었다. 이들 연구에서, 하나의 항원에 대한 RIP-기반 CAR의 결합은 유전자적으로-조작된 세포내 도메인을 방출하며, 이는 세포핵으로 이동하며, 이 곳에서 이는 제2 CAR의 발현을 촉발한다. 본 발명과 달리, 이는 보호 항원의 존재하에 임의의 잠재적인 aCAR 활성을 해제하기 위해서만 이 공정을 이용한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 절단 사건은, 절단된 aCAR이 그의 결손 활성화 요소의 기능적이고 막-고정된 구성에 접근하는 능력을 방해하여, 작동 모드를 획득한다.

[0138] 전술된 제안된 작용 방식은 동일한 시냅스에 존재하는 aCAR만이 영향을 받고 더 이상 이들의 항원에 생산적으로 결합하여 면역학적 시냅스를 형성할 수 없도록 국소 효과를 발휘할 것으로 예측된다. 결과적으로, 다수의 비종양 세포와 상기 aCAR의 다중 상호작용이 일어날 가능성이 있는 경우에도, 이들은 세포가 추가 상호작용을 완전히 수행할 수 있도록 단지 일시적이고 비기능성일 것으로 예측된다.

[0139] 상기 pCAR의 이들의 aCAR 대응물에 대비한 우세는 이 시스템에 내재되어 있는데, 이는 상기 aCAR의 기능이 상기 pCAR의 존재에 전적으로 의존하기 때문이다. 특정 T 세포에서의 pCAR의 상대적 부족은 활성화 도메인의 부족으로 인해 상기 aCAR을 비기능성으로 만들 것이다. 일부 구현예에서, 특정 T 세포에서의 pCAR의 부족은 활성화 도메인의 부족으로 인해 상기 aCAR을 비기능성으로 만든다.

[0140] 인식 도메인 및 활성화 도메인 둘 모두가 원형질 막에 국한되는 것이 중요하다 (문헌 [Wu 등, 2015]). 따라서, 활성화 도메인을 원형질 막으로부터 분리시키는 제2 절단은 이 도메인을 비기능성으로 만들고 원치않는 세포 활성화를 방지할 것이다. 일부 구현예에서, 인식 도메인 및 활성화 도메인이 원형질 막에 국한되는 것이 중요하다. 일부 구현예에서, 상기 제2 절단은 활성화 도메인을 원형질 막으로부터 분리시키고, 이 도메인을 비기능성으로 만들고, 원치않는 세포 활성화를 방지한다.

[0141] 상기 aCAR 및 pCAR은 상호 배타적인 메커니즘을 통해 기능하도록 설계된다. 상기 pCAR가 절단을 거치는 능력은 억제 신호전달의 강도에 의존하지 않으므로 신호전달 결과에 대한 완료가 발생하지 않는다. 상기 pCAR이 절단되는 한, 상기 aCAR은, 이들과 이들의 각각의 항원의 상호작용의 상대적인 결합력에 관계없이, 기능할 수 없으며, 이는 또 다른 중요한 수준의 안전성을 확보하는 시나리오이다.

[0142] 일부 구현예에서, 상기 포유류 조직은 인간 조직이고, 다른 구현예에서 상기 관련 포유류 정상 조직은 종양이 발생한 정상 조직이다.

[0143] 일부 구현예에서, 상기 효과기 면역 세포는 T 세포, 자연 살해 세포 또는 사이토카인-유도 살해 세포이다.

[0144] 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 억제할 수 있는 적어도 하나의 신호전달 요소는 면역 체크포인트 단백질, 예를 들어 PD1; CTLA4; BTLA; 2B4; CD160; CEACAM, 예를 들어 CEACAM1; KIRs, 예를 들어 KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, LIR1, LIR2, LIR3, LIR5, LIR8 및 CD94-NKG2A; LAG3; TIM3; T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제자 (VISTA); 인터페론 유전자의 자극기 (STING); 면역수용체 티로신계 억제 모티프 (ITIM)-함유 단백질, T 세포 면역글로불린 및 ITIM 도메인 (TIGIT), 및 아데노신 수용체 (예를 들어, A2aR)로 이루어진 군으로부터 선택된 면역 체크포인트 단백질의 신호전달 요소와 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 면역 체크포인트 단백질은 음성 면역 조절인자이다. 일부 구현예에서, 상기 음성 면역 조절인자는 2B4, LAG-3 및 BTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0145] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 단백질은 자연 살해 세포 억제성 수용체, 예를 들어 KIR, 예를 들어 KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3; 또는 백혈구 Ig-유사 수용체, 예를 들어 LIR1, LIR2, LIR3, LIR5, LIR8; 및 CD94와 이종이량체를 형성하고 2개의 ITIM을 포함하는 C 형 렉틴 수용체인 CD94-NKG2A이다.

[0146] iCAR에서 살해 세포 수용체를 제조 및 사용하는 방법은 US 9,745,368에 기술되어 있으며, 이 문헌은 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함된다.

[0147] 일부 구현예에서, 상기 구현예 중 어느 하나의 세포외 도메인은 가요성 힌지 및 막횡단 표준적 모티프를 통해 상기 세포내 도메인에 융합된다.

[0148] i. 표적 식별: aCAR, iCAR 및 pCAR

[0149] 본 발명은 세포외 다형성 에피토프를 갖는 후보 유전자의 식별에 기반한 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR 표적을 식별하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 종양 조직에 발현되는 임의의 세포외 단백질에 대해 지시될 수 있다. 일부 구현예에서, aCAR 표적은 비종양 조직에서 추가로 발현되고, 상기 iCAR 표적 또한 비종양 조직에서는 발현되지만 종양 조직에서는 발현되지 않는다.

[0150] 일부 구현예에서, 후보 유전자를 식별하는 상기 방법은 먼저 유전자가 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 막횡단 단백질을 암호화하는지를 확인하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 후보 유전자를 식별하는 상기 방법은 유전자가 적어도 2개의 발현된 대립유전자를 갖는지를 확인하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 이들 대립유전자는 적어도 하나의 대립유전자 변이를 나타낸다. 일부 구현예에서, 상기 대립유전자 변이는 예를 들어, 하나 이상의 SNP의 존재, 삽입 및/또는 결실을 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자에 대해 발견된 상기 대립유전자 변이는 단백질의 세포외 영역에서 기준 서열에 대비한 아미노산 변화를 야기한다. 일부 구현예에서, 상기 유전자는 이형접합성 상실 (LOH)을 겪는 염색체 영역에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 유전자는 암에서 이형접합성 상실 (LOH)을 겪는 염색체 영역에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 유전자는 상응하는 영역이 LOH를 겪는 것으로 밝혀진 종양 유형의 기원 조직에서 발현된다. 일부 구현예에서, 상기 유전자는 적어도, 상기 aCAR이 발현되는 하나 이상의 조직에서 발현된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR 표적은 상기 aCAR이 발현되는 필수적인 기관 세포에서 발현된다.

[0151] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프를 갖는 유전자의 식별에 기초하여 선택되고, 여기서 상기 유전자는 적어도 2개의 발현된 대립유전자를 갖는다. 일부

구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 이형접합성 상실을 겪는 염색체 영역에 위치한 유전자의 식별에 기초하여 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 암에서 이형접합성 상실을 겪는 염색체 영역에 위치한 유전자의 식별에 기초하여 선택된다. 일부 구현예에서, 이론적 SNP에 대한 점수가 계산되고 허용 한계가 결정된다. 예를 들어, SNP의 32%만이 염색체에 종양 억제 유전자를 가진 경우, 이를 갖는 것에 대한 백분위 점수는 0.68일 것이다. 또한, 예를 들어, 대립유전자가 0.49의 부수적 대립유전자 분율 (여기서 0.5가 가능한 최고 값임)을 갖는 경우, 백분위 점수는 0.99일 것이다. LOH의 비율이 0.10이고 SNP의 75%가 이보다 많은 LOH를 가진 경우, 백분위 점수는 0.25일 것이다. 이 SNP를 보유하는 유전자에 대해 중간값에 대한 조직 전체에 걸친 발현 값의 표준 편차의 비가 1.3이고, 이것이 다른 유전자의 90%보다 우수한 경우, 백분위 점수는 0.9이다. 이 경우 이 SNP의 총점은 0.68*0.99*0.25*0.9=0.15일 것이다. 일부 구현예에서, 이 LOH 후보 점수는 후보 유전자가 적합한 iCAR 또는 pCAR 표적인지를 결정하는 하나의 방법으로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 표적은 이 LOH 점수에 기초하여 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 후보 유전자는 iCAR 또는 pCAR 표적으로 적합한 것으로 결정된다. 0.4 초과의 LOH 후보 점수에 기초한 LOH 후보.

[0152] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프를 갖는 유전자로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 표적은 1번 염색체, 2번 염색체, 3번 염색체, 4번 염색체, 5번 염색체, 6번 염색체, 7번 염색체, 8번 염색체, 9번 염색체, 10번 염색체, 11번 염색체, 12번 염색체, 13번 염색체, 14번 염색체, 15번 염색체, 16번 염색체, 17번 염색체, 18번 염색체, 19번 염색체, 20번 염색체, 21번 염색체, 22번 염색체, 또는 X 염색체에 위치한 유전자이다.

[0153] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 1번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1, 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0154] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 2번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO, 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0155] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 3번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1, 및 ZPLD1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0156] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 4번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8,

PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1, 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0157] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 5번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLCO6A1, SV2C, TENM2, TIMD4, 및 UGT3A1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0158] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 6번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1, 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 6번 염색체에 위치하며, HLA 표적을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G이다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 HLA-A2이다.

[0159] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 7번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN, 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0160] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 8번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLCO5A1, TNFRSF10A, 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0161] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 9번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2, 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0162] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 10번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B, 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0163] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 11번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE,

MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18, 및 ZP1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0164] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 12번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO1B7, SLCO1C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8, 및 VSIG10로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0165] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 13번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6, 및 TNFRSF19로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0166] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 14번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4, 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0167] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 15번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRNB4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSMD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1, 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0168] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 16번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219, 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0169] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 17번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRNB1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2, 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0170] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 18번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15, 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0171] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 19번 염색체에 위치한다. 일부 구현

예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR1I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B, 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0172] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 20번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4, 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0173] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 21번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2, 및 UMODL1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0174] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 22번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6, 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0175] 일부 구현예에서, 상기 세포외 다형성 에피토프를 포함하는 상기 유전자는 X 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4, 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0176] 일부 구현예에서, 상기 암을 치료하는데 사용되는 aCAR은, 표적화된 단백질이 발현되는 모든 정상 조직에서 상기 iCAR이 발현되는 한, 종양 조직에서 발현되는 임의의 막 단백질에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은, 본원에 열거된 기준에 따라, 종양 관련 단백질, 종양 관련 항원 및/또는 임상 시험 중의 항원, 표 1에 열거된 CAR 표적뿐만 아니라 표적 결합과 관련하여 iCAR이 매칭되거나 짝을 이룰 수 있는 종양 조직에서 발현되는 임의의 세포 표면 단백질에 특이적으로 결합하거나, 또는 이에 대해 지시될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR이 상기 aCAR과 동일한 조직 또는 임의의 필수적인 조직에서는 발현되지만 종양 세포에서는 상실되는 한, 상기 aCAR은 세포외 도메인을 갖는 임의의 발현된 단백질일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 암을 치료하는데 사용되는 aCAR, 예를 들어 상기 언급된 암 유형 중 어느 하나는 CD19와 같은 **표 1**에 열거된 항원으로부터 선택된 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR 표적은 세포외 도메인을 갖는 임의의 표적이다. 일부 구현예에서, 상기 암을 치료하는데 사용되는 aCAR은 다음의 항원 목록으로부터 선택되지만 이에 제한되지는 않는 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다: CD19, CD20, CD22,CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Igκ, ROR1, ROR2, CD30, LewisY, CD33, CD34,CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2,GD3,hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR-α, L1-CAM, ErbB2,3,4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13Rα2, FAP, 메소텔린, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGE-A1, MUC1MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80 CD89, CDH17,CLD18, GPC3, TEM8, TGFB1, NY-ESO-1 WT-1 및 EGFR. 일부 구현예에서, 상기 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR 표적은 **표 1에** 열거된 항원이다.

표 1

표 1. *ClinicalTrials.gov* 에 등록된 시험에서 평가된 일부를 비롯한 CAR 표적 항원

	항원	주요 구조적/기능적 특징	악성 종양	잠재적 종양-외 표적
혈액 악성 종양	CD19	BCR 에 의한 신호전달에 관여하는 범-B 세포 마커	ALL, CLL, NHL, HL, PLL	정상적인 B 세포
	CD20	테트라-막횡단, Ca 수송 및 B-세포 활성화의 조절	CLL, NHL	정상적인 B 세포
	CD22	B-계통 특이적 부착 수용체, 시알산-결합 Ig형 렉틴 패밀리	ALL, NHL	정상적인 B 세포
	Igκ	정상적인 인간 B 세포의 약 65%에 의해 발현되는 Ig 경쇄 이소타입	CLL, NHL, MM	정상적인 B 세포
	ROR1	I형 티로신-키나제-유사 고아 수용체, 종양에서의 생존-신호전달 수용체	CLL, NHL	췌장; 지방성 세포
	CD30	TNFR 구성원, NF-κB를 수반하는 세포 성장 및 생존에 대한 다면발현성 효과	NHL, TCL, HL	휴지 CD8 T 세포; 활성화된 B 및 Th2 세포
	$Lewis^Y$	(CD174) 2개의 푸코스 군을 갖는 막 올리고당	AML, MM	초기 골수성 전구세포
	CD33	골수단핵구 계통의 부착 분자 역할을 하는 시알산-결합 Ig형 렉틴	AML	조혈 전구체; 골수단핵구 전구체; 단핵구
	CD123	IL-3 수용체의 α 사슬	AML	BM 골수성 전구체; DC, B 세포; 비만 세포, 단핵구; 대식세포; 거핵구; 내피 세포
	NKG2D-L	MHC-1 분자와 유사성을 갖는 NK 및 T-세포 활성화 수용체 NKG2D에 대한 리간드; 염증 동안 상향조절됨	AML, MM	위장 상피, 내피 세포 및 섬유아세포;
	CD139	신데칸-1, 세포 표면 헤파란 설페이트 프로테오글리칸, ECM 수용체	MM	전구체 및 혈장 B 세포; 상피
	BCMA	TNFR 구성원, BAFF 및 APRIL에 결합, 증식 신호전달에 관여	MM	B 세포
	TACI		MM	단핵 세포, 심장

[0177]

고형 종양	GD2	디시알로강글리오시드	NB; 육종; 고형 종양	피부; 뉴런
	FR-α	GPI-연결된 엽산 수용체, 감소된 엽산 보조 인자의 흡수 기능	난소암	신장, 폐, 갑상선, 신장 및 유방 상피의 선단 표면
	L1-CAM	CD171, Ig 수퍼패밀리의 뉴런 세포 부착 분자	NB	CNS; 교감 신경절; 부신 수질
	ErbB2	HER2, 수용체 티로신-단백질 키나제의 EGFR 패밀리 구성원	뇌, CNS, 신경교종, GBM, H&N, 고형 종양	위장, 호흡기, 생식 및 요로 상피, 피부, 유방 및 태반; 조혈 세포
	EGFRvIII	스플라이스 변이체, 지속적으로 생존촉진 신호를 전달하는 절단된 세포외 도메인을 암호화하는 증폭된 EGFR 유전자의 프레임내 결실	뇌, CNS, 신경교종, GBM	없음
	VEGFR-2	Ig 수퍼패밀리의 III형 막횡단 키나제 수용체, 혈관 내피 기능 조절	고형 종양	혈관 및 림프 내피
	IL-13Rα2	2개의 IL-13 수용체 중 하나의 α 사슬	뇌, CNS, 신경교종, GBM	성상세포; 뇌; H&N 조직
	FAP	세포 표면 세린 프로테아제	중피종	만성 염증의 섬유아세포, 상처 치유, 조직 리모델링
	메소텔린	기능이 알려지지 않은 40-kDa 세포 표면 당단백질	중피종, 췌장, 난소	복막, 흉막 및 심낭 중피 표면
	c-MET	간세포 성장 인자 수용체 (HGFR), 이황화 연결된 α-β 이종이량체 수용체 티로신 키나제	TNBC	간, 위장관, 갑상선, 신장, 뇌
	PSMA	N-아세틸화된 알파-연결된 산성 디펩티다제 및 엽산 가수 분해 효소 활성을 갖는 II형 막 당단백질	전립선	정상 전립선 및 장 상피 및 신장 근위 관 세포의 선단 표면
	CEA	표면 당단백질, 세포 부착 분자의 CEA-관련 패밀리 및 Ig 수퍼패밀리의 구성원	결장직장, 유방, 고형 종양	선단 상피 표면: 결장, 위, 식도 및 혀
	EGFR	ErbB1, Her1, 리간드 결합시 세포 분화 및 증식을 신호하는 수용체 티로신 키나제	고형 종양	상피, 중간엽 및 신경 기원의 조직

[0178]

	5T4	m의 세포 표면에서 발현되는 종양-관련 항원	고형 종양	상피 기원의 조직
	GPC3	헤파란 설페이트 프로테오글리칸,	고형 종양	비뇨기 조직
	ROR1	수용체 티로신 키나제 유사 고아 수용체	고형 종양 및 CLL	비뇨기, 췌장, 결장, 난소, 뇌, 단핵구
	MUC 유전자 (MUC-1, MUC-16)	상피 표면에 보호 점막 장벽을 형성하는데 필수적인 역할을 하는 O-글리코실화 단백질	고형 종양	결장, 신장, 폐, 유방, 췌장 비뇨기
	PDL1	조혈 및 비조혈 세포에 의해 발현되는 면역 억제성 수용체 리간드	폐	비장, 유방

[0179]

표 2

표 2: 다른 CAR 표적 항원

	항원	주요 구조적/기능적 특징	악성 종양
혈액학	CD38	막횡단 신호전달 및 세포 부착에 관여하는 표면 시클릭 ADP 리보스 가수 분해 효소	CLL, NHL, MM
	CS1	세포 표면 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM)	MM
고형 종양	PSCA	Thy-1/Ly-6 패밀리의 GPI-고정된 막 당단백질	전립선, 방광, 췌장
	CD44v6	히알루로네이트 수용체 CD44의 선택적으로 스플라이싱된 변이체 6	H&N, 간, 췌장, 위, 유방, 결장; AML, NHL, MM
	CD44v7/8	히알루로네이트 수용체 CD44의 선택적으로 스플라이싱된 변이체 7/8	유방, 자궁경부
	MUC1	당단백질의 뮤신 패밀리의 촘촘히 글리코실화된 구성원	결장, 폐, 췌장, 유방, 난소, 전립선, 신장, 위, H&N
	L-11rα	IL-11 수용체의 α 아단위	결장, 위, 유방, 전립선; 골육종
	EphA2	에리트로포이에틴-생산 간세포 암종 A2 (EphA2) 수용체, 수용체 티로신 키나제의 Eph 패밀리의 구성원	신경교종; 유방, 결장, 난소, 전립선, 췌장
	CAIX	막횡단 아연 금속효소	RCC; 저산소증에서 종양
	CSPG4	고분자량 흑색종-관련 항원, 세포 표면 프로테오글리칸	RCC; 저산소증에서 종양

[0180]

[0181] ii. 인식 모이어티: aCAR, iCAR 및 pCAR

[0182] 본 발명은 또한 상기 표적에 대한 특이적인 결합을 제공하도록 설계된 인식 모이어티를 제공한다. 상기 인식 모이어티는 상기 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR의 특이적이고 표적화된 결합을 지시할 수 있게 한다. 일부 구현예에서, 상기 표적에 대한 특이적인 결합을 제공하도록 설계된 인식 모이어티는 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이적 결합을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 인식 모이어티는 상기 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인의 일부이다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 도메인은 항체, 그의 유도체 또는 단편, 예를 들어 인간화 항체; 인간 항체; 항체의 기능적 단편; 나노바디 (nanobody)와 같은 단일-도메인 항체; 재조합 항체; 및 단일쇄 가변 단편 (ScFv)을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 도메인은 항체 모방 체, 예를 들어 어피바디 (affibody) 분자; 아필린 (affilin); 아피머 (affimer); 아피틴 (affitin); 알파바디 (alphabody); 안티칼린 (anticalin); 아비머 (avimer); 다르핀 (DARPin); 피노머 (fynomer); 쿠니츠 (Kunitz) 도메인 펩티드; 및 모노바디 (monobody)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 도메인은 앱타머를 포함한다.

[0183] 일반적으로, 임의의 관련 기술이, 상기 aCAR 및 pCAR 또는 iCAR의 이들의 표적에 대한 특이적인 결합을 부여하는 인식 모이어티를 조작하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 이 iCAR-aCAR 라이브러리를 포함하는 인식 모이어티는 조합적 디스플레이 라이브러리로부터 이상적으로 선택된 마스터 인식 모이어티 풀 (master recognition moiety pool)로부터 유래할 수 있으며, 결과적으로,

[0184] - 총체적으로, 선택된 인식 모이어티는 22개의 모든 인간 상염색체의 두 아암 각각에 존재하는 유전자 어레이의 세포-표면 생성물을 표적화한다. 이웃 유전자 간의 거리가 짧을수록 범위가 더 넓어지고, 따라서 용도의 보편성이 더 커진다.

[0185] - 선택된 유전자 각각에 대해, 대립유전자-특이적 인식 모이어티의 세트가 단리되고, 각각은 인간 집단에서 우세한 상이한 대립유전자 변이체들 간의 엄격한 구별을 가능하게 한다. 표적화된 변이체의 수가 많을수록 환자에게 제공될 수 있는 치료 유전자 쌍의 수가 많다.

[0186] 특정 대립유전자 생성물은, 각각의 경우에서의 특정 LOH 패턴에 따라, 한 환자에서는 잠재적인 pCAR 또는 iCAR 표적이 될 수 있고, 동일한 대립유전자를 갖는 다른 환자에서는 유용한 aCAR 표적이 될 수 있다. 따라서, 적합한 인식 모이어티 유전자가 식별되는 경우, 각각은 pCAR 또는 iCAR 및 aCAR 유전자 스캐폴드 모두에 이식된다. 따라서, 동일한 유전자의 대립유전자 변이체에 대해 지시된 모든 인식 모이어티는 유사한 범위의 결합 친화도를 갖는 것이 바람직하다. 인식 모이어티의 이러한 특정 세트 내에서, 전체 집단에서 해당 유전자의 잠재적 대립유전자 조성의 가장 높은 범위를 보장하기 위해 pCAR-aCAR 또는 iCAR-aCAR 쌍의 모든 가능한 조합이 사전 조립될 수 있다.

[0187] 일부 구현예에서, 환자는, 그 생성물이 비동의 SNP 또는 덜 빈번하게는 삽입-결실의 결과로서 암호화된 폴리펩티드를 따라 단일 위치에 있어 상이한 주요 대립유전자 및 부수적 대립유전자에 대해 이형접합성이다. 일부 다른 구현예에서, 환자는 2개의 별개의 위치에서 주요 대립유전자와 상이한 2개의 부수적 대립유전자에 대해 이형접합성이다. 개별 환자에서의 상기 유전자를 수반하는 특정 LOH 사건에 따라, 특정 변이체 에피토프는 한 환자에서 iCAR 표적으로 작용하고 다른 환자에서는 aCAR 표적으로 작용할 수 있다. 일부 구현예에서, iCAR 표적으로 작용할 수 있는 변이체 에피토프는 주요 대립유전자 변이체가 아니다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 표적으로 작용할 수 있는 변이체 에피토프는 부수적 대립유전자이다.

[0188] 변이체-특이적 mAb의 식별 (즉, 부수적 대립유전자 'a'에 의해 암호화되는 에피토프에 특이적인 mAb)은 당업계에 널리 공지되어 있으며, 원칙적으로, 임의의 통상적인 항원 결정기에 대한 mAb의 식별과 유사하며, 일반적으로, 예를 들어 파지 (문헌 [Barbas 등, 2004]), 리보솜 (문헌 [Hanes 등, 1997]) 또는 효모 (문헌 [Chao 등, 2006]) 디스플레이 기술을 이용하여 재조합 항체 scFv 라이브러리의 고처리량 스크리닝을 통해 가장 잘 달성될 수 있다. 라이브러리 스크리닝에 사용되는 항원은, 2개의 대립유전자 사이에 변이 위치를 포괄하는 합성 펩티드 (전형적으로 15-20개 아미노산 길이 또는 그 이상), 상업적으로 입수가능하거나 이 분야에서 사업하는 많은 회사 중 하나에 의해 맞춤 합성될 수 있는 재조합 전장 폴리펩티드, 또는 심지어, 이 대립유전자를 발현하지 않는 동일한 세포에서 수행된 추출 단계 후에 수행된 유전자 형질감염 (예를 들어, pGEM4Z/A64 벡터에서 시험관내 mRNA 전사를 위한 주형으로서 클로닝된 전장 cDNA를 암호화하는 mRNA의 전기천공 (문헌 [Boczkowski 등, 2000]))에 의해 높은 수준으로 상기 대립유전자 변이체를 발현하는 전체 세포일 수 있다. 이들 방법은 널지 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) Green and Sambrook, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Antibodies: A Laboratory Manual (Second Edition), Edited by Edward A. Greenfield, 2012 CSH laboratory press; Using Antibodies, A laboratory manual by Ed Harlow 및 David Lane, 1999 CSH laboratory press]에 기술되어 있다.

[0189] 정의상, 주요 대립유전자 ('A')에 의해 암호화되는 상응하는 에피토프 (동일한 위치)는 단일 아미노산 (SNP)의 정체성 또는 길이 (삽입-결실; 예를 들어 삽입 또는 결실)에 있어 'a'에 의해 생성된 것과 상이한 고유한 항원 결정기를 생성한다. 이 결정기는, 원칙적으로, 동일한 또는 기타 항체 디스플레이 스크리닝 기술에 의해 식별된 상이한 mAb 세트에 의해 인식될 수 있다. 식별된 mAb의 두 세트 각각의 별개의 구성원이 두 에피토프 또는 변이체를 구별하는 능력, 예를 들어, 제1 세트의 항체는 대립유전자 'a'의 생성물에 결합하지만 'A'의 생성물에는 결합하지 않고, 제2 세트의 Ab는 'A'와 상호간에 결합하지만 'a'에 결합하지 않는 것은, ELISA 또는 유세포 분석 (문헌 [Skora 등, 2015]) 또는 세포 염색을 위한 기타 기술과 같은 통상적인 결합 분석을 사용하여 측정할 수 있다. 대안적으로, 'A'에 결합하지 않는 'a'-결합 Ab가 식별되고 그의 단백질 서열이 확인되고 나면, 잠재적으로 계산 방법을 사용하여 'A'에 결합하지만'a'에는 결합하지 않는 '상보적인' 항체 scFv의 서열을 예측할 수 있다. 이러한 계산 방법에 대해서는 예를 들어 문헌 [Sela-Culang 등, 2015a,b]를 참조한다.

[0190] 일부 구현예에서, 예를 들어 표적 유전자로서의 HLA-클래스 I 유전자좌 유전자 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C와 관련하여, 이용가능한 다수의 대립유전자-특이적 단일클론 항체가 존재하며, 실시예 3에 열거된 항체를 예로 들 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0191] 일부 구현예에서, 인식 모이어티의 생성에 사용하기 위한 표적은 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 표적은 1번 염색체, 2번 염색체, 3번 염색체, 4번 염색체, 5번 염색체, 6번 염색체, 7번 염색체, 8번 염색체, 9번 염색체, 10번 염색체, 11번 염색체, 12번 염색체, 13번 염색체, 14번 염색체, 15번 염색체, 16번 염색체, 17번 염색체, 18번 염색체, 19번 염색체, 20번 염색체, 21번 염색체, 22번 염색체, 또는 X 염색체에 위치한 유전자의 생성물이다.

[0192] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 1번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사

용하기 위한 인식 모이어티는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1, 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0193] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 1번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1, 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0194] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 2번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO, 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0195] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 2번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO, 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0196] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 3번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15,

LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1, 및 ZPLD1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0197] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 3번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1, 및 ZPLD1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0198] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 4번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1, 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0199] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 4번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1, 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0200] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 5번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLCO6A1, SV2C, TENM2, TIMD4, 및 UGT3A1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0201] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 5번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLCO6A1, SV2C, TENM2, TIMD4, 및 UGT3A1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유

전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0202] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 6번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1, 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0203] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 6번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1, 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0204] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 7번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN, 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0205] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 7번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN, 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0206] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 8번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLCO5A1, TNFRSF10A, 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0207] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 8번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2,

SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLCO5A1, TNFRSF10A, 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0208] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 9번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2, 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0209] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 9번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2, 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0210] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 10번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B, 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0211] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 10번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B, 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0212] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 11번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18, 및 ZP1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0213] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 11번 염색체로부

터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18, 및 ZP1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0214] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 12번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO1B7, SLCO1C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8, 및 VSIG10로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0215] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 12번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO1B7, SLCO1C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8, 및 VSIG10로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0216] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 13번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6, 및 TNFRSF19로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0217] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 13번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6, 및 TNFRSF19로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0218] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 14번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2,

LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4, 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0219] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 14번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4, 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0220] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 15번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRNB4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSMD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1, 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0221] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 15번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRNB4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSMD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1, 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0222] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 16번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219, 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0223] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 16번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219, 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0224] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 17번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRNB1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2, 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0225] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 17번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRNB1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R,

GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2, 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0226] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 18번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15, 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0227] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 18번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15, 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0228] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 19번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR1I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B, 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0229] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 19번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR1I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B, 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0230] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 20번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4, 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0231] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 20번 염색체로부터 선택된 유전자로부

터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4, 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0232] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 21번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2, 및 UMODL1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0233] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 21번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2, 및 UMODL1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0234] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 22번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6, 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0235] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 22번 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6, 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0236] 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 X 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4, 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0237] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 X 염색체로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4, 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0238] 이들 항체의 가변 영역을 암호화하는 서열은 관련 하이브리도마로부터 용이하게 클로닝될 수 있고, 예를 들어, 특정 HLA 클래스-I 대립유전자 에피토프 변이체에 대한 scFv를 비롯한 임의의 목적하는 표적에 대한 scFv를 암호화하며, 예를 들어, 문헌 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) Green 및 Sambrook, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Antibodies: A Laboratory Manual (Second Edition), Edited by Edward A. Greenfield, 2012 CSH laboratory press; Using Antibodies, A laboratory manual by Ed Harlow 및 David Lane, 1999 CSH laboratory press]에 개시된 널리 이용가능한 도구를 사용한 CAR 구조체 내로의 혼입에 적합한 유전자를 구축하는데 사용될 수 있다.

[0239] 본 발명은 LOH로 인해 종양 세포에서 상실되며 세포-표면 생성물을 암호화하는 다형성 변이체의 DNA 서열을 포함하는 데이터베이스를 제공하며, 여기서 상기 DNA 서열에서의 변이는 암호화된 단백질의 세포외 도메인의 아미노산 서열에서의 변이를 초래한다. 이 정보는, 특히 다양한 종양 유형에서의 유전자의 상대 카피 수를 추정하는데 사용될 수 있는 데이터를 제공하는 일반 대중에게 공개된 여러 데이터베이스, 예를 들어 공공 미국 국립 보

건원 (National Institute of Health) TCGA 데이터 포털 (https://gdc.cancer.gov/)에서 입수가능한 TCGA 및 TCGA에 대한 cbio 포털 (http://www.cbioportal.org) (문헌 [Cerami 등, 2012, Gao 등, 2013]); 특히 다양한 집단에서의 SNP 변이체의 대립유전자 빈도를 제공하는 진유전체 통합 컨소시엄 (Exome Aggregation Consortium (ExAC)) 데이터베이스 (exac.broadinstitute.org, 문헌 [Lek 등, 2016]); 유전자에 대한 조직 발현 데이터를 포함하는 유전자형-조직 발현 (Genotype-Tissue Expression (GTEX)) 데이터베이스 v6p (dbGaP Accession phs000424.v6.p1) (https://gtexportal.org/home, Consortium GT. Human genomics, 2015); 및 단백질의 구조적 정보를 제공하는 데이터베이스, 예를 들어 인간 단백질 아틀라스 (Human Protein Atlas) (문헌 [Uhlen 등, 2015]); N-글리코실화된 세포-표면 단백질의 질량 분석 기반 데이터베이스인 세포 표면 단백질 아틀라스 (Cell Surface Protein Atlas) (문헌 [Bausch-Fluck 등, 2015]), 및 UniProt 데이터베이스 (www.uniprot.org/downloads)로부터 검색되었다.

[0240] 본 발명은 LOH를 겪는 발현된 세포-표면 단백질을 암호화하는 유전자의 전장 게놈 식별 방법을 추가로 제공한다. 상기 식별된 유전자는 다음 기준을 충족해야 한다: 1) 상기 유전자는 막횡단 단백질을 암호화하며, 따라서 세포 표면에 일부가 발현되게 하여 iCAR 또는 pCAR 결합을 허용한다; 2) 상기 유전자는 (적어도 하나의 확인된 인종 집단에서의) 적어도 2개의 발현된 대립유전자를 갖는다; 3) 상기 유전자에 대해 발견된 대립유전자 변이는 단백질의 세포외 영역에서 기준 서열에 대비한 아미노산 변화를 일으킨다; 4) 상기 유전자는 암에서 LOH를 겪는 염색체 영역에 위치한다; 5) 상기 유전자는 상응하는 영역이 LOH를 겪는 것으로 밝혀진 종양 유형의 기원 조직에서 발현된다.

[0241] 원칙적으로, iCAR 또는 pCAR 결합을 위한 표적을 암호화하기에 적합한 전술된 유전자들은 데이터베이스 마이닝 (database mining)뿐만 아니라 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 식별될 수 있다. 예를 들어, LOH의 개념은 새로운 것이 아니고, 특정 종양의 특정 유전자, 염색체 또는 게놈/염색체 영역에 대한 LOH 정보는 이미 문헌에 공개되어 있으며, 따라서 후보 유전자는 입수가능한 간행물로부터 도출될 수 있다. 대안적으로, 이러한 정보는 미소부수체 프로브와 같은 염색체 마커를 사용한 전장 게놈 혼성화 (문헌 [Medintz 등, 2000, Genome Res. 2000 Aug; 10(8): 1211-1218]) 또는 다른 적절한 방법(문헌 [Ramos and Amorim, 2015, J. Bras. Patol. Med. Lab. 51(3):198-196])에 의해 발견될 수 있다.

[0242] 유사하게, 대립유전자 변이체에 관한 정보는 다양한 데이터베이스에서 공개적으로 이용가능하며, 또한 개인화된 경우에 대해 의심되는 영역의 게놈 시퀀싱에 의해 쉽게 입수될 수 있다. 또한, 단백질 구조 및 발현 패턴에 관한 정보는 전술된 바와 같이 공개적으로 이용가능하고 쉽게 접근가능하다.

[0243] 따라서, 많은 유전자 및 SNP에 대한 다양한 기준에 관한 정보가 공개적으로 이용가능하고 이를 검색하는 기술이 일반적으로 공지되어 있으므로, 본원의 주된 신규성은 iCAR 또는 pCAR 인식을 위한 표적을 선택하기 위한 기준으로서 LOH를 사용하는 것, 및 특정 환자에서 상실된 특정 대립유전자를 기반으로 한 개인화된 치료의 개념이다.

[0244] 비제한적인 예로서, 본 발명에 따르면 비고전적 HLA-I 및 HLA-II 유전자를 비롯한 HLA 유전자 (예를 들어, HLA-A, HLA-B HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR HLA-K 및/또는 HLA-L) LOH는, 다양한 빈도로, 많은 종양 유형에서 비교적 빈번한 사건이며 (도 **10a 내지 도 10c** 참조), 이는 이들 유전자를 본 발명의 목적을 위한 iCAR/pCAR 인식을 위한 표적으로서 사용되기에 적합한 후보로 만든다.

[0245] 상기 pCAR 또는 iCAR 표적의 부재시 임의의 건강한 필수 조직에서의 정상 세포 상의 aCAR 표적의 인식은 해로우며 엄격히 금지될 것이다. 이와 관련하여, 본원에 제안된 pCAR-aCAR 또는 iCAR-aCAR 쌍의 개념은 페일 세이프 활성화 스위치 (fail-safe activation switch)를 구성하는데, 이는, i) 선택된 유전자를 발현하지 않는 세포 (상기 aCAR 및 상기 pCAR 또는 iCAR 표적이 동일한 유전자의 상이한 생성물을 표적화하는 경우)가 상기 aCAR 표적 항원의 부재로 인해 표적화되지 않으며; ii) 이 동일한 유전자를 발현하는 정상 세포는 두 대립유전자 모두를 공동 발현하고 상기 pCAR 또는 iCAR의 우세로 인해 표적화되지 않으며; iii) 상기 pCAR 또는 iCAR이 다형성 하우스키핑 유전자의 생성물을 표적화하는 경우, 신체의 모든 세포가 보호되고; iv) 상기 aCAR 표적을 발현하지만 상기 pCAR 또는 iCAR 표적은 발현하지 않는 종양 세포만이 공격되기 때문이다. 일부 구현예에서, 상기 pCAR 또는 iCAR 표적 부재시 임의의 건강한 필수 조직에서의 정상 세포 상의 aCAR 표적의 인식은 해로울 것이다. 일부 구현예에서, 선택된 유전자를 발현하지 않는 세포 (상기 aCAR 및 상기 pCAR 또는 iCAR 표적이 동일한 유전자의 상이한 생성물을 표적화하는 경우)는 상기 aCAR 표적 항원의 부재로 인해 표적화되지 않는다. 일부 구현예에서, 이 동일한 유전자를 발현하는 정상 세포는 두 대립유전자 모두를 공동 발현하고 상기 pCAR 또는 iCAR의 우세로 인해 표적화되지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 pCAR 또는 iCAR이 다형성 하우스키핑 유전자의 생성물을

표적화하는 경우, 신체의 모든 세포가 보호된다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 표적을 발현하지만 상기 pCAR 또는 iCAR 표적은 발현하지 않는 종양 세포만이 공격된다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍 표적 둘 모두 또는 aCAR/pCAR 쌍 표적 둘 모두를 발현하는 세포가 보호된다.

[0246] 상기에 강조한 바와 같이, 본 발명에 따르면, 활성화 신호에 대비한 억제 신호의 영구적 우세가 존재해야 한다. 따라서, iCAR 파트너의 부재시, 언제든지 특정 살해 세포에서 aCAR 유전자가 발현되지 않도록 해야 한다. 이는, 단일쇄 생성물로서의 이들 iCAR-aCAR 유전자 쌍의 탠덤 어셈블리 (tandem assembly)를 통해, 또는 예를 들어 내부 리보솜 진입 부위 또는 여러 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드 중 하나에 기초한 적합한 바이시스트론 방식을 통해 구현될 수 있다. 바이시스트론 발현에 대해 보고된 방대한 양의 데이터에 의해 제안되는 바와 같이, iCAR 유전자는 유리한 화학량론을 보장하기 위해 항상 그의 aCAR 파트너의 상류에 위치한다. 다른 옵션은 살해 세포를 2개의 독립적인 구조체로 형질감염시키거나 형질도입함으로써 살해 세포가 aCAR 및 iCAR 또는 pCAR 둘 모두를 발현하도록 조작하는 것이며, 각각의 구조체는 aCAR 또는 iCAR/pCAR을 암호화한다. 물론, pCAR-aCAR 유전자 쌍을 사용하는 경우 이는 문제가 되지 않는다. 일부 구현예에서, 억제 신호는 활성화 신호에 대비해 우세하다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 및 iCAR 또는 pCAR은 동일한 세포에서 동시에 발현된다.

[0247] iCAR 우세 확보를 위한 또 다른 매력적인 옵션은 aCAR 인식 모이어티를 그의 활성화/공동자극 부분에서 분리하여, 이종이량체화 소분자의 존재시에만 두 개체 모두가 하나의 기능성 수용체로 조립될 수 있도록 하는 것이다. 정확한 타이밍, 투여량 및 위치에 의해 이러한 분할 수용체의 작동 상태를 엄격하게 제어하는 능력이 최근 항종양 CAR의 맥락에서 입증되었다 (문헌 [Wu 등, 2015]).

[0248] 또한, 예측된 우세는 선택된 aCAR 플랫폼의 신호전달 강도와 '경쟁'해야 하는 선택된 iCAR 설계에서 세포내 부분에 포함된 iCAR 신호전달 요소의 특정 구성에 내재된 것으로 보인다. 이 능력은 또한 (상기에서 다루어진) 각각의 표적 에피토프에 대한 2개의 인식 모이어티의 상대적 친화도 및 이들의 상호작용의 전체적인 결합력에 의해 영향을 받는다. 후자와 관련하여, 제안된 전략은 유리한 iCAR/aCAR 화학량론과 정상 세포에서의 이들 각각의 표적 에피토프의 균형잡힌 분포를 보장한다. 다시 언급하자면, pCAR-aCAR 유전자 쌍을 사용하는 경우 이는 문제가 되지 않는다.

[0249] 안전성을 추가로 보장하기 위해, CAR 및 TCR 면역요법 분야에서 현재 실행되는 다른 통상적인 수단, 예를 들어 자살 유전자의 사용 또는 일시적 발현을 위한 mRNA 전기천공의 사용이 사용될 수 있다.

[0250] LOH는 종종 특정 유전자의 단 하나의 대립유전자만을 갖는 세포를 남기지만, 종종 나머지 염색체 또는 염색체 부분의 복제를 수반하여 '카피 수 중성'-LOH를 초래한다 (문헌 [Lo 등, 2008; O'Keefe 등, 2010; Sathirapongsasuti 등, 2011]). 이러한 상황에서, 에피토프-상실 변이체의 출현은 2개의 독립적인 사건을 필요로 하므로 가능성이 적다. 유전자-변형된 세포의 상이한 단편들에서 여러 pCAR-aCAR 또는 iCAR-aCAR 쌍을 발현하는 것은 표적 대립유전자의 단일 카피만이 유지된 '카피 수 상실' LOH 경우에서도 돌연변이 탈주자의 출현을 방지할 수 있다. 그러나, 단일-카피 유전자가 필수적이 될 수 있기 때문에, 이들의 기능적 상실의 가능성은 훨씬 적을 것이다.

[0251] 상기를 고려할 때, 일 측면에서, 본 발명은 효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공하며, 여기서 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 포유류 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 또는 상기 aCAR이 발현되는 필수적인 기관에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인; 및 효과기 면역 세포를 억제하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는 세포내 도메인을 포함한다.

[0252] 일부 구현예에서, 상기 다형성 세포 표면 에피토프는 종양 억제 유전자 또는 종양 억제 유전자에 유전자적으로 연결된 유전자에 의해 암호화되는 항원의 일부인데, 이는 이러한 유전자는 종양에서 LOH로 인해 상실될 수 있기 때문이다. 또한, 상기 다형성 세포 표면 에피토프는 암 세포에서 종종 LOH를 겪는 염색체 또는 염색체 아암, 예를 들어 이에 제한되는 것은 아니지만, 3p, 6p, 9p, 10q, 17p, 17q, 또는 18q, 또는 19번 염색체에 일반적으로 상주하는 유전자에 의해 암호화되는 항원의 일부일 수 있다. 이들 에피토프는 본원에 기술된 관련 데이터베이스에서 쉽게 식별될 수 있다.

[0253] 일부 구현예에서, 상기 다형성 세포 표면 에피토프는 하우스키핑 유전자 생성물, 예를 들어 미분류된 AP2S1, CD81, GPAA1, LGALS9, MGAT2, MGAT4B, VAMP3; 세포 부착 단백질 CTNNA1 NM_001903, CTNNB1, CTNNBIP1 NM_020248, CTNNBL1 NM_030877, CTNND1 NM_001085458델타 카테닌; 채널 및 수송체 ABCB10 NM_012089, ABCB7

NM_004299, ABCD3 NM_002857, ABCE1 NM_002939, ABCF1 NM_001090, ABCF2 NM_005692, ABCF3 NM_018358, CALM1[1][7] 칼슘 이온을 포획하는 칼모듈린 (calmodulin), TETRAN 또는 테트라사이클린 수송체-유사 단백질로도 불리는 MSFD10과 유사한 MFSD11 NM_024311[1], MFSD12 NM_174983, MFSD3 NM_138431, MFSD5 NM_032889, SLC15A4 NM_145648, SLC20A1 NM_005415, SLC25A11[1] 미토콘드리아 옥소글루타르산염/말산염 담체, SLC25A26 NM_173471, SLC25A28 NM_031212, SLC25A3 NM_002635, SLC25A32 NM_030780, SLC25A38 NM_017875, SLC25A39 NM_016016, SLC25A44 NM_014655, SLC25A46 NM_138773, SLC25A5 NM_001152, SLC27A4 NM_005094, SLC30A1 NM_021194, SLC30A5 NM_022902, SLC30A9 NM_006345, SLC35A2 NM_005660, SLC35A4 NM_080670, SLC35B1 NM_005827, SLC35B2 NM_178148, SLC35C2 NM_015945, SLC35E1 NM_024881, SLC35E3 NM_018656, SLC35F5 NM_025181, SLC38A2 NM_018976, SLC39A1 NM_014437, SLC39A3 NM_144564, SLC39A7 NM_006979, SLC41A3 NM_017836, SLC46A3 NM_181785, SLC48A1 NM_017842, ACVRL1 TGF 베타 수용체 패밀리 렌두-오슬러-웨버 증후군과 유사한 수용체 ACVR1 NM_001105, ACVR1B NM_004302,CD23[1] FCER2 저친화도 IgE 수용체 (렉틴); 및 RNA 스플라이싱에 관여하는 DDX39B로도 불리는 HLA/면역글로불린/세포 인식군 BAT1, BSG 바시긴 면역글로불린 수퍼패밀리, 세포외 금속단백분해효소, MIF 대식세포 이동 억제 인자 및/또는 TAPBP을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 하우스키핑 유전자는 HLA I형, G-단백질-결합 수용체 (GPCR), 이온 채널 또는 수용체 티로신 키나제, 바람직하게는 HLA-A, HLA-B, HLA-C이다. 일부 구현예에서, 상기 하우스키핑 유전자는 HLA-A이다. 일부 구현예에서, 상기 하우스키핑 유전자는 HLA-B이다. 일부 구현예에서, 상기 하우스키핑 유전자는 HLA-C이다.

[0254] 임의의 관련 기술이, 상기 aCAR 및 pCAR 또는 iCAR의 이들의 표적에 대한 특이적인 결합을 부여하는 인식 모이어티를 조작하기 위해 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 세포외 도메인은 (i) 항체, 그의 유도체 또는 단편, 예를 들어 인간화 항체; 인간 항체; 항체의 기능적 단편; 나노바디 (nanobody)와 같은 단일-도메인 항체; 재조합 항체; 및 단일쇄 가변 단편 (ScFv); (ii) 항체 모방체, 예를 들어 어피바디 (affibody) 분자; 아필린 (affilin); 아피머 (affimer); 아피틴 (affitin); 알파바디 (alphabody); 안티칼린 (anticalin); 아비머 (avimer); 다르핀 (DARPin); 피노머 (fynomer); 쿠니츠 (Kunitz) 도메인 펩티드; 및 모노바디 (monobody); 또는 (iii) 앱타머를 포함한다. 바람직하게는, 상기 세포외 도메인은 ScFv를 포함한다.

[0255] 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 세포외 도메인은 종양-관련 항원 에피토프인 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 세포외 도메인은 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되는 종양-관련 항원인 에피토프에 결합하고, 세포내 도메인은 효과기 면역 세포를 활성화 및/또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 암을 치료하는데 사용되는 aCAR은, 상기 iCAR 표적이 표적화된 aCAR 단백질이 발현되는 모든 정상 조직에서 발현되는 한, 종양 조직에서 발현되는 임의의 막 단백질에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 다음의 항원 목록으로부터 선택되지만 이에 제한되지는 않는 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다: CD19, CD20, CD22, CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Igκ, ROR1, ROR2, CD30, LewisY, CD33, CD34,CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2,GD3, hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR-α, L1-CAM, ErbB2,3,4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13Rα2, FAP, 메소텔린, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGE-A1, MUC1MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80 CD89, CDH17,CLD18, GPC3, TEM8, TGFB1, NY-ESO-1, WT-1 및 EGFR. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 CD19에 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 CD19의 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0256] 일부 구현예에서, 상기 iCAR은 에프린 수용체 (예를 들어, EPHA 7) 및 클라우딘을 포함하지 않는 항원의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR은 HLA 유전자 (HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자)의 단일 대립유전자 변이체에 의해 암호화되는 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0257] iii. 세포내 도메인: aCAR, iCAR 및 pCAR

[0258] 또한, 본 발명은 상기 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR의 일부로서의 세포내 도메인을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 세포내 도메인은 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포내 도메인은 효과기 면역 세포를 억제하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함한다.

[0259] 일반적으로, 임의의 관련 기술을 사용하여 상기 aCAR 및 pCAR 또는 iCAR에 세포 기능을 유도하는 능력, 예를 들어 효과기 면역 세포를 억제하거나 또는 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 능력을 부여하는 신호전

달 요소를 조작할 수 있다.

[0260] 일부 구현예에서, 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 효과기 면역 세포를 억제할 수 있다. 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 억제할 수 있는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 면역 체크포인트 단백질의 신호전달 요소와 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 면역 체크포인트 단백질은 PD1, CTLA4, BTLA, 2B4, CD160, CEACAM (예를 들어, CEACAM1 포함), KIR (예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, LIR1, LIR2, LIR3, LIR5, LIR8 및 CD94 포함), NKG2A; LAG3; TIM3; T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제자 (VISTA); 인터페론 유전자의 자극기 (STING); 면역수용체 티로신계 억제 모티프 (ITIM)-함유 단백질, T 세포 면역글로불린 및 ITIM 도메인 (TIGIT), 및 아데노신 수용체 (예를 들어, A2aR)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 면역 체크포인트 단백질은 음성 면역 조절인자이다. 일부 구현예에서, 상기 음성 면역 조절인자는 2B4, LAG-3 및 BTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0261] 일부 구현예에서, 상기 신호전달 요소는 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 신호전달 요소는 활성화 도메인이다. 일부 구현예에서, 상기 신호전달 요소는 공동자극 도메인이다. 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 신호전달 요소는 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM), 활성화 살해 세포 면역글로불린-유사 수용체, 또는 어댑터 분자, 및/또는 공동자극 신호전달 요소와 상동성이다. 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 신호전달 요소는 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM)와 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 ITAM은 CD3ζ 또는 FcRγ 사슬을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 단백질로부터의 것이다. 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 신호전달 요소는 활성화 살해 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR)와 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 KIR은 예를 들어 KIR2DS 및 KIR3DS를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 신호전달 요소는 어댑터 분자와 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 어댑터 분자는 예를 들어 DAP12를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 신호전달 요소는 공동자극 신호전달 요소와 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 공동자극 신호전달 요소는 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40), 및/또는GITR을 포함하지만 이에 제한되지 않는 단백질로부터의 것이다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 신호전달 요소를 포함한다.

[0262] 일부 구현예에서, 상기 세포외 도메인은 가요 성 힌지 및 막횡단 표준적 모티프를 통해 상기 세포내 도메인에 융합된다.

[0263] 일부 구현예에서, 상기 pCAR의 사용은, 상기 인식 단위 및 상기 공동자극 요소 (예를 들어, CD28, 4-1BB)으로부터의 상기 aCAR의 활성화 모이어티 (FcRγ/CD3-ζ)의 분리를 가능하게 한다. 일부 구현예에서, 이들 요소는 2개의 상이한 폴리펩티드 생성물에 유전자적으로 배치된다. 일부 구현예에서, aCAR 기능에 필수적인, 이들 요소의 재결합은 각각의 폴리펩티드에 개별적으로 포함된 각각의 결합 부위를 연결할 수 있는 이종이량체화 약물의 첨가에 의해서만 발생한다.

[0264] 활성화 도메인 (예를 들어 FcRy 또는 CD3-ζ) 대신에, iCAR은 T 세포 활성화를 길항할 수 있는 억제성 수용체로부터 유래한 신호전달 도메인을 보유한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR은 T 세포 활성화를 길항할 수 있는 억제성 수용체로부터 유래한 신호전달 도메인을 보유한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 신호전달 도메인은 예를 들어 CTLA-4, PD-1 또는 NK 억제성 수용체를 포함하지만 이에 제한되지는 않는 억제성 수용체로부터 유래한다.

[0265] iv. CAR-T 벡터 제조 (aCAR; iCAR; pCAR)

[0266] 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 제1 핵산 벡터에 의해 암호화되고 상기 iCAR 또는 pCAR은 제2 핵산 벡터에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 제1 핵산 벡터에 의해 암호화되고 상기 iCAR 또는 pCAR은 제2 핵산 벡터에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 제1 핵산 벡터에 의해 암호화되고 상기 iCAR 또는 pCAR은 제2 핵산 벡터에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 제2 벡터에 존재한다.

[0267] 일부 구현예에서, 본 발명은 상기 구현예 중 어느 하나에 정의된 본 발명의 핵산 분자, 및 상기 핵산 분자에 작동가능하게 연결된 적어도 하나의 제어 요소, 예를 들어 프로모터를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0268] 일부 구현예에서, 상기 벡터는 렌티바이러스 (LV) 벡터이다. 일부 구현예에서, 상기 LV 벡터는 상업적 LV 벡터이다. 일부 구현예에서, 상기 LV 벡터는 pLVX-Puro, pLVX-IRES-Puro/Neo/Hygro, pLVx-EF1a-IRES (TAKARA), 및/또는 pcLV-EF1a (Sirion)를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 상기 LV 벡터는 pLVX-Puro이

다. 일부 구현예에서, 상기 LV 벡터는 pLVX-IRES-Puro/Neo/Hygro이다. 일부 구현예에서, 상기 LV 벡터는 pLVx-EF1a-IRES (TAKARA)이다. 일부 구현예에서, 상기 LV 벡터는 pcLV-EF1a (Sirion)이다.

[0269] 일부 구현예에서, 상기 벡터는 EF1 프로모터를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 벡터는 CMV 프로모터를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 벡터는 PGK 프로모터를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 벡터는 CD8 힌지를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 벡터는 CD28 TM 및 41BB 공동자극 도메인을 포함한다.

[0270] 일부 구현예에서, 상기 벡터는 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 추가로 포함하고, 여기서 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되고, 세포내 도메인은 효과기 면역 세포를 활성화 및/또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함한다.

[0271] 일부 구현예에서, 상기 벡터 내에 포함된 핵산에 의해 암호화되는 aCAR의 세포외 도메인은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하고, 상기 iCAR의 세포외 도메인은, 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다.

[0272] 일부 구현예에서, 상기 벡터 내에 포함된 핵산에 의해 암호화되는 iCAR의 세포외 도메인은, 예를 들어 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자를 비롯한 HLA 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 **표 8**에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다.

[0273] 일부 구현예에서, 상기 벡터 내에 포함된 핵산에 의해 암호화되는 aCAR의 세포외 도메인은 **표 1**에 열거된 항원, 예를 들어 CD19로부터 선택된 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 표적은 세포외 도메인을 갖는 임의의 표적이다.

[0274] 일부 구현예에서, 상기 벡터 내에 포함된 핵산에 의해 암호화되는 iCAR의 세포외 도메인은, 예를 들어 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자를 비롯한 HLA 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 **표 8**에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되고; 상기 벡터 내에 포함된 핵산에 의해 암호화되는 aCAR의 세포외 도메인은 **표 1**에 열거된 항원, 예를 들어 CD19로부터 선택된 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 표적은 세포외 도메인을 갖는 임의의 표적이다.

[0275] 일부 구현예에서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 aCAR의 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는, 예를 들어 CD3ζ 또는 FcRγ 사슬의 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM); 예를 들어 KIR2DS 및 KIR3DS의 활성화 KIR 막횡단 도메인, 또는 양으로 하전된 측쇄, 또는 양으로 하전된 아미노산 잔기를 포함하는 활성화 살해 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR)의 막횡단 도메인, 또는 DAP12와 같은 어댑터 분자; 또는 예를 들어 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB) 또는 CD134 (OX40)의 공동자극 신호전달 요소와 상동성이다.

[0276] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR은 제1 벡터에 의해 발현되고 상기 aCAR은 제2 벡터에 의해 발현된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR 및 상기 aCAR은 모두 동일한 벡터에 의해 발현된다.

[0277] 일부 구현예에서, 상기 벡터의 뉴클레오티드 서열은, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 사이에 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)를 포함한다. 일반적으로, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 임의의 순차적 순서일 수 있지만, 특정 구현예에서, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 존재한다.

[0278] 일부 구현예에서, 상기 aCAR 및 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 단일 벡터에 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 벡터는, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 사이에, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 뉴클레오티드 서열은, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 사이에 위치한 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 벡터의 뉴클레오티드 서열은, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드는 *토세아 아시그나* 바이러스 (TaV)로부터의 T2A, 구제역 바이러스 (FMDV)로부터의 F2A, *에퀸 리니티스 A* 바이러스 (ERAV)로부터의 E2A 및/또는 *돼지 테스코바이러스-1* (PTV1)로부터의 P2A를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 상

기 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드는 *토세아 아시그나* 바이러스 (TaV)로부터의 T2A이다. 일부 구현예에서, 상기 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드는 구제역 바이러스 (FMDV)로부터의 F2A이다. 일부 구현예에서, 상기 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드는 *에퀸 리니티스 A* 바이러스 (ERAV)로부터의 E2A이다. 일부 구현예에서, 상기 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드는 *돼지 테스코바이러스-1* (PTV1)로부터의 P2A이다.

[0279] 일부 구현예에서, 상기 벡터는 가요성 링커를 통해 상기 iCAR에 연결된 구성적 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0280] 면역 세포는 예를 들어 RNA 형질감염에 의해 또는 진핵 세포 또는 바이러스 벡터에서의 복제 및/또는 전사에 적합한 플라스미드 내로의 혼입에 의해 본원에 기술된 적절한 핵산 분자로 형질감염될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 벡터는 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터로부터 선택된다.

[0281] 레트로바이러스 벡터 및 적절한 패키징 라인의 조합이 또한 사용될 수 있으며, 여기서 캡시드 단백질이 인간 세포를 감염시키는 기능을 한다. PA12 (문헌 [Miller 등 (1985) Mol. Cell. BioI. 5:431-437); PA317 (Miller 등 (1986) Mol. Cell. Bioi. 6:2895-2902]); 및 CRIP (문헌 [Danos 등 (1988) *Proc. Nati. Acad. Sci.* USA 85:6460-6464])를 비롯한, 여러 암포트로픽 (amphotropic) 바이러스-생산 세포주가 공지되어 있다. 대안적으로, 비-암포트로픽 입자, 예를 들어 VSVG, RD 114 또는 GAL V 외피를 갖는 위형 (pseudotype) 입자가 사용될 수 있다. 세포는, 생산 세포와의 직접 공동 배양, 예를 들어 문헌 [Bregni 등 (1992) *Blood* 80: 1418-1422]의 방법에 의해, 또는 바이러스 상층액 단독 또는 농축된 벡터 스톡을 사용한 배양, 예를 들어 문헌 [Xu 등 (1994) *Exp. Hemat.* 22:223-230; 및 Hughes 등 (1992) *J Clin. Invest.* 89: 1817]의 방법에 의해 추가로 형질도입될 수 있다.

[0282] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에서 상기에 정의된 본 발명에 따른, 효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (i) 공지된 변이체의 적어도 하나의 데이터베이스로부터 단백질-암호화 유전자의 인간 게놈 변이체의 목록을 검색하는 단계; (ii) (a) 상응하는 기준 대립유전자와 비교하여 각각의 유전자에 의해 암호화되는 단백질에서 아미노산 서열 변이를 야기하는 변이체를 선택하고, (b) 아미노산 서열 변이가 암호화된 단백질의 세포외 도메인에 존재하는 유전자의 변이체를 선택하고, (c) 적어도 하나의 종양에서 이형접합성 상실 (LOH)을 겪는 유전자의 변이체를 선택하고, (d) (c)에 따라 적어도 LOH를 겪는 상기 적어도 하나의 종양의 기원 조직에서 발현되는 유전자의 변이체를 선택하여, LOH로 인해 상기 적어도 하나의 종양에서 상실되고 적어도 상기 적어도 하나의 종양의 기원 조직에서 발현되는 각각의 유전자에 의해 암호화되는 단백질의 세포외 도메인에 아미노산 서열 변이를 갖는 변이체의 목록을 획득함으로써, 검색된 변이체의 상기 목록을 필터링하는 단계; (iii) (ii)에서 획득된 목록으로부터 적어도 하나의 단일 변이체를 포함하는 서열 영역을 정의하고, 상기 적어도 하나의 단일 변이체를 포함하는 상기 서열 영역 및 상응하는 기준 대립유전자를 포함하는 서열 영역을 서브클로닝하고 발현하여, 각각의 에피토프 펩티드를 수득하는 단계; (iv) (iii)에서 수득된, 상기 클로닝된 서열 영역에 의해 암호화되는 에피토프 펩티드, 또는 상응하는 기준 대립유전자에 의해 암호화되는 에피토프 펩티드에 특이적으로 결합하는 iCAR 결합 도메인을 선택하는 단계; 및 (vii) (iv)에 정의된 iCAR 결합 도메인을 각각 포함하는 본원에서 상기에 정의된 iCAR을 제조하는 단계를 포함한다.

[0283] 일부 구현예에서, 선택된 유전자의 후보 변이체는 특정 종양 유형에서 적어도 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%에서 LOH를 겪는다.

[0284] 일부 구현예에서, 선택된 각각의 변이체에 대한 부수적 대립유전자 빈도는 적어도 하나의 집단에서 1, 2, 3, 4 또는 5% 이상이다.

[0285] 또 다른 측면에서, 본 발명은 제어된 효과기 면역 세포 활성화 시스템의 상이한 구성원을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 각각 포함하는 2개 이상의 핵산 분자의 조합에 관한 것이며, 상기 핵산 분자는 단일한 연속적인 핵산 분자의 일부이거나 이러한 핵산 분자를 형성하거나, 또는 2개 이상의 별개의 핵산 분자를 포함하고, 여기서 상기 제어된 효과기 면역 활성화 시스템은 효과기 면역 세포에게 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 하나 이상의 염색체 또는 그의 단편을 상실한 종양 세포를 살해하도록 지시하고 관련 정상 조직의 세포를 살리며, (a) 제1 구성원은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제1 세포외 도메인을 포함하는 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR) 폴리펩티드를 포함하며, 상기 비다형성 또는 다형성 세포 표면 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 관련 비정상 및 정상 포유류 조직의 세포에 의해 공유되고; (b) 제2 구성원은 LOH로 인해 비정상 포유류 조직에 의해 발현되지는 않지만 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으

로 결합하는 제2 세포외 도메인을 포함하는 조절 폴리펩티드를 포함한다.

[0286] 일부 구현예에서, 제1 구성원은 (a) 효과기 면역 세포를 활성화 및/또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 구성적 aCAR; 및 (b) 이종이량체화 소분자에 대한 결합 부위의 제1 구성원 및 임의로 적어도 하나의 공동자극 신호전달 요소를 포함하지만 활성화 신호전달 요소는 포함하지 않는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 조건부 aCAR로부터 선택되고; 제2 구성원은 (c) 효과기 면역 세포를 억제하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR); 또는 (d) 세다제를 위한 기질을 포함하는 세포외 조절 영역; 막내-절단 프로테아제를 위한 기질을 포함하는 막횡단 표준적 모티프; 및 세포내 도메인을 추가로 포함하는 보호 키메라 항원 수용체 (pCAR)이고, 상기 세포내 도메인은 효과기 면역 세포를 활성화 및/또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소 및 이종이량체화 소분자에 대한 결합 부위의 제2 구성원을 포함한다.

[0287] 일부 구현예에서, (i) 상기 iCAR 또는 pCAR의 세포외 도메인은, 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원인 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; (ii) 상기 pCAR 또는 iCAR의 세포외 도메인은 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 동일한 항원의 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; 또는 (iii) 상기 pCAR 또는 iCAR의 세포외 도메인은 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상이한 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다.

[0288] 일부 pCAR 구현예에서, 세다제를 위한 상기 기질은 디스인테그린 및 금속단백분해효소 (ADAM) 또는 베타-세크레타제1 (BACE1)를 위한 기질이다. 일부 구현예에서, 상기 기질은 상기 세포외 도메인의 일부를 형성하고 Lin12/노치 반복부 및 ADAM 프로테아제 절단 부위를 포함한다.

[0289] ADAM 절단을 예측하는 일관된 서열 모티프는 존재하지 않는 것으로 일반적으로 받아들여지고 있지만, Caescu 등 (문헌 [Caescu 등, 2009])은 표 3에 다수의 ADAM10 및/또는 ADAM17 기질 서열을 개시하고 있으며, 이는 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 ADAM를 위한 기질로서 작용할 수 있다. 일부 구현예에서, ADAM 기질 서열은 아밀로이드 전구체 단백질, BTC, CD23, 콜라겐, DII-1, 에볼라 당단백질, E-카드헤린, EGF, 에피레귤린, Fas 리간드, 성장 호르몬 수용체, HB-EGF, II형 인터루킨-1 수용체, IL-6 수용체, L-셀렉틴, N-카드헤린, 노치, p55 TNF 수용체, p75 TNF 수용체, Pmel17, 프리온 단백질, 수용체형 단백질 티로신 포스파타제 Z, TGF-α, TNF 또는 TR의 것이다 (문헌 [Caescu 등, 2009]).

[0290] 본 발명의 pCAR에서 ADAM10 절단 서열을 사용하는 것이 유리할 수 있는데, 이는 ADAM 10이 예를 들어 림프구 상에서 비교적 높은 수준으로 구성적으로 존재하기 때문이다. ADAM10과 대조적으로, 가까운 친척인 TACE/ADAM17은 미자극 세포 상에서 단지 낮은 수준으로 검출된다. T 세포 아세포 상에서의 ADAM17 표면 발현은 자극에 의해 빠르게 유도된다 (문헌 [Ebsen 등, 2013]).

[0291] Hemming 등 (문헌 [Hemming 등, 2009])은 BACE1 절단을 예측하는 일관된 서열 모티프가 비-기질 대비 기질에서 식별되지 않았지만, 표 1에 BAC1 절단 서열을 갖는 다수의 BACE1 기질을 개시하고 있으며, 이는 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 BACE1을 위한 기질로서 작용할 수 있다.

[0292] 일부 pCAR 구현예에서, 막내-절단 프로테아제를 위한 기질은 SP2, γ-세크레타제, 신호 펩티드 펩티다제 (spp), spp-유사 프로테아제 또는 능형 프로테아제를 위한 기질이다.

[0293] Rawson 등 (문헌 [Rawson, 2013])은 SP2 기질이 적어도 하나의 2형 막-관통 헬릭스 (type 2 membrane-spanning helix)를 가지며 SP2 기질 내에 Asp-Pro 모티프와 같은 헬릭스-불안정화 모티프를 포함함을 개시하고 있다. 이 논문은 표 1에 SP2-절단 서열을 갖는 다수의 SP2 기질을 개시하고 있으며, 이는 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 SP2를 위한 기질로서 작용할 수 있다.

[0294] Haapasalo 및 Kovacs (문헌 [Haapasalo 및 Kovacs, 2011])는 아밀로이드-β 단백질 전구체 (AβPP)가 프레세닐린 (PS)-의존적 γ-세크레타제 (PS/γ-세크레타제)를 위한 기질이며 적어도 90개의 추가적인 단백질이 이 효소 복합체에 의해 유사한 단백질 분해를 겪는 것으로 밝혀졌음을 교시하였다. γ-세크레타제 기질은 다음과 같은 몇 가지 공통된 특징을 갖는다: 대부분의 기질 단백질은 I형 막횡단 단백질이고; PS/γ-세크레타제-매개 γ-유사 절단 (AICD를 방출하는 AβPP에서의 절단에 상응함)은 막횡단 및 세포질 도메인의 경계 또는 그 부근에서 발생한다. &-유사 절단 부위는 라이신 및/또는 아르기닌 잔기가 풍부한 소수성 아미노산 서열의 구간에 플랭크 (flank)된다. PS/γ-세크레타제 절단은 절단 부위 또는 그 근처의 특정 아미노산 표적 서열에 의존하지 않고,

아마도 막횡단 도메인의 입체구조 상태에 의존하는 것으로 보인다. Haapasalo 및 Kovacs은 표 1에 γ-세크레타제 기질의 목록을 개시하고 있으며, 그의 절단 서열은 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 γ-세크레타제를 위한 기질로서 작용할 수 있다.

[0295] Voss 등 (문헌 [Voss 등, 2013])은 GxGD 아스파틸 프로테아제 (spp)의 경우, 기질 내에서 1차 서열 요소에 기초한 공통 절단 부위가 지금까지 기술되지 않았다고 교시하고 있다. 막 단백질의 막횡단 도메인은 바람직하게는 이들의 펩티드 결합이 프로테아제에 거의 접근할 수 없는 α-헬릭스 형태를 채택한다. 따라서, 막횡단 도메인을 막내 단백질 분해에 취약하게 만들기 위해, 헬릭스 불안정화 아미노산에 의해 α-헬릭스 함량이 감소될 필요가 있다고 상정되었다. 이 가설과 일치하게, 다양한 신호 펩티드가, SPP에 의한 단백질 분해 처리에 결정적으로 영향을 미치는 h-영역 내에 헬릭스 불안정화 아미노산을 포함하는 것으로 나타났다. 또한, 신호 펩티드의 h-영역 내의 극성 잔기는 SPP에 의한 절단에 영향을 미칠 수 있는데, 이는 예를 들어 다양한 HCV 균주의 신호 펩티드 내의 세린 및 시스테인 잔기가 SPP 절단에 중요하기 때문이다. 이들 극성 잔기가 또한 신호 펩티드의 헬릭스 함량에 단순히 영향을 미치는지, 또는 SPP에 의한 절단을 유발하기 위해 히드록실 또는 설프히드릴기가 특히 필요한지는 아직 완전히 이해되지 않았다. 유사하게, SPPL2b에 의한 Bri2 막횡단 도메인의 절단은 Bri2 막횡단 도메인의 α-헬릭스 함량이 감소하는 경우 상당히 증가된다. 흥미롭게도, 추정되는 헬릭스 불안정화 효능을 갖는 4개의 아미노산 잔기 중 하나의 잔기만이 인지질계 환경에서 Bri2 막횡단 도메인의 α-헬릭스 함량을 상당히 감소시켰다. 이는, α-헬릭스 막횡단 도메인의 불안정화가 단순히 특정 아미노산 잔기에 의해 야기되는 것이 아니라, 이들 아미노산의 상황 및 위치가 이들의 헬릭스 불안정화 가능성을 결정하고, 따라서 SPP/SPPL에 의한 막내 단백질 분해에 대한 막횡단 도메인의 접근성을 결정한다는 것을 암시한다. Voss 등은 표 1에 spp 및 spp-유사 기질의 목록을 개시하고 있으며, 그의 절단 서열은 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 spp를 위한 기질로서 작용할 수 있다.

[0296] Bergbold 등 (문헌 [Bergbold 및 Lemberg, 2013])는 능형 프로테아제의 경우, 기질 인식에 대한 2개의 상이한 모델이 제안되었음을 교시하였다. 제1 모델에서, 능형 활성 부위 근처에서의 막의 침지와 조합된 기질 펩티드 골격의 입체구조적 유연성은 특이성을 제공하기에 충분하다. 잘 특성화된 초파리 기질인 스피츠 (Spitz)의 경우, 글리신-알라닌 모티프는 막횡단 도메인을 능형 활성 부위로 펼칠 수 있는 헬릭스 파괴체로 작용하는 것으로 나타났다. 제2 모델은 능형 프로테아제가 절단 부위를 둘러싼 특정 서열을 주로 인식하고 막 횡단 헬릭스-안정화 잔기가 일부 기질에만 요구되는 2차적 특징임을 암시한다. 상기 특정 서열은 아직 식별되지 않았다. Bergbold 등은 표 3에 능형 프로테아제 기질의 목록을 개시하고 있으며, 그의 절단 서열은 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 능형 프로테아제를 위한 기질로서 작용할 수 있다.

[0297] 상기를 고려할 때, 대부분의 경우 막내-절단 프로테아제에 대한 공통 모티프가 아직 확립되지 않았고, 막내-절단 프로테아제 기질을 식별하기 위한 분석은 상기 인용된 문헌에 기술된 바와 같이 당업계에 널리 공지되어 있기 때문에, 상기 pCAR은 이와 같이 식별된 아미노산 서열을 포함할 수 있고 막횡단 헬릭스-불안정화 잔기를 추가로 포함할 수 있다.

[0298] 일부 구현예에서, 상기 기질은 막횡단 표준적 모티프의 일부를 형성하고, 노치, ErbB4, E-카드헤린, N-카드헤린, 에프린-B2, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 CD44의 막횡단 도메인과 상동성이거나, 또는 이로부터 유래한다.

[0299] 일부 구현예에서, 상기는 개별 단백질로서의 상기 조건부 aCAR의 세포외 도메인 및 세포내 도메인을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 각각의 도메인은 막횡단 표준적 모티프에 독립적으로 융합되고 이종이량체화 소분자에 대한 결합 부위의 상이한 구성원을 포함한다.

[0300] 일부 구현예에서, 이종이량체화 소분자에 대한 결합 부위의 제1 및 제2 구성원 각각은 (i) 타크로리무스 (FK506) 결합 단백질 (FKBP) 및 FKBP; (ii) FKBP 및 칼시뉴린 촉매 아단위 A (CnA); (iii) FKBP 및 시클로필린; (iv) FKBP 및 FKBP-라파마이신 관련 단백질 (FRB); (v) 기라제 B (GyrB) 및 GyrB; (vi) 디하이드로폴레이트 리덕타제 (DHFR) 및 DHFR; (vii) DmrB 동종이량체화 도메인 (DmrB) 및 DmrB; (viii) PYL 단백질 (아브시스산 수용체 및 RCAR로도 알려짐) 및 ABI; 및 (ix) GAI *애기장대* 단백질 (지베렐린산 비반응성 및 DELLA 단백질 GAI; GAI로도 알려짐) 및 GID1 *애기장대* 단백질 (지베렐린 수용체 GID1; GID1로도 알려짐)로부터 선택된 단백질로부터 유래한다.

[0301] v. 효과기 세포의 제조

[0302] 또 다른 측면에서, 본 발명은 안전한 효과기 면역 세포를 제조하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (i) 종양-관련 항원에 대해 지시된 TCR-조작된 효과기 면역 세포를 본원에서 상기에 정의된 iCAR 또는 pCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자로 형질감염시키거나 또는 상기 세포를 벡터로 형질도입시키는 단계; 또는 (ii) 천연 효과기 면역 세포를 본원에서 상기에 정의된 iCAR 또는 pCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 본원에서 상기에 정의된 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자로 형질감염시키는 단계; 또는 효과기 면역 세포를 본원에서 상기에 정의된 벡터로 형질도입시키는 단계를 포함한다.

[0303] 일부 구현예에서, 조작에 사용하기 위한 면역 세포는 T-세포, 자연 살해 세포 또는 사이토카인-유도 살해 세포를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 조작에 사용하기 위한 면역 세포는 저캇 T-세포, 저캇-NFAT T-세포 및/또는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0304] 또 다른 측면에서, 본 발명은 전술된 본 발명의 방법에 의해 수득된 안전한 효과기 면역 세포를 제공한다. 상기 안전한 효과기 면역 세포는 외인성 T 세포 수용체 (TCR) 및 iCAR 또는 pCAR을 발현하는 재지시된 T 세포일 수 있으며, 여기서 상기 외인성 TCR은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되며, 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되며, 상기 iCAR 또는 pCAR은 본원에서 상기에 정의된 바와 같고; 상기 안전한 효과기 면역 세포는 본원에서 상기에 정의된 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 발현하는 재지시된 효과기 면역 세포, 예를 들어 자연 살해 세포 또는 T 세포이다.

[0305] 일부 구현예에서, 상기 안전한 효과기 면역 세포는, 그의 표면 상에, 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 상이한 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR 또는 pCAR을 발현한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 또는 pCAR의 세포외 도메인은, 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 동일한 항원의 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; 또는 상기 iCAR 또는 pCAR의 세포외 도메인은 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상이한 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다.

[0306] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 aCAR의 세포외 도메인은 **표 1**에 열거된 항원, 예를 들어 CD19로부터 선택된 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 표적은 세포외 도메인을 갖는 임의의 표적이다.

[0307] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA_DQ, 또는 HLA-DR 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 **표 8**에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다.

[0308] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 **표 8**에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되고; 세포 표면에서 발현되는 aCAR의 세포외 도메인은 **표 1**에 열거된 항원, 예를 들어 이에 제한되지는 않지만, CD19로부터 선택된 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 표적은 세포외 도메인을 갖는 임의의 표적이다.

[0309] 일부 구현예에서, 상기 aCAR 및 상기 iCAR은 별개의 단백질로서 세포 표면에 존재한다.

[0310] 일부 구현예에서, 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 세포 표면에서의 발현 수준은 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 발현 수준 이상이다.

[0311] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0312] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157,

GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1, 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0313] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO, 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0314] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1, 및 ZPLD1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0315] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1, 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0316] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLCO6A1, SV2C, TENM2, TIMD4, 및 UGT3A1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0317] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1, 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0318] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3,

MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN, 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0319] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLCO5A1, TNFRSF10A, 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0320] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2, 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0321] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B, 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0322] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18, 및 ZP1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0323] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO1B7, SLCO1C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8, 및 VSIG10로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0324] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6, 및 TNFRSF19로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0325] 일부 구현예에서, 상기 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 인식 모이어티는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4, 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자로부터의 유전자 생

성물의 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프에 대한 특이성을 제공한다.

[0326] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRNB4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSMD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1, 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0327] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219, 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0328] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRNB1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2, 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0329] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15, 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0330] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR1I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B, 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0331] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4, 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0332] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2, 및 UMODL1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0333] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6, 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0334] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4, 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0335] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 HLA-A2의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인은 CD20의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR은 HLA-A2에 대해 지시된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR은 CD20에 대해 지시된다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 CD19에 대해 지시된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 CD19에 대해 지시된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 세트는 각각 CD20 및 CD19을 포함한다.

[0336] vi. 표적 세포의 제조

[0337] 일부 구현예에서, 표적 세포는 시험관내 시스템에서 제조 및 시험된다. 일부 구현예에서, 시험관내 재조합 시스템은 표적-외 세포에 대한 상기 aCAR의 활성을 억제하는데 있어서의 상기 iCAR 및/또는 pCAR 구조체의 기능성을 시험하기 위해 확립된다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 에피토프, iCAR 에피토프 또는 둘 모두를 발현하는 표적 세포가 생산된다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 에피토프, pCAR 에피토프 또는 둘 모두를 발현하는 표적 세포가 생산된다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 에피토프를 발현하는 재조합 세포는 표적-상 '종양-상' 세포를 나타내는 반면, aCAR 및 iCAR 에피토프 둘 모두를 발현하는 세포는 표적-상 '종양-외' 건강한 세포를 나타낼 것이다.

[0338] 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 CD19에 대해 지시되고, HLA-A2, CD19 또는 둘 모두를 발현하는 재조합 세포는 세포주 (예를 들어, 헬라 (Hela), 헬라-루시페라제 또는 라지 (Raji))를 이들 유전자를 암호화하는 발현 벡터로 형질감염시킴으로써 생산된다. 재조합 CD19 및 HLA-A2 발현의 검출을 위해, 두 유전자 모두 단백질 태그 (예를 들어, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)에 융합된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 표적 세트는 CD 20/CD19이고 상기 재조합 세포는 CD19, CD20 또는 둘 모두를 발현한다.

[0339] 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 표적 세트를 포함하는 발현 벡터는 세포내로 형질감염된다. 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 세포내로 형질감염되어 상기 표적 및 종양-외 효과를 생성한다.

[0340] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1, 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0341] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO, 및 TRABD2AD2A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0342] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1, 및 ZPLD1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0343] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA,

RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1, 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0344] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLCO6A1, SV2C, TENM2, TIMD4, 및 UGT3A1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0345] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1, 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0346] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN, 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0347] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLCO5A1, TNFRSF10A, 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0348] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2, 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0349] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B, 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0350] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18, 및 ZP1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0351] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO1B7, SLCO1C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8, 및 VSIG10로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0352] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6, 및 TNFRSF19로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0353] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4, 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0354] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRNB4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSMD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1, 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0355] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219, 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0356] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRNB1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2, 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0357] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15, 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0358] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR1I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B, 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0359] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4, 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0360] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2, 및 UMODL1로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0361] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6, 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터

선택된 유전자를 암호화한다.

[0362] 일부 구현예에서, 상기 발현 벡터는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4, 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자를 암호화한다.

[0363] 일부 구현예에서, 상기에 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 효과기 면역 세포는, 그의 표면 상에, 종양-관련 항원 또는 항원의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원인 적어도 종양의 기원 조직에서 발현되는 항원, 예를 들어 상기에 열거된 것들 중 임의의 하나의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR을 발현한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR은 상기 aCAR이 발현되는 것과 동일한 조직에서 발현된다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 및 iCAR은 동일한 유전자의 상이한 대립유전자이다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 및 iCAR은 상이한 단백질이고, 따라서 상이한 대립유전자이다.

[0364] A. 시험관내 분석

[0365] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR은 다양한 분석을 사용하여 효과 및 억제 능력을 비롯한 효과에 있어서의 활성에 대해 시험된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR의 억제 효과는 시험관내 및/또는 생체내에서 시험된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR의 억제 효과는 시험관내에서 시험된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR의 억제 효과는 생체내에서 시험된다. 일부 구현예에서, 상기 시험관내 분석은 사이토카인 분비 및/또는 세포독성 효과를 측정한다. 일부 구현예에서, 상기 생체내 분석은 표적-상 종양-외 이종이식편에 대한 iCAR 및/또는 pCAR 억제 및 보호를 평가한다. 일부 구현예에서, 상기 생체내 분석은 표적-상 종양-외 조직 및/또는 바이러스성 기관에 대한 iCAR 및/또는 pCAR 억제 및 보호를 평가한다.

[0366] i. 루시페라제 세포독성 분석

[0367] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR은 루시페라제 세포독성 분석을 사용하여 평가된다. 일반적으로, 루시페라제 세포독성 분석의 경우, 재조합 표적 세포 ("T"로 지칭될 수 있음)는 반딧불이 루시페라제를 발현하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 상업적 헬라-Luc 세포는 표적 단백질을 암호화하는 DNA로 형질감염될 수 있다. 상기 시험관내 루시페라제 분석은 Bright-Glo 루시페라제 분석 (Promega 또는 BPS Biosciences 또는 다른 상업적 공급업체로부터 상업적으로 입수가능함)에 따라 수행될 수 있다. 형질도입된 효과기 (E) T 세포 (iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 둘 모두 또는 aCAR 또는 모의 CAR로 형질도입됨)는, 상이한 효과기 대 표적 비에서 시험되기 위해, HLA-A2, CD19, 또는 CD19 및 HLA-A2 둘 모두, 또는 CD20, 또는 CD20 및 CD19 둘 모두를 발현하는 재조합 표적 세포와 함께 24-48시간 동안 배양된다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 또는 pCAR/aCAR 쌍은 전술된 성분을 갖는 aCAR, pCAR 및/또는 iCAR 중 임의의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 쌍은 HLA-A2 표적화된 iCAR 및 CD19 표적화된 aCAR을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 쌍은 CD20 표적화된 iCAR 및 CD19 표적화된 aCAR을 포함한다. 세포 살해는 Bright-Glo 루시페라제 시스템을 사용하여 살아있는 세포의 수를 추정함으로써 간접적으로 정량된다.

[0368] 일부 구현예에서, '종양-외' 세포독성은 iCAR/aCAR 발현 수준에 따라 형질도입된 T 세포 집단을 분류하거나, 또는 예를 들어 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프를 암호화하는 유전자 생성물의 발현을 비롯한 표적 발현에 따라 재조합 표적 세포의 하위 집단을 선택함으로써, 최적화될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR 표적은 세포외 도메인을 갖는 임의의 표적이다. 일부 구현예에서, 상기 분류는 CD19 또는 HLA-A2 발현 수준을 기반으로 한다.

[0369] 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR은, 상기 iCAR 형질도입된 T 세포가 시험관내에서 '종양-상' 세포 (예를 들어, 종양 세포)와 '종양-외' 세포 (예를 들어, 비종양 세포)를 구별할 수 있는지를 측정하기 위해 검사된다. 일반적으로 이는 '종양-상' 세포 및 '종양-외' 세포의 혼합물과 함께 1:1의 비로 배양된 형질도입된 T 세포의 살해 효과를 조사함으로써 시험한다. 일부 구현예에서, 상기 비는 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 또는 1:8이다. 한 번에 하나의 세포 집단만이 루시페라제 유전자를 발현하도록 조작되는 구현예에서, 종양-상 재조합 세포는 루시페라제 발현에 의해 '종양-외' 재조합 세포와 구별될 수 있다. Bright-Glo 루시페라제 분석 (Promega)을 사용하여 24-48시간의 공동 배양 후 살해를 정량할 수 있다.

[0370] 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 및/또는 pCAR/aCAR 형질도입된 T 세포는, aCAR로는 형질도입되었지만 상기 iCAR 및/또는 pCAR로는 형질도입되지 않은 T 세포와 비교하여, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 및/또는 약 95% 적은 종양-외 세포 살해를 나타낸다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 및/또는 pCAR/aCAR 형질도입된 T 세포는, aCAR로는 형질도입되었지만 상기 iCAR 및/또는 pCAR로는

형질도입되지 않은 T 세포와 비교하여, 약 1배, 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 또는 약 10배 적은 종양-외 세포 살해를 나타낸다.

[0371] ii. 카스파제 3

[0372] 일부 구현예에서, '종양-상' 세포 (예를 들어, 종양 세포) 및 '종양-외' 세포 (예를 들어, 비종양 세포)의 세포자멸사 수준을 시험관내에서 측정하기 위해 상기 iCAR 및/또는 pCAR을 검사하기 위해 카스파제 3-검출 분석이 사용된다. 일부 구현예에서, 활성화된 절단된 카스파제 3에 대한 항체에 의한 세포독성 림프구 (CTL) 유도된 세포자멸사의 카스파제 3-검출이 검사된다.

[0373] 일반적으로, CTL이 표적 세포를 살해하는 경로 중 하나는 Fas 리간드를 통해 세포자멸사를 유도하는 것이다. CASP3 단백질은 시스테인-아스파르트산 프로테아제 (카스파제) 패밀리의 구성원이다. 전형적으로, 카스파제의 순차적 활성화는 세포자멸사의 실행 단계에서 중요한 역할을 하며, 따라서 프로-카스파제 3에서 카스파제 3으로의 절단은 형태적 변화 및 촉매 활성의 발현을 초래한다. 카스파제 3의 절단된 활성화 형태는 단일클론 항체에 의해 특이적으로 인식될 수 있다.

[0374] 일부 구현예에서, 형질도입된 T 세포는 '종양-상' (예를 들어, 모의 종양) 및 '종양-외' 세포 (예를 들어, 모의 비종양) 재조합 세포와 함께 배양될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 '종양-상' (예를 들어, 종양) 및 '종양-외' 세포 (예를 들어, 비종양) 재조합 세포는 CFSE ((5(6)-카르복시플루오레세인 N-히드록시숙신이미딜 에스테르)) 또는 기타 세포 추적 염료 (예를 들어 CellTrace Violet)로 사전에 표지된다. 일부 구현예에서, 효과기 세포와 표적 세포의 공동 배양은 약 1시간 내지 약 6시간, 약 2시간 내지 약 5시간, 또는 약 2 내지 약 4시간 동안 수행된다. 일부 구현예에서, 표적 세포 세포자멸사는 유세포 분석에 의해 정량된다. 세포는 내부 염색 키트 (Miltenyi 또는 BD bioscience)로 투과화 및 고정되고 활성화된 카스파제 3에 대한 항체 (BD bioscience)로 염색될 수 있다.

[0375] 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 및/또는 pCAR/aCAR 형질도입된 T 세포는, aCAR로는 형질도입되었지만 상기 iCAR 및/또는 pCAR로는 형질도입되지 않은 T 세포와 비교하여, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 및/또는 약 95% 적은 종양-외 세포자멸사를 유도한다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR/iCAR 및/또는 aCAR/pCAR 형질도입된 T 세포는, aCAR로는 형질도입되었지만 상기 iCAR 및/또는 pCAR로는 형질도입되지 않은 T 세포와 비교하여, 약 1배, 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 또는 약 10배 적은 종양-외 세포자멸사를 유도한다.

[0376] iii. 시간 경과 현미경

[0377] 시간 경과 현미경 CTL-

[0378] 표적 결합을 포착하기 위해 iCAR 및/또는 pCAR 형질도입된 T 세포의 시간 경과 현미경이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 세포는 리포터 유전자 (예를 들어 이에 제한되지는 않지만, mCherry와 같은 형광 단백질)로 표지된다. 일부 구현예에서, 형질도입된 T 세포는 '종양-상' 또는 '종양-외' 세포와 함께 최대 5일 동안 배양된다. 일부 구현예에서, 시간 경과 현미경을 사용하여 살해를 시각화할 수 있다. 일부 구현예에서, 종점 시점에서의 표적 세포 수를 측정하기 위해 생존가능한 세포 수 염색 및 CountBright 비드 (Invitrogen)를 사용한 유세포 분석이 수행된다.

[0379] 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 또는 aCAR/pCAR 형질도입된 T 세포가 시험관내에서 표적을 식별할 수 있는지를 측정하기 위해, 각각의 재조합 표적 세포 ('종양-상' 또는 '종양-외')는 상이한 리포터 단백질 (예를 들어 GFP 및 mCherry)로 표지된다. 일부 구현예에서, 리포터 쌍이 용이하게 구별될 수 있는 2개의 리포터를 포함하는 한, 임의의 리포터 단백질 쌍이 유효할 것이다. 일부 구현예에서, 형질도입된 T 세포 (효과기 세포)는 1:1 비의 E/T로 재조합 세포 (표적 세포)와 공동 배양된다. 일부 구현예에서, 효과기 대 표적의 비 (E/T)은 16:1, 12:1, 10:1, 8:1, 6:1, 4:1, 2:1, 또는 1:1을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 이어서, 세포 운명은 현미경 이미징에 의해 검사된다.

[0380] iv. 사이토카인 방출

[0381] T 세포 활성화를 측정하기 위해 사이토카인 방출이 검사될 수 있다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 및/또는 pCAR/aCAR 형질도입된 T 세포는 재조합 표적 세포와 함께 배양되고, 하나 이상의 사이토카인에 대한 사이토카인 생산량이, 예를 들어 BioLegend의 ELISA MAXTM Deluxe Set 키트에 따라 세포 배양 상층액에서의 사이토카인 분비를 측정함으로써, 또는 사이토카인을 생산하는 T 세포의 백분율에 대한 유세포 분석에 의해 정량된다. 유세포

분석의 경우, 사이토카인의 분비를 방지하기 위해 골지 스톱 (Golgi stop)이 일반적으로 사용된다. 일부 구현예에서, 형질도입된 T 세포를 표적 세포와 6시간 및 18시간 내지 24시간 배양한 후, T 세포는 내부 염색 키트 (Miltenyi)에 의해 투과화 및 고정되고 T 세포 마커 (CD3 및 CD8) 및 하나 이상의 사이토카인에 대한 항체로 염색된다. 일부 구현예에서, 상기 사이토카인은 IL-2, INFɣ 및/또는 TNFα를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0382] v. CD107a 염색

[0383] 형질도입된 T 세포의 세포용해 활성을 측정하기 위해 CD107a에 대한 염색을 또한 검사할 수 있다. 일반적으로, T 세포의 탈과립화는 리소좀 관련 막 단백질 (LAMP-1)인 CD107a의 표면 발현에 의해 식별될 수 있으며, LAMP-1의 표면 발현은 CD8 T 세포 세포독성과 상관 관계가 있는 것으로 나타났다. 추가로, 이 분자는 리소좀의 내강 측에 위치한다. 전형적으로, 활성화시, CD107a는 활성화된 림프구의 세포막 표면으로 전달된다. 또한, CD107a는 세포 표면에서 일시적으로 발현되고 식작용 경로를 통해 신속하게 재내재화된다. 따라서, 이론에 구속되고자 하는 것은 아니지만, CD107a 검출은 세포 자극 동안의 항체 염색 및 모넨신의 첨가 (예를 들어, 세포 이물 흡수된 CD107a 항체 복합체의 산성화 및 후속 분해를 방지하기 위함임)에 의해 최대화된다.

[0384] 일부 구현예에서, 상기 aCAR/iCAR 및/또는 aCAR/pCAR 형질도입된 T 세포는 약 6시간 내지 약 24시간 동안 표적 세포와 함께 배양되고 CD8 T 세포 상에서의 CD107a 발현이 검사된다. 일부 구현예에서, 표적 세포는 (종양 세포에서와 같이) aCAR에 의해 인식되는 하나의 표적 단백질만을 발현하거나, 또는 표적 세포는 (정상 세포에서와 같이) aCAR 및 iCAR에 의해 인식되는 표적 단백질 둘 모두를 발현한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR 형질도입된 T 세포는 모넨신의 존재하에 표적 세포와 함께 약 6시간 내지 약 24시간 동안 배양되고, CD8 T 세포 상에서의 CD107a 발현이 T 세포 표면 마커 (예를 들어, CD3 및 CD8)에 대한 접합된 항체 및 CD107a에 대한 접합된 항체를 사용하여 유세포 분석에 의해 측정된다.

[0385] vi. ELISA에 의한 분비된 사이토카인의 정량

[0386] 일부 구현예에서, iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR 및 iCAR 둘 모두를 발현하는 형질도입된 T-세포 (저캇 또는 1차 T-세포)와 iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR 및 iCAR 항원 둘 모두를 발현하는 변형된 표적 세포의 공동 배양 후, 조정 배지를 수집하고, 사이토카인 ELISA에 의해 사이토카인의 농도를 측정한다. 일부 구현예에서, 상기 사이토카인은 IL-2, INFɣ 및/또는 TNFα로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 사이토카인은 IL-2로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 사이토카인은 INFɣ로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 사이토카인은 TNFα로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 이중 CAR (aCAR/iCAR) 형질도입된 세포에서 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 99%의 감소가 나타난다.

[0387] vii. 세포 계측 비드 어레이 (Cytometric Bead Array (CBA)) 분석에 의해 측정된 사이토카인 분비

[0388] 세포 계측 비드 어레이 (CBA)는 사이토카인, 케모카인 및 성장 인자를 비롯한 다양한 가용성 세포내 단백질을 측정하는데 사용된다. 일부 구현예에서, aCAR 또는 aCAR 및 iCAR 구조체 (효과기 세포)로 형질도입된 T-세포 (1차 T-세포 또는 저캇 세포)는, 세포 표면에 iCAR 및 aCAR 둘 모두 또는 aCAR 또는 iCAR 표적 항원을 발현하는 변형된 표적 세포로 자극된다. 일부 구현예에서, 효과기 대 표적 비는 20:1 내지 1:1의 범위이다. 일부 구현예에서, 효과기 대 표적 비는 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1,2:1, 또는 1:1의 범위이다. 일부 구현예에서, 수시간의 공동 배양 후, 효과기 세포는 효과기 상태를 나타내는 사이토카인을 생산하고 분비한다. 일부 구현예에서, 반응 상층액을 수집하고, 분비된 IL-2를 다중 CBA 분석에 의해 측정하고 정량하였다.

[0389] 일부 구현예에서, 두 표적 항원 모두를 발현하는 표적 세포와 공동 배양된 이중 CAR (aCAR/iCAR) 형질도입된 세포에서, 동일한 효과기 세포와 하나의 표적만을 발현하는 표적 세포의 공동 배양으로부터 생성된 IL-2 분비와 비교하여 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 99%의 감소가 나타난다. 일부 구현예에서, 이중 CAR (aCAR/iCAR) 형질도입된 세포가 두 표적 항원 모두를 발현하는 표적 세포와 공동 배양된 경우, 동일한 효과기 세포와 하나의 표적만을 발현하는 표적 세포의 공동 배양으로부터 생성된 IL-2 분비와 비교하여, IL-2 분비에 있어 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 99%의 감소가 나타났다. 일부 구현예에서, 86%의 감소. 일부 구현예에서, 상기 aCAR은 CD19 aCAR이다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR은 HLA-A2 iCAR이다. 일부 구현예에서, 상

기 iCAR은 CD20 iCAR이다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR/iCAR 쌍은 CD19 aCAR 및 HLA-A2 iCAR이다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR/iCAR 쌍은 CD19 aCAR 및 CD20 iCAR이다.

[0390] viii. CD107a 염색에 의해 측정된 T-세포 탈과립 분석

[0391] 일부 구현예에서, T 세포의 탈과립화는 리소좀 관련 막 단백질 (LAMP-1) 인 CD107a의 표면 발현에 의해 식별될 수 있다. 일부 구현예에서, LAMP-1의 표면 발현은 CD8 T 세포 세포독성과 상관 관계가 있는 것으로 나타났다. 일부 구현예에서, 과립화 (CD107a)는 살해 가능성에 대한 마커이다.

[0392] B. 생체내 분석

[0393] 일부 구현예에서, 상기 iCAR/aCAR 및/또는 iCAR/pCAR 쌍은 생체내 효과에 대해 시험된다. 일부 구현예에서, NOD/SCID/γc- 또는 유사한 마우스에 종양 세포를 정맥내 접종한다. 일부 구현예에서, 상기 종양 세포는 반딧불이 루시페라제를 발현하도록 조작된 CD19 양성 NALM 6 (ATCC, 인간 B-ALL 세포주) 세포이다. 일부 구현예에서, '표적-상' 세포 및 '종양-외' 세포의 확립 및/또는 분화를 위해, NALM 6은 iCAR 및/또는 pCAR 에피토프를 발현하여 건강한 세포를 나타내도록 조작될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR 에피토프는 적어도 하나의 세포외 다형성 에피토프를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 iCAR 및/또는 pCAR에피토프는 HLA-A2 또는 CD20으로부터의 것이다. 이들 분석에 사용될 수 있는 다른 세포는 라지 또는 다른 재조합 세포주를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 이러한 분석은 PDX (환자 유래 이종 이식편) 모델에서 일 수 있다.

[0394] 분석을 위해, 마우스를 연구군들로 나누고; 한 군에는 NALM 6 세포를 주사하고 다른 군에는 iCAR 에피토프를 발현하는 NALM-6을 주사한다. 며칠 후, 마우스에 aCAR, aCAR/iCAR로 형질도입된 T 세포 및 형질도입되지 않은 T 세포의 대조군 또는 T 세포가 없는 대조군을 정맥내로 주입한다. 마우스를 희생시키고 총 유동에 따라 종양 부담을 정량한다.

[0395] 상기 분석의 일 구현예에 따르면, iCAR 및/또는 pCAR 구조체를 발현하는 T 세포가 동일한 유기체 내에서 생체내에서 표적 세포와 표적-외 세포를 구별할 수 있는지를 시험하기 위해, 마우스에 '종양-상'/ '종양-외' NALM-6 세포의 1:1 혼합물을 주사한 후, aCAR 단독 또는 aCAR 및 iCAR 둘 모두를 발현하는 형질도입된 T 세포를 주사하였다. 이 구현예에서, 마우스 희생시, 비장 및 골수에서의 '종양-상' 및 '종양-외' 세포의 존재가 2개의 마커, 즉 CD19 및 iCAR 에피토프에 대한 유세포 분석에 의해 분석된다.

[0396] i. 인간 이종 이식 마우스 모델에서의 생체내 CTL 분석

[0397] 일부 구현예에서, aCAR 및 iCAR 구조체 둘 모두를 발현하는 T-세포가 동일한 유기체 내에서 표적 세포와 '표적-외' 세포를 구별하고 '표적-외'세포를 살리면서 표적 세포를 효과적으로 살해하는지 여부에 대한 시험은 생체내 CTL 분석에 의해 평가된다.

[0398] 일부 구현예에서, iCAR 또는 aCAR 또는 iCAR 및 aCAR 둘 모두를 갖는 형질도입된 T 세포를 천연 NOD/SCID/γc- 또는 유사한 마우스에 i.v. 주사한 후, 최대 수시간 후에, iCAR, aCAR 또는 둘 모두를 발현하는 표적 세포를 주사한다. 일부 구현예에서, 이들 표적은 CFSE/CPDE 또는 유사한 세포 추적 염료로 상이한 농도 (고, 중, 저)로 표지되며, 이는 이들을 추가로 구별할 수 있게 한다. 일부 구현예에서, 실시예 5에 기술된 바와 같이 특이적 살해의 백분율이 계산된다.

[0399] ii. 인간 이종 이식 마우스 모델에서의 종양 성장 동역학

[0400] 일부 구현예에서, 상기 종양 세포는 iCAR 표적, aCAR 표적 또는 둘 모두를 발현한다. 일부 구현예에서, aCAR 종양 세포주는 CD19 양성 NALM 6 (ATCC, 인간 BALL 세포주)일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 aCAR 및 iCAR 둘 모두를 발현하는 종양 세포 (즉, '종양-외' 세포)는 iCAR 에피토프 (예를 들어, HLA-A2)를 발현하여 건강한 세포를 나타내도록 조작된 NALM 6이다. 일부 구현예에서, NALM 6 및 NA1M 6-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예를 들어 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작될 수 있다.

[0401] 일부 구현예에서, 기계적 수단 (캘리퍼) 및 생체내 이미징 시스템 (IVIS)을 사용하여 종양 부피를 측정함으로써 모니터링이 수행된다. 일부 구현예에서, 종양 부담이 정량될 수 있고, 침윤성 T-세포 집단은 FACS에 의해 분석될 수 있다.

[0402] iii. 형질전환 마우스 모델에서의 독성 및 종양 성장 동역학

[0403] 일부 구현예에서, 또한, 인간 aCAR 및 iCAR 표적을 발현하는 형질전환 마우스를 사용하여, 형질도입된 T-세포의 효능을 측정할 수 있다. 일부 구현예에서, 시스템은 효능 및 독성 문제를 모니터링할 수 있게 한다.

[0404] C. 생체내 용도: 치료, 바이오 마커

[0405] 또 다른 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 대상체에 대한 개인화된 바이오마커를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (i) 상기 대상체로부터 종양 생검을 수득하는 단계; (ii) 상기 대상체로부터 정상 조직의 샘플, 예를 들어 PBMC를 수득하는 단계; 및 (iii) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하여, 상기 대상체에 대한 개인화된 바이오마커를 식별하는 단계를 포함한다.

[0406] 일부 구현예에서, 상기 바이오마커는 상기 대상체의 치료를 맞춤화하기 위해 사용되므로, 상기 방법은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 단계를 추가로 포함하고, 이는 상기에 정의된 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 iCAR은 (iii)에서 식별된 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다. 일부 구현예에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 대상체에 대한 개인화된 바이오마커를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (i) 상기 대상체로부터 종양 생검을 수득하는 단계; (ii) 상기 대상체로부터 정상 조직의 샘플, 예를 들어 PBMC를 수득하는 단계; 및 (iii) LOH 후보 점수에 기초하여, LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 단계를 포함하며, 여기서 대립유전자 변이체는 상기 대상체에 대한 개인화된 바이오마커로서 식별된다.

[0407] 추가적인 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기에 정의된 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 암호화하는 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다.

[0408] 유사한 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 대상체에서 종양 부담을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기에 정의된 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 또는 적어도 상기 aCAR이 발현되는 필수적인 조직에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 암호화하는 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다.

[0409] 또 다른 유사한 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 대상체에서 생존을 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기에 정의된 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 암호화하는 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다.

[0410] 추가적인 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자를 치료하거나, 그의 종양 부담을 감소시키거나, 그의 생존을 증가시키는데 사용하기 위한 상기에 정의된 안전한 효과기 면역 세포에 관한 것이며, 여기서 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 암호화하는 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다.

[0411] 추가적인 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 (i) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 정보를 식별하거나 얻는 단계; (ii) 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 정보를 식별하거나 얻는 단계로서, 여기서 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 상기 암 환자의 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되는, 단계; (iii) 본원에서 상기에 정의된 iCAR을 정의하는 적어도 하나의 핵산 분자 및 본원에서 상기에 정의된 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 적어도 하나의 핵산 분자, 또는 적어도 하나의 본원에서 상기에 정의된 벡터를 선택하거나 얻는 단계로서, 여기서 상기 iCAR은 (i)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하고, 상기 aCAR은 (ii)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는, 단계; (iv) 효과기 면역 세포를 (iii)의 핵산 분자로 형질감염시키거나 효과기 면역 세포를 (iii)의 벡터로 형질도입함으로써, 안전한 재지시된 효과기 면역 세포의 적어도 하나의 집단을 제조하거나 얻는 단계; 및 (v) (iv)의 안전한 재지시된 면역 효과기 세포의 적어도 하나의 집단을 상기 암 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0412] 유사한 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하기 위한 안전한 재지시된 면역 효과기 세포의 적어도 하나의 집단을 제공하며, 여기서 상기 안전한 재지시된 면역 세포는 (i) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 정보를 식별하거나 얻는 단계; (ii) 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 정보를 식별하거나 얻는 단계로서, 여기서 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 상기 암 환자의 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되는, 단계; (iii) 본원에서 상기에 정의된 iCAR을 정의하는 적어도 하나의 핵산 분자 및 본원에서 상기에 정의된 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 적어도 하나의 핵산 분자, 또는 적어도 하나의 본원에서 상기에 정의된 벡터를 선택하거나 얻는 단계로서, 상기 iCAR은 (i)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하고, 상기 aCAR은 (ii)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는, 단계; (iv) 효과기 면역 세포를 (iii)의 핵산 분자로 형질감염시키거나 효과기 면역 세포를 (iii)의 벡터로 형질도입함으로써, 안전한 재지시된 효과기 면역 세포의 적어도 하나의 집단을 제조하거나 얻는 단계에 의해 수득된다.

[0413] 암의 치료 또는 암의 치료에 사용하기 위한 안전한 면역 효과기 세포의 치료에 관한 상기 구현예 중 어느 하나를 언급하는 일부 구현예에서, (i) 상기 iCAR의 세포외 도메인은, 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원인 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; (ii) 상기 iCAR의 세포외 도메인은 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 동일한 항원의 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; 또는 (iii) 상기 iCAR의 세포외 도메인은 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상이한 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다.

[0414] 일부 구현예에서, 상기 치료는, (iii)의 aCAR을 발현하지만 (iii)의 iCAR을 포함하지 않는 면역 효과기 세포의 적어도 하나의 집단을 상기 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료와 비교하여, 감소된 표적-상, 종양-외 반응성을 초래한다.

[0415] 일부 구현예에서, 상기에 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 효과기 면역 세포는, 그의 표면 상에, 종양-관련 항원 또는 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원인, 적어도 하우스키핑 단백질 또는 종양의 기원 조직에서 발현되는 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR을 발현한다.

[0416] 일부 구현예에서, 상기에 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 효과기 면역 세포는, 그의 표면 상에, 종양-관련 항원 또는 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원인, 적어도 하우스키핑 단백질 또는 종양의 기원 조직에서 발현되는 항원, 예를 들어 HLA 유전자 (예를 들어, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ, 또는 HLA-DR)의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR을 발현한다.

[0417] 일부 구현예에서, 상기에 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 효과기 면역 세포는, 그의 표면 상에, 종양-관련 항원 또는 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원인, 적어도 종양의 기원 조직에서 발현되는 항원, 예를 들어 HLA-A의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR을 발현한다.

[0418] 일부 구현예에서, 면역 효과기 세포의 하나 초과의 집단이 투여되고, 상기 상이한 집단들은 상이한 유전자 생성물의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 상이한 쌍의 aCAR 및 iCAR을 발현한다.

[0419] 일부 구현예에서, 암을 치료하는 상기 방법에 사용되는 안전한 효과기 면역 세포는 T 세포, 자연 살해 세포 또는 사이토카인-유도 살해 세포로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 상기 안전한 효과기 면역 세포는 자가 또는 보편적인 (동종이계) 효과기 세포이다. 일부 구현예에서, 상기에 정의된 암을 치료하는 상기 방법 중 어느 하나에 사용되는 iCAR은 상기 aCAR의 표적-항원이 존재하는 환자의 모든 조직에 대해 지시되며, 여기서 상기 aCAR의 표적 항원은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체이며, 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유된다.

[0420] 일부 구현예에서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병 [LAML], 부신피질 암종 [ACC], 방광 요로상피세포 암종 [BLCA], 뇌 저등급 신경교종 [LGG], 유방 침습성 암종 [BRCA], 자궁경부 편평 세포 암종 및 자궁경내 선암종 [CESC], 담관암종 [CHOL], 결장 선암종 [COAD], 식도 암종 [ESCA], 다형 교모세포종 [GBM], 두경부 편평 세포 암종 [HNSC], 신장 비염색 [KICH], 신장 투명 세포 암종 [KIRC], 신장 유두 세포 암종 [KIRP], 간세포 암종 [LIHC], 폐 선암종 [LUAD], 폐 편평 세포 암종 [LUSC], 림프성 종양 확산성 거대 B-세포 림프종 [DLBC], 중피종 [MESO], 난소 장액 낭선암종 [OV], 췌장 선암종 [PAAD], 크롬친화세포종 및 부신경절종 [PCPG], 전립선 선암종 [PRAD], 직장 선암종 [READ], 육종 [SARC], 피부 흑색종 [SKCM], 위 선암종 [STAD], 고환 생식 세포 종양 [TGCT], 흉선종 [THYM], 갑상선 암종 [THCA], 자궁 암육종 [UCS], 자궁 체부 자궁내막 암종 [UCEC], 포도막 흑색종 [UVM]으로부터 선택된다.

[0421] 일부 구현예에서, 암 치료에 사용하기 위한 iCAR 및/또는 pCAR은 본원에 기술된 임의의 iCAR 및/또는 pCAR이다. 일부 구현예에서, 상기 암, 예를 들어 상기 언급된 암 유형 중 어느 하나를 치료하는데 사용되는 iCAR 및/또는 pCAR는 HLA 유전자 (예를 들어, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ, 또는 HLA-DR, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자)의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 **표 8**에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시된다. 일부 구현예에서, 상기 암, 예를 들어 상기 언급된 암 유형 중 어느 하나를 치료하는데 사용되는 iCAR 은 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 **표 8**에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되고; 상기 암, 예를 들어 상기 언급된 암 유형 중 어느 하나를 치료하는데 사용되는 aCAR은 **표 1**에 열거된 항원, 예를 들어 CD19로부터 선택된 비다형성 세포 표면 에피토프에 대해 지시되거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0422] 경구 투여의 경우, 약학적 제제는 액체 형태, 예를 들어 용액, 시럽 또는 현탁액일 수 있거나, 또는 사용 전에 물 또는 다른 적합한 비히클로 재구성하기 위한 의약품으로서 제공될 수 있다. 이러한 액체 제제는 약학적으로 허용가능한 첨가제, 예를 들어 현탁제 (예를 들어, 소르비톨 시럽, 셀룰로스 유도체 또는 수소화된 식용 지방); 유화제 (예를 들어, 레시틴 또는 아카시아); 비수성 비히클 (예를 들어, 아몬드 오일, 유성 에스테르 또는 분별 식물성 오일); 및 보존제 (예를 들어, 메틸 또는 프로필-p-히드록시벤조에이트 또는 소르브산)를 사용하여 통상적인 수단에 의해 제조될 수 있다. 상기 약학적 조성물은, 예를 들어, 약학적으로 허용가능한 부형제, 예를 들어 결합제 (예를 들어, 전호화 옥수수 전분, 폴리비닐 피롤리돈 또는 히드록시프로필 메틸셀룰로스); 충전제 (예를 들어, 락토스, 미정질 셀룰로스 또는 인산 수소 칼슘); 윤활제 (예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 활석 또는 실리카); 붕해제 (예를 들어, 감자 전분 또는 나트륨 전분 글리콜레이트); 또는 습윤제 (예를 들어, 라우릴 황산나트륨)를 사용하여 통상적인 수단에 의해 제조된 정제 또는 캡슐제 형태를 취할 수 있다. 상기 정제는 당업계에 널리 공지된 방법으로 코팅될 수 있다.

[0423] 경구 투여용 제제는 활성 화합물의 제어 방출을 제공하도록 적합하게 제제화될 수 있다.

[0424] 협측 투여의 경우, 상기 조성물은 통상적인 방식으로 제제화된 정제 또는 로젠지 형태를 취할 수 있다.

[0425] 상기 조성물은 주사, 예를 들어 볼루스 주사 또는 연속 주입에 의한 비경구 투여용으로 제제화될 수 있다. 주사용 제제는 보존제가 첨가된 단위 제형, 예를 들어 앰플 또는 다중 투여 용기로 제공될 수 있다. 상기 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중의 현탁액, 용액 또는 유화액과 같은 형태를 취할 수 있으며, 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 제제화제를 포함할 수 있다. 대안적으로, 상기 활성 성분은 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어 멸균 무발열원 물로 구성하기 위한 분말 형태일 수 있다.

[0426] 상기 조성물은 또한, 예를 들어 통상적인 좌약 베이스, 예를 들어 코코아 버터 또는 다른 글리세리드를 포함하는 직장 조성물, 예를 들어 좌약 또는 정체관장으로 제제화될 수 있다.

[0427] 흡입 투여의 경우, 본 발명에 따라 사용하기 위한 조성물은, 적합한 추진제, 예를 들어 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소, 또는 다른 적합한 기체를 사용하여, 가압된 팩 또는 분무기로부터 에어로졸 스프레이 형태로 편리하게 전달된다. 가압 에어로졸의 경우, 투여량 단위는 계량된 양을 전달하기 위한 밸브를 제공함으로써 측정될 수 있다. 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한, 예를 들어 젤라틴의 카트리지 및 캡슐제는 상기 화합물의 분말 혼합물 및 락토스 또는 전분과 같은 적합한 분말 베이스를 포함하도록 제제화될 수 있다.

[0428] 명확성을 위해, 그리고 본 교시의 범위를 제한하는 것은 아니지만, 달리 명시되지 않는 한, 본원에 언급된 수량, 백분율 또는 비율을 나타내는 모든 수, 및 다른 수치는, 모든 경우에서, 용어 "약"이 선행하는 것으로 해

석되어야 한다. 따라서 본 명세서에 언급된 수치 파라미터는 목적하는 결과에 따라 달라질 수 있는 근사치이다. 예를 들어, 각각의 수치 파라미터는, 보고된 유효 자릿수를 고려하고 통상의 반올림 기술을 적용하여 이해될 수 있다.

[0429] 본원에서, 용어 "약"은 표시된 값의 상하 10% 이하의 값이 또한 포함됨을 의미한다.

[0430] **예시적인 구현예**

[0431] 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은 하기 예시적인 구현예를 제공한다.

[0432] 1. 핵산 분자로서, 효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호 키메라 항원 수용체 (pCAR)를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 iCAR 또는 pCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 포유류 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인; 및 효과기 면역 세포를 억제하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는 세포내 도메인을 포함하는, 핵산 분자.

[0433] 2. 제1항에 있어서, 상기 다형성 세포 표면 에피토프는 하우스키핑 유전자 생성물, 예를 들어 HLA 유전자, G-단백질-결합 수용체 (GPCR), 이온 채널 또는 수용체 티로신 키나제, 바람직하게는 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C; 또는 표 8로부터 선택된 유전자의 다형성 세포 표면 에피토프를 갖는, 핵산 분자.

[0434] 3. 제1항에 있어서, 상기 세포외 도메인은 (i) 항체, 그의 유도체 또는 단편, 예를 들어 인간화 항체; 인간 항체; 항체의 기능적 단편; 나노바디 (nanobody)와 같은 단일-도메인 항체; 재조합 항체; 및 단일쇄 가변 단편 (ScFv); (ii) 항체 모방체, 예를 들어 어피바디 (affibody) 분자; 아필린 (affilin); 아피머 (affimer); 아피틴 (affitin); 알파바디 (alphabody); 안티칼린 (anticalin); 아비머 (avimer); 다르핀 (DARPin); 피노머 (fynomer); 쿠니츠 (Kunitz) 도메인 펩티드; 및 모노바디 (monobody); 또는 (iii) 앱타머를 포함하는, 핵산 분자.

[0435] 4. 제1항에 있어서, 상기 포유류 조직은 인간 조직이고 상기 관련 포유류 정상 조직은 종양이 발생한 정상 조직인, 핵산 분자.

[0436] 5. 제1항에 있어서, 상기 효과기 면역 세포는 T 세포, 자연 살해 세포 또는 사이토카인-유도 살해 세포인, 핵산 분자.

[0437] 6. 제1항에 있어서, 효과기 면역 세포를 억제할 수 있는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는 면역 체크포인트 단백질의 신호전달 요소와 상동성인, 핵산 분자.

[0438] 7. 제6항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 단백질은 PD1; CTLA4; BTLA; 2B4; CD160; CEACAM, such as CEACAM1; KIRs, such as KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, LIR1, LIR2, LIR3, LIR5, LIR8 및 CD94-NKG2A; LAG3; TIM3; T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제자 (VISTA); 인터페론 유전자의 자극기 (STING); 면역수용체 티로신계 억제 모티프 (ITIM)-함유 단백질, T 세포 면역글로불린 및 ITIM 도메인 (TIGIT), 및 아데노신 수용체 (예를 들어, A2aR)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 핵산 분자.

[0439] 8. 제1항에 있어서, 상기 세포외 도메인은 가요 성 힌지 및 막횡단 표준적 모티프를 통해 상기 세포내 도메인에 융합되는, 핵산 분자.

[0440] 9. 벡터로서, 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 핵산 분자, 및 상기 핵산 분자에 작동가능하게 연결된 적어도 하나의 제어 요소, 예를 들어 프로모터를 포함하는, 벡터.

[0441] 10. 제9항에 있어서, 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 추가로 포함하고, 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되고, 세포내 도메인은 효과기 면역 세포를 활성화 및/또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는, 벡터.

[0442] 11. 제10항에 있어서, 상기 aCAR의 세포외 도메인은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하고, 상기 iCAR의 세포외 도메인은, 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는, 벡터.

[0443] 12. 제10항 또는 제11항에 있어서, 상기 aCAR의 세포외 도메인은 표 1에 열거된 항원, 예를 들어 CD19로부터 선택된 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는, 벡터.

[0444] 13. 제10항에 있어서, 효과기 면역 세포를 활성화 또는 공동자극하는 상기 적어도 하나의 신호전달 요소는, 예를 들어 CD3ζ 또는 FcRγ 사슬의 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM); KIR2DS 및 KIR3DS와 같은 활성화 살해 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR), 또는 DAP12와 같은 어댑터 분자; 또는 예를 들어 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB) 또는 CD134 (OX40)의 공동자극 신호전달 요소와 상동성인, 벡터.

[0445] 14. 제10항에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열은, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 사이에 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)를 포함하는, 벡터.

[0446] 15. 제14항에 있어서, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치하는, 벡터.

[0447] 16. 제10항에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열은, 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 및 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드를 포함하는, 벡터.

[0448] 17. 제16항에 있어서, 상기 바이러스성 자가-절단 2A 펩티드는 토세아 아시그나 바이러스 (TaV)로부터의 T2A, 구제역 바이러스 (FMDV)로부터의 F2A, 에퀸 리니티스 A 바이러스 (ERAV)로부터의 E2A 및 돼지 테스코바이러스-1 (PTV1)로부터의 P2A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 벡터.

[0449] 18. 제10항에 있어서, 가요성 링커를 통해 상기 iCAR에 연결된 구성적 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 벡터.

[0450] 19. 제1항 내지 제8항에 정의된 효과기 면역 세포의 바람직하지 않은 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 제조하는 방법으로서,

[0451] (i) 공지된 변이체의 적어도 하나의 데이터베이스로부터 단백질-암호화 유전자의 인간 게놈 변이체의 목록을 검색하는 단계;

[0452] (ii) (a) 상응하는 기준 대립유전자와 비교하여 각각의 유전자에 의해 암호화되는 단백질에서 아미노산 서열 변이를 야기하는 변이체를 선택하고,

[0453] (b) 아미노산 서열 변이가 암호화된 단백질의 세포외 도메인에 존재하는 유전자의 변이체를 선택하고,

[0454] (c) 적어도 하나의 종양에서 이형접합성 상실 (LOH)을 겪는 유전자의 변이체를 선택하고,

[0455] (d) (c)에 따라 적어도 LOH를 겪는 상기 적어도 하나의 종양의 기원 조직에서 발현되는 유전자의 변이체를 선택하여, LOH로 인해 상기 적어도 하나의 종양에서 상실되고 적어도 상기 적어도 하나의 종양의 기원 조직에서 발현되는 각각의 유전자에 의해 암호화되는 단백질의 세포외 도메인에 아미노산 서열 변이를 갖는 변이체의 목록을 획득함으로써, 검색된 변이체의 상기 목록을 필터링하는 단계;

[0456] (iii) (ii)에서 획득된 목록으로부터 적어도 하나의 단일 변이체를 포함하는 서열 영역을 정의하고, 상기 적어도 하나의 단일 변이체를 포함하는 상기 서열 영역 및 상응하는 기준 대립유전자를 포함하는 서열 영역을 서브클로닝하고 발현하여, 각각의 에피토프 펩티드를 수득하는 단계;

[0457] (iv) (iii)에서 수득된, 상기 클로닝된 서열 영역에 의해 암호화되는 에피토프 펩티드, 또는 상응하는 기준 대립유전자에 의해 암호화되는 에피토프 펩티드에 특이적으로 결합하는 iCAR 결합 도메인을 선택하는 단계; 및

[0458] (vii) (iv)에 정의된 iCAR 결합 도메인을 각각 포함하는 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 정의된 iCAR을 제조하는 단계를 포함하는, 방법.

[0459] 20. 제19항에서, 각각의 변이체에 대한 부수적 대립유전자 빈도는 1, 2, 3, 4 또는 5% 이상인, 방법.

[0460] 21. 안전한 효과기 면역 세포를 제조하는 방법으로서, (i) 종양-관련 항원에 대해 지시된 TCR-조작된 효과기 면역 세포를 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자로 형질감염시키거나 또는 상기 세포를 제9항의 벡터로 형질도입시키는 단계; 또는 (ii) 천연 효과기 면역 세포를 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 제10항 내지 제13항 중 어느 한 항의 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자로 형질감염시키는 단계; 또는 효과기 면역 세포를 제10항 내지 제18항 중 어느 한 항의 벡터로 형질도입시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0461] 22. 안전한 효과기 면역 세포로서, 제21항의 방법에 의해 수득되는, 안전한 효과기 면역 세포.

[0462] 23. 제22항에 있어서, 그의 표면 상에, 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 상이한 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR을 발현하는, 안전한 효과기 면역 세포.

[0463] 24. 제22항 또는 제23항에 있어서, 상기 aCAR의 세포외 도메인은 표 1에 열거된 항원, 예를 들어 CD19로부터 선택된 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는, 안전한 효과기 면역 세포.

[0464] 25. 제22항에 있어서, 상기 aCAR 및 상기 iCAR은 별개의 단백질로서 세포 표면에 존재하는, 안전한 효과기 면역 세포.

[0465] 26. 제22항에 있어서, 상기 iCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 발현 수준은 상기 aCAR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 발현 수준 이상인, 안전한 효과기 면역 세포.

[0466] 27. LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 대상체에 대한 개인화된 바이오마커를 선택하는 방법으로서,

[0467] (i) 상기 대상체로부터 종양 생검을 수득하는 단계;

[0468] (ii) 상기 대상체로부터 정상 조직의 샘플, 예를 들어 PBMC를 수득하는 단계;

[0469] (iii) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하여,

[0470] 상기 대상체에 대한 개인화된 바이오마커를 식별하는 단계를 포함하는, 방법.

[0471] 28. LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 제22항의 효과기 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 암호화하는 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되는, 방법.

[0472] 29. LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 환자를 치료하는데 사용하기 위한 제22항의 안전한 효과기 면역 세포로서, 상기 iCAR은 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 암호화하는 단일 대립유전자 변이체에 대해 지시되는, 안전한 효과기 면역 세포.

[0473] 30. 제29항의 용도를 위한 안전한 효과기 면역 세포로서, 상기 치료는, (iii)의 aCAR을 발현하지만 (iii)의 iCAR을 포함하지 않는 면역 효과기 세포의 적어도 하나의 집단을 상기 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료와 비교하여, 감소된 표적-상, 종양-외 반응성을 초래하는, 안전한 효과기 면역 세포.

[0474] 31. 제29항의 용도를 위한 안전한 효과기 면역 세포로서, 그의 표면 상에, 종양-관련 항원 또는 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원인, 적어도 하우스키핑 단백질 또는 종양의 기원 조직에서 발현되는 항원, 예를 들어 HLA-A의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR을 발현하는, 안전한 효과기 면역 세포.

[0475] 32. 제28항의 용도를 위한 안전한 면역 효과기 세포로서, 자가 또는 보편적인 (동종이계) 효과기 세포인, 안전한 효과기 면역 세포.

[0476] 33. 제28항 내지 제32항의 중 어느 한 항의 용도를 위한 안전한 효과기 면역 세포로서, T 세포, 자연 살해 세포 또는 사이토카인-유도 살해 세포로부터 선택되는, 안전한 효과기 면역 세포.

[0477] 34. 2개 이상의 핵산 분자의 조합으로서, 각각의 핵산 분자는 제어된 효과기 면역 세포 활성화 시스템의 상이한 구성원을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 핵산 분자는 단일한 연속적인 핵산 분자를 형성하거나, 또는 2개 이상의 별개의 핵산 분자를 포함하고, 상기 제어된 효과기 면역 활성화 시스템은 효과기 면역 세포에게 이형접합성 상실 (LOH)로 인해 하나 이상의 염색체 또는 그의 단편을 상실한 종양 세포를 살해하도록 지시하고 관련 정상 조직의 세포를 살리며,

[0478] (a) 제1 구성원은 항원의 비다형성 세포 표면 에피토프 또는 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유

전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제1 세포외 도메인을 포함하는 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR) 폴리펩티드를 포함하며, 상기 비다형성 또는 다형성 세포 표면 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 관련 비정상 및 정상 포유류 조직의 세포에 의해 공유되고;

[0479] (b) 제2 구성원은 LOH로 인해 비정상 포유류 조직에 의해 발현되지는 않지만 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제2 세포외 도메인을 포함하는 조절 폴리펩티드를 포함하는, 2개 이상의 핵산 분자의 조합.

[0480] 35. 제34항에 있어서, 상기 제1 구성원은,

[0481] (a) 효과기 면역 세포를 활성화 및/또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 구성적 aCAR; 및

[0482] (b) 이종이량체화 소분자에 대한 결합 부위의 제1 구성원 및 임의로 적어도 하나의 공동자극 신호전달 요소를 포함하지만 활성화 신호전달 요소는 포함하지 않는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 조건부 aCAR로부터 선택되고; 상기 제2 구성원은,

[0483] (c) 효과기 면역 세포를 억제하는 적어도 하나의 신호전달 요소를 포함하는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 억제성 키메라 항원 수용체 (iCAR); 또는

[0484] (d) 세다제를 위한 기질을 포함하는 세포외 조절 영역; 막내-절단 프로테아제를 위한 기질을 포함하는 막횡단 표준적 모티프; 및 세포내 도메인을 추가로 포함하는 보호 키메라 항원 수용체 (pCAR)이고, 상기 세포내 도메인은 효과기 면역 세포를 활성화 및/또는 공동자극하는 적어도 하나의 신호전달 요소 및 이종이량체화 소분자에 대한 결합 부위의 제2 구성원을 포함하는, 조합.

[0485] 36. 제34항 또는 제35항에 있어서,

[0486] (i) 상기 iCAR 또는 pCAR의 세포외 도메인은, 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 상이한 항원인 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나;

[0487] (ii) 상기 pCAR 또는 iCAR의 세포외 도메인은 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 동일한 항원의 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; 또는

[0488] (iii) 상기 pCAR 또는 iCAR의 세포외 도메인은 상기 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상이한 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는, 조합.

[0489] 37. 제34항에 있어서, 세다제를 위한 상기 기질은 디스인테그린 및 금속단백분해효소 (ADAM) 또는 베타-세크레타제1 (BACE1)를 위한 기질인, 조합.

[0490] 38. 제37항에 있어서, 상기 기질은 상기 세포외 도메인의 일부를 형성하고 Lin12/노치 반복부 및 ADAM 프로테아제 절단 부위를 포함하는, 조합.

[0491] 39. 제34항에 있어서, 막내-절단 프로테아제를 위한 상기 기질은 SP2, γ-세크레타제, 신호 펩티드 펩티다제 (spp), spp-유사 프로테아제 또는 능형 프로테아제를 위한 기질인, 조합.

[0492] 40. 제39항에 있어서, 상기 기질은 막횡단 표준적 모티프의 일부를 형성하고, 노치, ErbB4, E-카드헤린, N-카드헤린, 에프린-B2, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 CD44의 막횡단 도메인과 상동성이거나, 또는 이로부터 유래하는, 조합.

[0493] 41. 제34항에 있어서, 개별 단백질로서의 상기 조건부 aCAR의 세포외 도메인 및 세포내 도메인을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 각각의 도메인은 막횡단 표준적 모티프에 독립적으로 융합되고 이종이량체화 소분자에 대한 결합 부위의 상이한 구성원을 포함하는, 조합.

[0494] 42. 제34항에 있어서, 이종이량체화 소분자에 대한 상기 결합 부위의 상기 제1 및 제2 구성원 각각은 하기로부터 유래하는, 조합:

[0495] (i) 타크로리무스 (FK506) 결합 단백질 (FKBP) 및 FKBP;

[0496] (ii) FKBP 및 칼시뉴린 촉매 아단위 A (CnA);

[0497] (iii) FKBP 및 시클로필린;

[0498] (iv) FKBP 및 FKBP-라파마이신 관련 단백질 (FRB);

[0499] (v) 기라제 B (GyrB) 및 GyrB;

[0500] (vi) 디하이드로폴레이트 리덕타제 (DHFR) 및 DHFR;

[0501] (vii) DmrB 동종이량체화 도메인 (DmrB) 및 DmrB;

[0502] (viii) PYL 단백질 (아브시스산 수용체 및 RCAR로도 알려짐) 및 ABI; 및

[0503] (ix) GAI *애기장대* 단백질 (지베렐린산 비반응성 및 DELLA 단백질 GAI; GAI로도 알려짐) 및 GID1 *애기장대* 단백질 (지베렐린 수용체 GID1; GID1로도 알려짐).

[0504] **긴 표**

[0505] 본원은 긴 표 부분을 포함한다. 상기 표의 사본은 본원과 함께 CD-ROM으로 동시에 제출된다.

[0506] **실시예**

[0507] 실시예와 관련하여, 다음의 용어가 사용된다.

[0508] 용어 염색체가 사용되는 경우, 이는 일반적으로 SNP가 존재하는 염색체를 지칭한다. SNP 분석의 경우, 위치는 SNP의 게놈 위치를 지칭한다 (어셈블리 GRCh37.p13). 사용되는 경우 snp_id는 dbSNP rs ID (존재하는 경우)를 지칭한다.

[0509] 용어 "ref"는 기준 뉴클레오티드 대립유전자를 지칭한다. 용어 "alt"는 대체 뉴클레오티드 대립유전자를 지칭한다.

[0510] 용어 "품질"은 진유전체 통합 컨소시엄 (Exome Aggregation Consortium (ExAC))의 품질 점수를 지칭한다. 용어 "filter_status"는 ExAC의 필터 정보를 지칭한다.

[0511] 용어 "allele_frequency"는 ExAC의 전체 대립유전자 빈도를 지칭한다. 용어"max_allele_frequency"는 가장 보편적인 대체 대립유전자의 전체 대립유전자 빈도를 지칭한다 (일반적으로 이는 SNP가 동일한 부위에 2개 초과의 대체 대립유전자를 가지고 있는 경우에만 해당되며, 이는 종종 시퀀싱 오류를 의미할 수 있다).

[0512] 용어 "het_allele_count"는 이형접합체인 ExAC의 참가자 수를 지칭한다. 용어 "AFR_AF"는 아프리카인 게놈으로부터의 부수적 대립유전자 빈도를 지칭한다. 용어 "AMR_AF"는 라틴계 게놈에서의 부수적 대립유전자 빈도를 지칭한다. 용어 "EAS_AF"는 동아시아인 게놈에서의 부수적 대립유전자 빈도를 지칭한다. 용어 "FIN_AF"는 핀란드인 게놈에서의 부수적 대립유전자 빈도를 지칭한다. 용어 "NFE_AF"는 비-핀란드인-유럽인 게놈에서의 부수적 대립유전자 빈도를 지칭한다. 용어 "OTH_AF"는 기타 게놈에서의 부수적 대립유전자 빈도를 지칭한다. 용어 "SAS_AF"는 남아시아인 게놈에서의 부수적 대립유전자 빈도를 지칭한다.

[0513] 용어 "max_AF"는 ExAC에서 분류된 집단 중 최대 부수적 대립유전자 빈도를 의미한다 (0.5는 최대 허용가능한 대립유전자 빈도임).

[0514] 용어 "유전자"는 SNP가 속하는 유전자의 휴고 (HUGO) 기호를 지칭한다.

[0515] 용어 "hgnc_ID"는 SNP가 속하는 유전자의 HUGO 유전자 명명 위원회 (HUGO Gene Nomenclature Committee) 수치 ID를 지칭한다.

[0516] 용어 "결과"는 SNP가 번역된 단백질 생성물에 미치는 영향을 의미한다. 이는 missense_variant, frameshift_variant, inframe_deletion, stop_gained를 비롯한 여러 가지 중 하나일 수 있다.

[0517] 용어 "protein_consequence"는 기준 단백질 전사체 (예를 들어, pArg482Gln) 상에서의 아미노산 치환 및 그의 위치를 보고한다.

[0518] 용어 "aa_affected"은 공통 단백질 전사체 상의 영향을 받은 아미노산의 수치 위치를 지칭한다.

[0519] 용어 "allele_1"은 기준 대립유전자에 의해 암호화되는 아미노산을 지칭한다.

[0520] 용어 "allele_2"는 대체 대립유전자에 의해 암호화되는 아미노산을 지칭한다.

[0521] 용어 "sift_score"는 SIFT 알고리즘에 의한 아미노산 치환의 예측된 기능적 효과의 해석 및 점수를 지칭한다. sift5.2.2 버전을 사용한다. 점수는 0 내지 1 범위이다. 낮은 점수는 아미노산 치환이 용인될 가능성이 더 많음

을 의미한다.

[0522] 용어 "polyphen_score"는 polyphen 알고리즘에 의한 아미노산 치환의 예측된 기능적 효과의 해석 및 점수를 지칭한다. PolyPhen (v2.2.2)을 사용한다. 점수는 0 내지 1 범위이다. 낮은 점수는 아미노산 치환이 해로울 가능성이 더 많음을 의미한다.

[0523] 용어 "polyphen_numeric"은 polyphen 알고리즘에서 추출된 수치 단독 점수를 지칭한다.

[0524] 용어 "protein_domains_affected"는 Gene3D, hmmpanther, 및 Prosite 알고리즘 기반의 예측된 단백질 도메인을 지칭한다.

[0525] 용어 "BLOSUM_score"는 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62의 BLOSUM62 매트릭스를 기반으로 한 아미노산 치환의 점수를 지칭한다. 음의 점수는 진화 과정에서 시간이 지남에 따라 덜 자주 발생한 아미노산 치환 (단백질 기능에 영향을 줄 가능성이 더 큼)을 나타낸다.

[0526] 용어 "allele_1_one_letter"는 기준 아미노산 대립유전자의 단일 문자 아미노산 코드를 지칭한다.

[0527] 용어 "allele_2_one_letter"는 대체 아미노산 대립유전자의 단일 문자 아미노산 코드를 지칭한다.

[0528] 용어 "mono_allelic_expression"은 SNP가 속한 유전자가 인간에서 단일 대립유전자 발현을 겪는지 여부를 지칭한다. Savova 등에 의해 확립된 데이터베이스를 이 주석에 사용하였다[7]. 이 열에서 1은 유전자가 단일 대립유전자 발현을 나타냄을 나타낸다. 이 열에서 0은 유전자가 Savova 등의 데이터베이스에서 단일 대립유전자 발현을 나타내지 않았음을 나타낸다. 이 열에서 NA은 유전자가 Savova 등의 논문에서 주석이 표시되지 않았음을 나타낸다.

[0529] 용어 "세포외"는 SNP가 영향을 받은 단백질의 세포외 도메인에 속하는지 여부를 지칭한다. 이 열에서 1은 SNP가 세포외 도메인에 존재함을 나타내고 0은 그렇지 않음을 나타낸다. 단백질 도메인의 주석에 대해 Uniprot를 사용하였다.

[0530] 용어 "Pdb_id"는, 존재하는 경우, 영향을 받은 단백질의 단백질 데이터뱅크 ID를 지칭한다. 하나의 단백질에 대해 많은 단백질 데이터뱅크 항목이 존재하는 경우, 첫번째 ID만 포함된다.

[0531] 용어 "aa_context_21aa_allele_1"은 공통 단백질 서열 상의 SNP 아미노산을 둘러싼 21 아미노산 윈도우를 지칭한다. 상기 서열은 공통 단백질 서열의 선행 부분으로부터의 10개의 아미노산으로 이루어진다. 기준 아미노산이 영향을 받은 위치에서의 공통 단백질 서열과 일치하는지를 확인하였다. 이 두 아미노산이 동일하지 않은 경우, 항목에 "공통 이소형에 기반한 uniprot fasta와의 불일치"가 표시된다.

[0532] 용어 "aa_context_21aa_allele_2": 상기와 동일한 아미노산 윈도우이지만, 아미노산 대립유전자 2를 중간에 삽입함.

[0533] 용어 "gtex_mean": 조직 전체에 걸친 평균 유전자 발현 (RPKM). 이는 GTEX로부터의 조직 전체에 걸친 중간 RPKM 값의 평균 값으로 이루어진다. 예를 들어, 특정 유전자의 값이 폐 (중간값) = 3, 유방 (중간값) = 2, 췌장 (중간값) = 5 인 경우, 이 항목에 보고된 값은 3.33일 것이다.

[0534] 용어 "gtex_min": 모든 조직에 걸쳐 조직에 대한 가장 낮은 유전자 발현. 이 값은 모든 조직에 걸친 유전자 발현의 중간값 목록으로부터 도출된다. 예를 들어, 특정 유전자의 값이 폐 (중간값) = 3, 유방 (중간값) = 2, 췌장 (중간값) = 5 인 경우, 이 항목에 보고된 값은 2일 것이다.

[0535] 용어 "gtex_max": 모든 조직에 걸쳐 조직에 대한 가장 높은 유전자 발현. 이 값은 모든 조직에 걸친 유전자 발현의 중간값 목록으로부터 도출된다. 예를 들어, 특정 유전자의 값이 폐 (중간값) = 3, 유방 (중간값) = 2, 췌장 (중간값) = 5 인 경우, 이 항목에 보고된 값은 5일 것이다.

[0536] 용어 "gtex_std_dev": 특정 유전자에 대한 조직에 걸친 유전자 발현 값의 표준 편차. 예를 들어, 특정 유전자의 값이 폐 (중간값) = 3, 유방 (중간값) = 2, 췌장 (중간값) = 5 인 경우, 이 항목에 보고된 값은 1.5일 것이다.

[0537] 용어 "cell_surface_protein_atlas": 단백질이 세포 표면 단백질 아틀라스 (wlab.ethz.ch/cspa/)에서 막 단백질로 주석이 표시되었는지 여부에 대한 이원 마커. 1은 유전자가 이 데이터베이스에서 막 단백질로 주석이 표시되어 있음을 나타낸다.

[0538] 용어 "human_protein_atlas_membrane_proteins": 단백질이 인간 단백질 아틀라스

(https://www.proteinatlas.org/)에서 막 단백질로 주석이 표시되었는지 여부에 대한 이원 마커. 1은 유전자가 이 데이터베이스에서 막 단백질로 주석이 표시되어 있음을 나타낸다.

[0539] 용어 "subcellular_map_proteome_membrane_proteins": 단백질이 프로테옴의 세포내 지도(http://science.sciencemag.org/content/early/2017/05/10/science.aal3321/)에서 막 단백질로 주석이 표시되었는지 여부에 대한 이원 마커. 1은 유전자가 이 데이터베이스에서 막 단백질로 주석이 표시되어 있음을 나타낸다.

[0540] 용어 "n_membrane_databases_w_gene": 세포막에 발현되는 유전자로 주석이 표시된 유전자를 갖는 데이터베이스의 총 수. 최대 = 3, 최소 = 0.

[0541] 용어 "membrane_protein_call": 그 유전자를 포함한 막 데이터베이스의 수에 대한 원문 해석. 유전자가 하나의 데이터베이스에 포함된 경우, 판정은 "저신뢰도" 막 단백질이다. 유전자가 2개의 데이터베이스에 포함된 경우, 판정은 "중간-신뢰도" 막 단백질이다. 유전자가 3개의 데이터베이스에 포함된 경우, 판정은 "고신뢰도" 막 단백질이다.

[0542] 용어 "ratio_gtex_std_dev_to_mean": 조직 전체에 걸친 평균 유전자 발현에 대비한 조직 전체에 걸친 유전자 발현의 표준 편차의 비. 예를 들어, 특정 유전자의 값이 폐 (중간값) = 3, 유방 (중간값) = 2, 췌장 (중간값) = 5인 경우, 이 항목에 보고된 값은 1.5/3.33= 0.45일 것이다. 이는 조직 전체에 걸친 발현의 균일성의 척도이다. 낮은 값은 유전자가 균일하게 발현됨을 나타낸다. 높은 값은 유전자가 일부 조직에서 발현되고 다른 조직에서는 발현되지 않는 경향이 있음을 암시한다.

[0543] 용어 "universally_expressed": 유전자가 보편적으로 발현되는 것으로 보이는지 여부에 대한 이원 마커. gtex_mean이 gtex_min인 10 초과인 경우, 유전자가 보편적으로 발현되는 것으로 일컬어진다. 용어 "> 1, 및 ratio_gtex_std_dev_to_mean < 1". 이 열의 1은 해당 유전자가 이들 기준을 충족했음을 나타낸다.

[0544] 용어 "질환": 스프레드시트의 이 행에서 LOH 데이터에 대해 분석된 질병에 대한 TCGA 바코드.

[0545] 용어 "mean_expression_in_tissue": 분석된 조직에서의 평균 유전자 발현. 여러 조직 분류가 단일 TCGA 종양 유형에 매핑될 수 있다. GTEX에서의 조직으로부터 TCGA 종양 유형으로의 매핑이 "tcga_disease_tissue_lookup.txt" 파일에 제공된다. 대표적인 샘플은 다음과 같다:

[0546]

tcga_disease	gtex_tissues
acc	부신
blca	방광
brca	유방...유방.조직
cesc	자궁경부...내자궁경부,자궁경부...외자궁경부

[0547] 용어 "mean_expression_in_other_tissues": 분석된 조직을 제외한 다른 모든 조직에서의 평균 유전자 발현. 예를 들어, 분석되는 유전자가 PSMA (전립선 특이적 유전자)인 경우, 분석된 종양 유형이 PRAD (전립선 선암종)일 때, 이 값은 매우 낮을 것이다.

[0548] 용어 "cohens_d": 다른 모든 조직에 대비한 분석된 조직에서의 발현의 분리에 대한 코헨의 *d* (Cohen's *d*) 척도. 이는 얼마나 많은 이러한 유전자가 분석된 조직에서 고유하게 발현되는지에 대한 척도이다. 높은 코헨의 *d*는 이 유전자가 분석된 조직에서 고유하게 발현되므로 좋은 aCAR 표적일 수 있음을 암시한다.

[0549] 용어 "proportion_w_LOH_relative": LOH의 증거를 나타내는 분석된 종양 유형에서의 종양의 비율. LOH를 암시하는 게놈 분절을 호출하기 위한 임계값은 -0.1 (상대 카피 수 단위)이었다. 분절의 상대 카피 수는 종양의 카피 수 신호를 일치된 정상 세포의 카피 수 신호로 나눈 값의 로그였다. 이들 데이터는 cbio 포털에서 획득하였으며 그 기술은 1부에서 검증되었다.

[0550] 용어 "CI_95_low_relative": 이 유전자좌에서 LOH를 겪는 종양의 비율에 대한 95% 신뢰 구간의 하한. R의 prop.test 함수가 이 계산에 사용되었다. 이 함수는 예이츠의 연속성 보정 (Yates' continuity correction)으로 이항 신뢰 구간을 계산한다.

[0551] 용어 "CI_95_high_relative": 이 유전자좌에서 LOH를 겪는 종양의 비율에 대한 95% 신뢰 구간의 상한. R의 prop.test 함수가 이 계산에 사용되었다. 이 함수는 예이츠의 연속성 보정 (Yates' continuity correction)으

로 이항 신뢰 구간을 계산한다.

[0552] 용어 "mutsig_hits_on_chr": 암의 유발자인 것에 대한 통계적 유의성 (q-값 < 0.25)을 통과하는 SNP와 동일한 염색체 상의 유전자. Mutsig 2.0 알고리즘이 사용되었다. 형식은 "유전자 기호, q=q-값; 유전자 기호 2,…"이다

[0553] 용어 "tsg_on_chr_mutated_in_disease": mutsig로부터의 통계적 유의성을 통과하는 유전자 중 하나가 종양 억제 유전자인지 여부에 대한 이항 지시 변수. 이 주석에 사용되는 종양 억제 유전자의 목록은 Vogelstein 등[9]에 의해 발표된 표로부터의 목록이었다. 이 열에서 1은 유전자가 종양 억제 유전자로 주석이 표시되어 있음을 나타낸다.

[0554] 용어 "hallmark_tsg_on_chr_mutated_in_disease": 분석된 종양 유형에서 현저하게 돌연변이된 것으로 식별된 SNP와 동일한 염색체 상의 유전자 중 임의의 것이 "홀마크" 종양 억제 유전자인지 여부에 대한 이항 지시 변수. "홀마크" 종양 억제 유전자는 종양 발달 초기에 돌연변이될 가능성이 더 높은 매우 잘 검증된 종양 억제 유전자의 작은 목록이다. 이들 유전자는 TP53, PTEN, APC, MLL3, MLL2, VHL, CDKN2A, 및 RB1이었다. 이 열의 1은 이들 홀마크 TSG 중 하나가 해당 SNP와 동일한 염색체에 존재하고 분석된 종양 유형에서 현저하게 돌연변이됨을 나타낸다.

[0555] 용어 "gistic_deletion_n_peaks": SNP가 속하는 염색체의 GISTIC 피크 수. 숫자가 높을수록 이 염색체에 유전물질의 상실을 유발하는 선택적 힘이 더 많다는 것을 암시한다.

[0556] 용어 "gistic_deletion_best_q_value: SNP가 속하는 염색체에서의 게놈 상실에 대한 최저 GISTIC q-값. 매우 낮은 q-값은 염색체 어딘가에서 게놈 물질을 상실할 수 있는 현저한 선택적 압력이 있음을 암시한다.

[0557] 용어 "proportion_of_patients_eligible": i) SNP의 생식계열 이형접합성 및 ii) 종양에서의 SNP의 LOH를 갖는 환자의 추정된 비율. SNP의 생식계열 이형접합성을 갖는 환자 비율의 추정치는 이형접합체 비율 방정식 = 2pq를 사용하여 하디-바인베르크 평형(Hardy-Weinberg equilibrium)을 취한다. 여기서 p는 SNP의 전체 대립유전자 분율이며 q = 1-p이다.

[0558] 용어 "proportion_of_patients_eligible_max_ethnicity_targeted": i) SNP의 생식계열 이형접합성 및 ii) 종양에서의 SNP의 LOH를 갖는 환자의 추정된 비율. SNP의 생식계열 이형접합성을 갖는 환자 비율의 추정치는 이형접합체 비율 방정식 = 2pq를 사용하여 하디-바인베르크 평형(Hardy-Weinberg equilibrium)을 취한다. 여기서 p는 SNP의 최대 집단-제한 대립유전자 분율이며 q = 1-p이다. 예를 들어, 어떤 경우에는 사용된 집단이 아프리카인일 수 있고, 어떤 경우에는 남아시아인일 수 있다.

[0559] 용어 "cumulative_score": SNP가 iCAR 표적에 대해 어느 정도 양호한 후보인지 정도를 정량하는 점수. 점수는 0에서 이론적 1 사이이다. 이 점수의 계산에 대한 자세한 내용은 "후보 SNP 순위를 매기기 위한 누적 점수" 부분을 참조한다.

[0560] **실시예 1. 암들에 대한 HLA 유전자의 LOH 비율 평가**

[0561] **서론:**

[0562] 암 세포에서 게놈 상실에 의해 발생하는 취약점을 해결하기 위한 치료 전략이 제안된다. 제안된 전략은 활성화-CAR T-세포 (aCAR) 및 억제성-CAR T-세포 (iCAR)의 조합을 사용하여, 모계 및 부계 대립유전자에 대해 이형접합성인 세포막 단백질을 암호화하는 게놈 분절을 상실한 표적 종양 (즉, 다형성 단백질 암호화 변화를 가짐)을 보다 안전하게 표적화한다.

[0563] 상기 iCAR의 표적이 비종양 조직에 의해서만 발현되는 경우, iCAR은 항종양 효능을 감소시키지 않으면서 CAR-T 요법의 종양-외 독성을 감소시킬 수 있다. iCAR 표적이 비종양 세포에 의해서만 발현되는 이러한 시나리오 중 하나는 iCAR 항원이, 종양 세포에서 결실된 게놈의 일부에 의해 암호화되는 경우 발생한다. 고도로 다형성이고 모든 세포에서 발현되는 것으로 알려진 하나의 유전자 패밀리는 HLA이다.

[0564] HLA 단백질은 포유류 세포에 의해 거의 보편적으로 발현되어, 면역계의 세포에 비자기 항원의 제시를 가능하게 한다. HLA 유전자는 또한 정량적으로 고도로 발현되는 경향이 있어서, 치료 표적화에 보다 적합하다. HLA 유전자의 RNA 발현은 게놈에서의 다른 단백질 암호화 유전자의 99.3%보다 높다 (도 4). HLA 유전자의 평균 조직 발현 및 그의 게놈 위치는 CD-ROM에 제공된 긴 표뿐만 아니라 표 3에도 포함되어 있다.

[0565] 이 섹션의 목표는 HLA 유전자가 빈번하게 결실되는 암 유형을 식별하는 것이다. 2차 분석은 HLA 유전자좌에서의

게놈 상실의 유발자를 식별하려는 시도를 포함한다.

[0566] 본 발명자들은 HLA 유전자의 빈번한 카피-상실을 유발한 선택적 압력을 갖는 암을 식별하기 위한 세부 계획을 실행하였다 (도 5).

[0567] ABSOLUTE **데이터를 사용한 종양 유형 전체에 걸친 HLA 상실의 빈도:**

[0568] 본 발명자들은 ABSOLUTE 알고리즘에 의해 처리된 TCGA의 카피 수 프로파일을 사용하여 HLA-A의 대립유전자 상실률의 실측 추정치를 평가하였다. 공개적으로 이용가능한 ABSOLUTE 분할된 카피-수 데이터를 (https://www.synapse.org/#!Synapse:syn1710464.2)[1]로부터 다운로드하였다. ABSOLUTE 알고리즘은 단일 암 게놈 내의 각각의 대립유전자 분절의 정수 카피 수준을 출력한다. 6번 염색체 (HLA 유전자좌를 보유함)의 단일 카피가 상실되는 경우, 대립유전자 카피 수는 유지된 분절의 경우 1일 것이고 상실된 분절의 경우 0일 것이다. 이형접합성의 카피-중성 상실의 경우, 보유된 분절은 카피 수 2를 가질 것이고 상실된 분절은 카피 수 0을 가질 것이다. ABSOLUTE에 의해 처리된 공개적으로 이용가능한 카피 수 데이터는 12종의 종양 유형에 대해 입수가능하였다 (표 4). 폐 편평 세포 암종 (LUSC)은 다른 종양 유형과 비교하여 HLA-A LOH의 빈도가 가장 높았다 (도 6). 자궁/자궁내막 암 (UCEC)은 모든 평가가능한 종양 중에서 HLA-A LOH의 빈도가 가장 낮았다 (AML 샘플은 ABSOLUTE 데이터가 입수불가능하여 포함되지 않았음). HLA-A 유전자의 588개 결실 중, 어느 것도 유전자내 중단점을 갖지 않았다 (도 7). HLA-A 유전자의 대부분의 결실은 염색체의 많은 부분을 포함하였다 (도 8). AML 샘플의 경우 ABSOLUTE 카피 수 데이터를 이용할 수 없었지만, 이들 샘플에서의 상대 카피 수 데이터의 수동 검사에서 결실되지 않은 것으로 나타났다 (도 11).

[0569] ABSOLUTE **카피 수 데이터와 비교한 상대 카피 수 데이터의 검증:**

[0570] 본 발명자들은 공개적으로 이용가능한 것만큼 많은 종양 유형의 LOH 빈도를 획득하기 위해 노력하였다. 그러나 이들 데이터는 ABSOLUTE에 의해 처리되지 않았으며, ABSOLUTE에 의해 처리할 미가공 데이터가 공개적으로 이용가능하지 않았다. 대신, 본 발명자들은 TCGA로부터 32종의 종양 유형에 대한 상대 카피 수 데이터를 사용하였다 (도 13). 이들 데이터는 cbioportal (cbioportal.org/data_sets.jsp)로부터 다운로드되었다. 상대 카피 수 데이터는 종양 샘플의 Affymetrix SNP 6.0 어레이로부터 획득되었다.

[0571] 상대 카피 수 데이터로부터 LOH의 정확한 추정치를 획득할 수 있는지를 측정하기 위해, 본 발명자들은 ABSOLUTE로부터의 LOH 데이터를 이미 가지고 있었던 종양에 대한 상대 데이터를 사용하여 LOH의 비율을 계산하였다. 이들 데이터는 분할된 카피 수 파일로 이루어졌다. 각 부분에는 상대 카피-비가 할당된다. 카피 비는 일치된 정상 세포와 비교하여 종양에서의 신호의 밀도의 비의 로그로 정의된다 (Affymetrix 어레이). 일치된 대조군 (일반적으로 말초 혈액으로부터의 것임)으로의 정규화는 생식계열 카피-수 변이체가 실수로 체세포로 해석되는 것을 제거하는데 도움이 된다. 해당 게놈 분절의 상대 카피 수가 특정 임계값 미만인 경우, 그 분절은 게놈 상실을 겪은 것으로 일컬어진다. 예를 들어, 321번 분절의 상대 카피 수가 -0.4이고 카피-상실에 대한 임계값이 -0.3인 경우, 321번 분절은 카피-상실을 겪은 것으로 일컬어지며, 본 발명자들은 직접적인 대립유전자 정보를 갖고 있지 않기 때문에, 이는 또한 LOH를 겪은 것으로 일컬어진다.

[0572] 본 발명자들은 먼저, 상대 카피 수 분절을 표지하기 위한 최적 카피 수 한계를 LOH를 겪은 것으로서 결정하는 것을 시도하였다. LOH의 ABSOLUTE 및 상대 카피 수 추정치의 일치는 상대 카피 수에 대한 한계 -0.1에서 가장 높았다 (표 5 및 도 9). 이 임계값은 또한 TCGA Tumorscape 포털 (http://portals.broadinstitute.org/tcga/home)에서 카피-상실을 정의하기 위해 TCGA 카피 수 군에 의해 사용되는 임계값이다. 상대 데이터 대 절대 데이터에서 HLA-A LOH를 갖는 개체의 분율 사이의 상관관계는 0.55였다. 이 상당히 높은 상관관계는 본 발명자들로 하여금 이용가능한 상대 카피 수 데이터를 이용하여 모든 종양 유형의 분석을 진행할 수 있게 해주었다.

[0573] **상대 카피 수 데이터를 사용한 32종의 종양 유형 전체에 걸친 HLA-LOH 환자의 분율**

[0574] HLA-A의 LOH를 갖는 환자의 부분을 TCGA로부터 이용가능한 32개의 종양 모두에 대해 계산하였다 (도 10a; COAD 및 READ를 함께 분석함). 가장 높은 비율의 HLA-A LOH를 갖는 종양은 신장 비염색 암이었다. 가장 낮은 비율의 HLA-A LOH를 갖는 종양은 포도막 흑색종이었다 (표 6). 본 발명자들이 이 분석에서 도출한 LOH의 비율이 게놈 위치의 작은 변화에 강하다는 것을 보장하기 위해, 본 발명자들은 HLA-A의 상류 및 하류 유전자의 LOH 비율을 분석하여, 이들의 HLA-LOH의 비율이 HLA-A와 유사한지를 확인하였다. 예측한 바와 같이, 상류 및 하류 유전자인 HLA-G 및 ZNRD1 각각의 LOH의 비율은 HLA-A와 정확히 동일하였다. (도 3a 내지 3c). 이들 데이터는 HLA-A LOH 호출이 게놈 위치에서의 작은 편차에 강하다는 것을 입증한다. 다음으로, 본 발명자들은 다른 HLA 유전자들 (A,

B, C)이 HLA-A에 비해 유사한 LOH 비율을 가지고 있는지를 측정하고자 하였다. 이들 유전자는 모두 6p 염색체 상의 1.3Mb 영역에 속한다. 게놈 거리에 있어, 이는 작은 영역이다. 본 발명자들은 HLA-B 및 HLA-C에 대해 HLA-A 분석을 반복하였다. LOH의 패턴은 분석된 32개의 종양 전체에 걸쳐 3개의 HLA 유전자 모두에서 거의 동일하였다 (도 10a 내지 도 10c).

[0575] **HLA-A LOH 비율에 대한 선택 압력의 추가**

[0576] 종양내 게놈 이형접합성은 지금까지 분석된 거의 모든 인간 암의 최근 이해된 특징이다[2, 3]. 종양 세포의 일부에만 존재하는 유전자 변경을 표적화한 요법은 상기 변경을 보유한 종양 세포에만 영향을 미칠 수 있다. 종양 세포에 존재하지 않는 항원을 표적화하는 iCAR 전략은, 항원이 클론적으로 결실되지 않은 경우, 일부 종양 세포를 aCAR 공격으로부터 보호할 수 있다. 따라서, 본 발명자들은 HLA 유전자가 클론 LOH를 겪을 가능성이 있는 종양을 식별하고자 하였다. 진화 초기에 발생하는 LOH는 종양 개시 및/또는 유지의 선택적 힘에 의해 유발될 가능성이 있다. 따라서 본 발명자들은 3가지 방법으로 6번 염색체 (HLA 유전자좌를 보유함) 상의 종양 억제제를 찾아보았다. 먼저, 본 발명자들은 평가된 각각의 종양 유형에서 6번 염색체에서 현저하게 돌연변이된 유전자를 찾아보았다[4]. 스프레드시트는 "chr6_mutsig_sig_genes" 열에 6번 염색체 상의 현저한 돌연변이를 가진 유전자를 보고하고 있다.

[0577] 둘째로, 본 발명자들은 결실된 종양 억제제를 의미할 가능성이 있는 현저하게 결실된 유전자의 영역을 찾아보았다. 이들 데이터에 대해 GISTIC2.0 실행 결과를 사용하였다. 스프레드시트는 6번 염색체 상의 GISTIC 결실 피크 수 (q<0.25)와 이들 결실 피크의 최저 q-값을 보고하고 있다. 일반적으로 GISTIC 결실 피크가 많고 q-값이 낮을수록 선택 압력이 강하다. 그러나, 하나의 매우 강한 GISTIC 피크가 우세하고 피크 수가 적은 시나리오를 갖는 것도 가능하지만, 유발자의 유의성은 확실하다. 일반적으로, 최저 q-값은 특정 염색체 상의 종양 억제자 유발자 존재의 가장 강한 상관물이어야 한다.

[0578] 셋째로, 본 발명자들은 각각의 종양에서 현저하게 돌연변이된 유전자 세트를 공지된 종양 억제 유전자 목록과 중첩시켜 상기 돌연변이된 유전자 중 임의의 것이 6번 염색체의 상실을 유발할 가능성이 있는지를 확인였다[5]. 본 발명자들은 가능한 돌연변이 유발자를 갖는 2종의 종양 유형을 식별할 수 있었다. 부신피질 암종에서, DAXX 유전자가 현저하게 돌연변이되었고 (q=.0571), 확산성 거대 B 세포 림프종에서는 TNFAIP3 유전자가 현저하게 돌연변이되었다 (q=0.00278). DAXX는 히스톤 샤페론을 암호화하며, 그의 돌연변이는 부신피질 암종에서의 더 긴 텔로미어와 관련이 있다[6]. TNFAIP3는 NF-카파B 신호전달의 음성 조절인자를 암호화한다. 따라서 DLBCL에서 발생하는 이 유전자의 돌연변이는 NF-카파B의 신호전달을 증가시키는 것으로 나타났다[7].

표 3

표 3. LOH 에 대해 분석된 게놈 유전자좌. 게놈 좌표는 hg19 인간 게놈 어셈블리 내의 것이다.

[0579]

유전자	단백질	염색체	시작 위치	종료 위치	RNA 발현 (RPKM)
HLA-A	HLA-A	6	29941260	29945884	226.6
HLA-B	HLA-B	6	31353872	31357188	422.4
HLA-C	HLA-C	6	31268749	31272130	193.4

표 4

표 4. ABSOLUTE 데이터와 종양 유형

질환명	TCGA 약어	샘플 수	ABSOLUTE 완료한 샘플 수
방광 요로상피세포 암종	BLCA	138	90
유방 침습성 암종	BRCA	880	750
결장 선암종	COAD	422	349
다형 교모세포종	GBM	580	485
두경부 편평 세포 암종	HNSC	310	270
신장 투명 세포 암종	KIRC	497	373
급성 골수성 백혈병	LAML	200	0
폐 선암종	LUAD	357	292
폐 편평 세포 암종	LUSC	344	261
난소 장액 낭선암종	OV	567	457
직장 선암종	READ	164	147
자궁 체부 자궁내막 암종	UCEC	498	378

[0580]

표 5

표 5. ABSOLUTE 카피 수 데이터에 대비한 상대 카피 수 데이터에 의한 LOH 비율의 상관관계 (피어슨 (Pearson)). -0.1 의 임계값에 대한 상관관계 피크.

결실 임계값	상관관계 (r^2)
0	0.01
-0.05	0.49
-0.1	0.55
-0.15	0.53
-0.2	0.46
-0.25	0.44
-0.3	0.21
-0.35	0.10
-0.4	0.07
-0.45	0.09
-0.5	0.08

[0581]

표 6

표 6. TCGA 데이터 세트에서 32 개의 모든 암에 대한 LOH 의 비율 및 수.

TCGA 약어	총 샘플 (n)	LOH 를 갖는 수 (n)	LOH 를 갖는 부분
KICH	66	57	0.863636364
ACC	90	46	0.511111111
PAAD	184	51	0.277173913
KIRP	288	73	0.253472222
LUSC	501	124	0.24750499
SARC	257	63	0.245136187
ESCA	184	45	0.244565217
KIRC	528	98	0.185606061
BLCA	408	73	0.178921569
OV	579	96	0.165803109
THYM	123	20	0.162601626
HNSC	522	81	0.155172414
CESC	295	45	0.152542373
STAD	441	66	0.149659864
BRCA	1080	159	0.147222222
DLBC	48	7	0.145833333
LUAD	516	65	0.125968992
COADREAD	616	77	0.125
GBM	577	72	0.124783362
TGCT	150	18	0.12
CHOL	36	4	0.111111111
MESO	87	9	0.103448276
UCS	56	5	0.089285714
UCEC	539	31	0.057513915
LGG	513	24	0.046783626
PRAD	492	19	0.038617886
SKCM	104	4	0.038461538
LIHC	370	14	0.037837838
PCPG	162	3	0.018518519
THCA	499	9	0.018036072
UVM	80	0	0
LAML	0	0	NA

[0582]

[0583] 상기에 근거하여, 본 발명자들은 HLA 영역 LOH가 많은 종양에서 보편적인 사건이지만 LOH의 백분율은 종양 유형에 따라 다른 것으로 결론지었다. 따라서, HLA 유전자는 iCAR 표적에 대한 양호한 후보이다.

[0584] **실시예 1에 대한 참고문헌:**

[0585] 1. Zack TI, Schumacher SE, Carter SL, Cherniack AD, Saksena G, Tabak B, Lawrence MS, Zhsng CZ, Wala J, Mermel CH, Sougnez C, Gabriel SB, Hernandez B, Shen H, Laird PW, Getz G, Meyerson M, Beroukhim R. Pan-cancer patterns of somatic copy number alteration. *Nature genetics*. 2013;45:1134-1140

[0586] 2. Gibson WJ, Hoivik EA, Halle MK, Taylor-Weiner A, Cherniack AD, Berg A, Holst F, Zack TI, Werner HM, Staby KM, Rosenberg M, Stefansson IM, Kusonmano K, Chevalier A, Mauland KK, Trovik J, Krakstad C, Giannakis M, Hodis E, Woie K, Bjorge L, Vintermyr OK, Wala JA, Lawrence MS, Getz G, Carter SL, Beroukhim R, Salvesen HB. The genomic landscape and evolution of endometrial carcinoma progression and abdominopelvic metastasis. *Nature genetics*. 2016;48:848-855

[0587] 3. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, Martinez P, Matthews N, Stewart A, Tarpey P, Varela I, Phillimore B, Begum S, McDonald NQ, Butler A, Jones D, Raine K, Latimer C, Santos CR, Nohadani M, Eklund AC, Spencer-Dene B, Clark G, Pickering L, Stamp G,

Gore M, Szallasi Z, Downward J, Futreal PA, Swanton C. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *The New England journal of medicine*. 2012;366:883-892

[0588] 4. Lawrence MS, Stojanov P, Mermel CH, Robinson JT, Garraway LA, Golub TR, Meyerson M, Gabriel SB, Lander ES, Getz G. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature*. 2014;505:495-501

[0589] 5. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Jr., Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013;339:1546-1558

[0590] 6. Zheng S, Cherniack AD, Dewal N, Moffitt RA, Danilova L, Murray BA, Lerario AM, Else T, Knijnenburg TA, Ciriello G, Kim S, Assie G, Morozova O, Akbani R, Shih J, Hoadley KA, Choueiri TK, Waldmann J, Mete O, Robertson AG, Wu HT, Raphael BJ, Shao L, Meyerson M, Demeure MJ, Beuschlein F, Gill AJ, Sidhu SB, Almeida MQ, Fragoso M, Cope LM, Kebebew E, Habra MA, Whitsett TG, Bussey KJ, Rainey WE, Asa SL, Bertherat J, Fassnacht M, Wheeler DA, Cancer Genome Atlas Research N, Hammer GD, Giordano TJ, Verhaak RGW. Comprehensive pan-genomic characterization of adrenocortical carcinoma. *Cancer cell*. 2016;29:723-736

[0591] 7. Compagno M, Lim WK, Grunn A, Nandula SV, Brahmachary M, Shen Q, Bertoni F, Ponzoni M, Scandurra M, Califano A, Bhagat G, Chadburn A, Dalla-Favera R, Pasqualucci L. Mutations of multiple genes cause deregulation of nf-kappab in diffuse large b-cell lymphoma. *Nature*. 2009;459:717-721

[0592] **실시예 2. 이형접합성 상실을 겪는 발현된 세포-표면 단백질을 암호화하는 생식계열 대립유전자의 전장 게놈 식별**

[0593] **서론:**

[0594] 상기 iCAR의 표적이 비종양 조직에 의해서만 발현되는 경우, 억제성-CAR-T 세포는 항종양 효능을 감소시키지 않으면서 CAR-T 요법의 종양-외 독성을 감소시킬 수 있다. iCAR 표적이 비종양 세포에 의해서만 발현되는 이러한 시나리오 중 하나는 iCAR 항원이, 종양 세포에서 결실된 게놈의 일부에 의해 암호화되는 경우이다. 이 워크플로우 섹션의 목표는 이러한 대립유전자를 식별하는 것이다.

[0595] **대립유전자 식별:**

[0596] 본 발명자들은 진유전체 통합 컨소시엄 (Exome Aggregation Consortium (ExAC)) 데이터베이스를 분석의 입력으로 사용하였다 (exac.broadinstitute.org). ExAC 데이터베이스는 다양한 집단-수준 시퀀싱 연구로부터의 총 60,706개의 진유전체를 모은 것이다[1]. ExAC는 대체 대립유전자와 비교한 기준 대립유전자의 수 (대립유전자 빈도)를 비롯한 각각의 변이체에 대한 정보를 포함한다. 대립유전자 빈도 정보는 표 7에 설명된 바와 같이 데이터베이스 내의 소집단으로 확장된다.

표 7

표 7. ExAC 데이터베이스 내의 소집단. 참고: 게놈의 모든 위치가 이 표의 모든 개체가 대표되도록 충분한 범위의 진유전체를 포함하지는 않는다. 출처: http://exac.broadinstitute.org/faq.

[0597]

집단 혈통	집단 약어	개체 수
아프리카인	AFR	5,203
라틴계	AMR	5,789
동아시아인	EAS	4,327
핀란드인	FIN	3,307
비-핀란드인 유럽인	NFE	33,370
남아시아인	SAS	8,256
기타	OTH	454

[0598] ExAC 데이터베이스로부터의 변이체에 다음 필터를 적용하였다: i) 변이체는 암호화된 단백질의 아미노산 조성에

영향을 미쳐야 한다; ii) 변이체는 표 6의 집단 중 적어도 하나에서 0.05 (5%) 초과의 부수적 대립유전자 빈도를 가져야 한다. 분석은, 부수적 대립유전자가 0.5 (50%) 초과의 대립유전자 분율을 가진 시나리오에 대해 보정되었다. 한 부위에서 3개 초과의 대립유전자가 관찰된 경우, 가장 일반적인 치환이 사용되었다 (이들 부위는 종종 시퀀싱 오류 부위이므로 주의해서 해석해야 한다).

[0599] SNP 중 임의의 것이 다음의 변이체 계열 중 임의의 것을 생산한 경우, SNP가 단백질의 구성에 영향을 미치는 것으로 간주되었다: 'missense_variant', 'inframe_deletion', 'start_lost','stop_gained', 'inframe_insertion', 'stop_retained_variant', 'frameshift_variant', 'stop_lost', 'coding_sequence_variant', 'protein_altering_variant'.

[0600] 분석은 9,362,319개의 변이체로 시작하였고 29,904개의 변이체가 이들 두 필터를 통과하였다. 이들 변이체는 10,302개의 유전자에 속한다. 이들 두 필터와 매칭되는 모든 대립유전자가 분석에 포함되었다.

[0601] **발현된 유전자의 식별:**

[0602] 본 발명자들은 다양한 조직 유형에서 발현되는 유전자의 식별을 위해 유전자형-조직 발현 (Genotype-Tissue Expression (GTEX)) 데이터베이스 v6p (dbGaP Accession phs000424.v6.p1)를 사용하였다 (https://gtexportal.org/home/)[2]. GTEX 데이터베이스는 다양한 건강한 조직 유형의 8,555개 인간 샘플에 대한 RNA-시퀀싱으로 이루어져 있다. 이 데이터베이스로부터 여러 주석을 획득하였다. 먼저, 본 발명자들은 모든 조직에 걸쳐 각각의 유전자의 평균 발현을 측정하였다. 각각의 유전자에 대한 평균 발현은 조직 당 중간값 발현 데이터를 취하고 조직 전체에 대해 이들 값의 평균을 계산함으로써 계산되었다. 이들 데이터는 https://gtexportal.org/home/datasets에서 이용가능한 GTEx_Analysis_v6p_RNA-seq_RNA-SeQCv1.1.8_gene_median_rpkm.gct 파일에서 획득하였다.

[0603] 각각의 종양 유형에 상응하는 각각의 유전자의 평균 발현도 포함되었다. 이들 데이터를 얻기 위해, 본 발명자들은 종양 유형을 상응하는 정상 조직에 매핑하였다. 예를 들어, 췌장암 TCGA 데이터는 GTEX의 췌장 조직으로 주석이 표시될 것이다. 일부 경우에서, 상기 매핑은 더 근사치였다. 예를 들어, 교모세포종 발현 데이터는 GTEX에서 뇌로 주석이 표시된 모든 조직으로부터 매핑되었다. 이들 매핑을 포함하는 표 (제목: tcga_disease_tissue_lookup.txt)를 첨부하였다. 각각의 조직/종양 유형에서의 각각의 유전자의 동종성 또는 과발현을 평가하기 위해 여러 측정값이 계산되었다. 각각의 종양 유형에 대해, 유전자의 가능한 과발현을 확립하기 위해 코헨의 D 점수를 계산하였다. 특정 조직에서 과발현되는 유전자는 양호한 aCAR 표적일 가능성이 높다. 반대로, 본 발명자들은 조직 전체에 걸친 유전자 발현의 표준 편차를 측정하고 이것을 모든 조직에 걸친 평균 발현과 비교하였다. 이 비가 낮은 경우, 해당 유전자는 모든 조직에 걸쳐 균일하게 발현된다. 모든 조직에 걸쳐 균일한 발현을 갖는 유전자가 더 양호한 iCAR 표적일 가능성이 높다.

[0604] 유전자가 다음 기준을 충족하는 경우 "보편적으로 발현된" 것으로 지칭된다: (i) 조직 전체에 걸친 평균 발현이 10 RPKM 초과이다. (ii) 발현이 가장 적은 조직이 1 초과의 RPKM을 가졌다. (iii) 평균 RPKM과 비교하여 조직 전체에 걸친 중간값 RPKM의 표준 편차의 비가 1 미만이었다. 1,092개의 유전자만이 보편적으로 발현된 것으로 주석이 표시되었다.

[0605] 후보는 UniProt 주석만을 기초로 하여 선택되었다. 막횡단 단백질의 경우, 일반적으로 세포외 단백질의 분절에 대한 명확한 예측이 존재한다.

[0606] **표 8**은 염색체 위치에 따라 분류된 세포외 다형성 에피토프를 갖는 상기 방법에 의해 식별된 1167개의 양호한 후보 유전자의 목록을 제시한다.

[0607] **대립유전자의 주석**

[0608] **단백질 기능에 대한 대립유전자의 영향:**

[0609] iCAR이 막 단백질의 하나의 대립유전자를 상실한 암 세포만을 효과적으로 인식하기 위해서는, 어느 대립유전자가 암호화되는지에 따라 그 단백질의 구조가 충분히 상이해야 한다. 생성된 단백질에 대한 각각의 SNP의 효과를 정량하기 위해 몇 가지 측정이 수행되었다. 먼저, 보고된 SNP 변이체 유형 (예를 들어, 미스센스, 넌센스)가 '결과' 열에 보고되었다. 공통 단백질 번역에 대한 효과는 'protein_consequence' (예를 들어 p.Arg482Gln) 열에 포함되었다. SIFT 알고리즘은 단백질 변이체가 단백질 구조에 영향을 미쳐 기능할지 여부를 예측하고자 한다[6]. 점수는 0 (유해) 내지 1 (양성)의 범위일 수 있다. SIFT 점수 (sift5.2.2 버전)는 점수가 이용가능한 모든

SNP에 대해 포함되었다. 예를 들어 프레임시프트 돌연변이에 대해서는 점수가 이용가능하지 않았다. 변이체가 단백질 구조 및 기능에 영향을 줄 수 있는 가능성을 예측하기 위해 PolyPhen (v2.2.2)이 또한 사용되었다. Polyphen 알고리즘은 SIFT와 반대 방식으로 점수를 보고하며, 점수 0은 양성에 해당하고 점수 1은 유해에 해당한다.

[0610] 아미노산 치환이 구조적 변화를 유도할 가능성에 대한 하나의 전형적인 척도는 BLOSUM62 치환 매트릭스를 사용하는 것이다. 본 발명자들은 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62로부터 BLOSUM62 매트릭스를 다운로드하였다. 각각의 SNP는 그의 치환에 상응하는 BLOSUM62 점수로 주석이 표시되었다.

[0611] **단백질의 세포외 부분에 속하는 대립유전자의 분류:**

[0612] iCAR이 대립유전자를 인식하기 위해서는, 상기 대립유전자가 단백질의 세포외 부분에 속해야 한다. 각각의 SNP에 대해, 본 발명자들은 공통 번역에서 영향을 받은 아미노산의 위치를 추출하고, 이것을 Uniprot 데이터베이스로부터의 세포외로 주석이 표시된 도메인과 비교하였다. Uniprot 데이터베이스는 www.uniprot.org/downloads로부터 다운로드하였다. 모든 단백질의 도메인에 대한 특성화 결여로 인해 많은 거짓 음성이 가능하다. 1167개 유전자의 총 3288개의 SNP가 세포외로 주석이 표시되었다 (표 8).

[0613] **SNP의 펩티드 컨텍스트의 주석:**

[0614] 분석된 대립유전자의 펩티드 컨텍스트는 이들 서열을 인식하는 항체를 생성하려고 할 때 중요할 가능성이 있다. 본 발명자들은 SNP에 의해 암호화되는 아미노산을 선행하며 플랭킹되는 10개의 아미노산을 참조로 포함한다 (총 21개의 아미노산 서열). 공통 아미노산 서열에 대해 uniprot 데이터베이스를 사용하였다. 본 발명자들은, 잘못된 서열을 포함하지 않도록 하기 위해, uniprot 데이터베이스 서열이 예측된 위치에서 SNP에 의해 암호화되는 아미노산과 일치하지 않은 임의의 충돌을 주석 표시하였다. 이들 21개의 아미노산 서열은 Bepipred와 같은 B-세포 에피토프 예측 프로그램에 대한 입력으로서 유용할 수 있다.

[0615] **암-특이적 주석:**

[0616] **LOH를 겪는 종양의 비율**

[0617] 제안된 요법으로부터 혜택을 받을 수 있는 종양을 갖는 환자를 찾기 위해서는, iCAR 표적이 많은 양의 종양에서 이형접합성 (LOH) 상실을 겪는 SNP이어야 할 것이다. 분절 카피 수 파일을 cbio 암 게놈학 포털 http://www.cbioportal.org/에서 다운로드하였다[8]. 예로서, 모든 SNP에 대해 LOH를 겪는 포도막 흑색종 종양의 비율을 도 12에 도시하였다.

[0618] **후보 SNP를 보유한 염색체 상의 잠재적인 유발자 변경**

[0619] 게놈 표적 요법의 가능한 내성 메커니즘 중 하나는 의도된 게놈 변경 중 하나가 암 세포의 일부에만 존재하는 경우이다. 종양 발생의 가장 초기 단계에 존재할 가능성이 있는 표적을 식별하려고 시도하는 메커니즘 하나는 각각의 종양에 대한 유발자 사건을 식별하는 것이다. 종양 억제 유전자 불활성화의 가장 빈번한 메커니즘은 돌연변이되지 않은 염색체의 돌연변이 및 후속 LOH이다. 본 발명자들은 각각의 종양 유형에서 이 과정을 겪을 가능성이 있는 유발자 유전자, 특히 종양 억제 유전자 (TSG)를 찾기 위해 시도하였다. 본 발명자들은 이 분석에서의 모든 종양에 대한 MUTSIG 2.0 실행 결과를 사용하여 각각의 종양 유형에서 현저하게 돌연변이된 유전자를 식별하였다. 본 발명자들은 현저하게 돌연변이된 유전자 중 하나가 TP53, PTEN, APC, MLL3, MLL2, VHL, CDKN2A, RB1을 비롯한 "홀마크" 종양 억제 유전자의 목록에 포함되어 있는지 여부에 주석을 표시하였다. 마지막으로, 유발자 유전자, TSG 및 "홀마크" TSG의 목록은, 이들이 SNP와 동일한 염색체에 속하는 경우, SNP에 주석이 표시되었다.

[0620] 후속적으로 LOH를 겪는 유발자 유전자의 돌연변이는 종양 진화 초기에 발생하기 쉬운 사건을 표시할 수 있는 하나의 메커니즘이고, 종양 억제 유전자를 포함하는 게놈 분절의 초점 결손은 또 다른 메커니즘이다. 본 발명자들은 GISTIC 알고리즘을 사용하여 평균보다 높은 비율로 게놈 결실을 겪는 DNA 영역을 식별하였다. GISTIC 알고리즘은 이들 영역에서 음의 선택적 압력을 나타내는 염색체 아암을 따라 통계적 유의성의 "피크"를 식별한다. 각각의 SNP에 대해, 본 발명자들은 SNP가 속한 염색체 상의 결실 피크 수를 기록하였다. 본 발명자들은 또한 이들 피크 중 임의의 것의 최저 q-값을 기록하였다. q-값이 낮을수록 선택 압력이 강함을 암시한다.

[0621] **후보 SNP 순위를 매기기 위한 누적 점수:**

[0622] 후보 SNP에 대한 연속적인 "점수"를 제공하기 위해, 본 발명자들은 더 양호한 SNP 후보와 관련이 있는 몇 가지 상이한 메트릭을 조합하였다. 점수는 다음 중 각각의 백분위 점수의 곱으로 이루어진다:1. 해당 SNP에서 LOH를 갖는 종양의 비율 (높을수록 양호함) 2. 대립유전자의 유병률 (높을수록 양호함) 3. 조직 전체에 걸친 발현 값의 표준 편차 대 중간값의 비 (낮을수록 양호하고, 더 일관성이 있음) 4. 염색체에 종양 억제 유전자가 존재하는지 여부 (갖는 것이 갖지 않는 것보다 더 좋음).

[0623] 설명을 위해, 이론적 SNP의 점수를 계산한다. SNP의 32%만이 염색체에 종양 억제 유전자를 갖는 경우, 이를 갖는 것에 대한 백분위 점수는 0.68일 것이다. 대립유전자가 0.49의 부수적 대립유전자 분율 (여기서 0.5가 가능한 최고 값임)을 갖는 경우, 백분위 점수는 0.99일 것이다. LOH의 비율이 0.10이고 SNP의 75%가 이보다 많은 LOH를 가진 경우, 백분위 점수는 0.25일 것이다. 이 SNP를 보유하는 유전자에 대해 중간값에 대한 조직 전체에 걸친 발현 값의 표준 편차의 비가 1.3이고, 이것이 다른 유전자의 90%보다 우수한 경우, 백분위 점수는 0.9이다. 이 경우 이 SNP의 총점은 0.68*0.99*0.25*0.9=0.15일 것이다.

[0624] 0.4 초과의 점수를 갖는 SNP는 "탑 히트 (top-hit)"로 간주되었다.

표 8

표 8. 예시적인 iCAR 표적

Chr. No.	유전자
1	ABCA4
1	ADAM30
1	ASTN1
1	C1orf101
1	CACNA1S
1	CATSPER4
1	CD101
1	CD164L2
1	CD1A
1	CD1C
1	CD244
1	CD34
1	CELSR2
1	CHRNB2
1	CLCA2
1	CLSTN1
1	CR1
1	CR2
1	CRB1
1	CSF3R
1	CSMD2
1	ECE1
1	ELTD1
1	EMC1
1	EPHA10
1	EPHA2
1	ERMAP
1	FCAMR
1	FCER1A
1	FCGR1B
1	FCGR2A
1	FCGR2B
1	FCGR3A
1	FCRL1
1	FCRL3
1	FCRL4
1	FCRL5
1	FCRL6

[0625]

1 GJB4
1 GPA33
1 GPR157
1 GPR37L1
1 GPR88
1 HCRTR1
1 IGSF3
1 IGSF9
1 IL22RA1
1 ITGA10
1 KIAA1324
1 KIAA2013
1 LDLRAD2
1 LEPR
1 LRIG2
1 LRP8
1 LRRC52
1 LRRC8B
1 LRRN2
1 LY9
1 MR1
1 MUC1
1 MXRA8
1 NCSTN
1 NFASC
1 NOTCH2
1 NPR1
1 NTRK1
1 OPN3
1 OR10J1
1 OR10J4
1 OR10K1
1 OR10R2
1 OR10T2
1 OR10X1
1 OR11L1
1 OR14A16
1 OR14I1
1 OR14K1
1 OR2AK2
1 OR2C3
[0626] 1 OR2G2

1 OR2G3
1 OR2L2
1 OR2M7
1 OR2T1
1 OR2T12
1 OR2T27
1 OR2T29
1 OR2T3
1 OR2T33
1 OR2T34
1 OR2T35
1 OR2T4
1 OR2T5
1 OR2T6
1 OR2T7
1 OR2T8
1 OR2W3
1 OR6F1
1 OR6K2
1 OR6K3
1 OR6K6
1 OR6N1
1 OR6P1
1 OR6Y1
1 PEAR1
1 PIGR
1 PLXNA2
1 PTCH2
1 PTCHD2
1 PTGFRN
1 PTPRC
1 PTPRF
1 PVRL4
1 RXFP4
1 S1PR1
1 SCNN1D
1 SDC3
1 SELE
1 SELL
1 SELP
1 SEMA4A
[0627] 1 SEMA6C

1 SLAMF7
1 SLAMF9
1 SLC2A7
1 SLC5A9
1 TACSTD2
1 TAS1R2
1 TIE1
1 TLR5
1 TMEM81
1 TNFRSF14
1 TNFRSF1B
1 TRABD2B
1 USH2A
1 VCAM1
1 ZP4
2 ABCG5
2 ALK
2 ASPRV1
2 ATRAID
2 CD207
2 CHRNG
2 CLEC4F
2 CNTNAP5
2 CRIM1
2 CXCR1
2 DNER
2 DPP10
2 EDAR
2 EPCAM
2 GPR113
2 GPR148
2 GPR35
2 GPR39
2 IL1RL1
2 ITGA4
2 ITGA6
2 ITGAV
2 LCT
2 LHCGR
2 LRP1B
2 LRP2
2 LY75

[0628]

2 MARCO
2 MERTK
2 NRP2
2 OR6B2
2 PLA2R1
2 PLB1
2 PROKR1
2 PROM2
2 SCN7A
2 SDC1
2 TGOLN2
2 THSD7B
2 TMEFF2
2 TMEM178A
2 TPO
2 TRABD2A
3 ACKR2
3 ALCAM
3 ANO10
3 ATP13A4
3 CACNA1D
3 CACNA2D2
3 CACNA2D3
3 CASR
3 CCRL2
3 CD200
3 CD200R1
3 CD86
3 CD96
3 CDCP1
3 CDHR4
3 CELSR3
3 CHL1
3 CLDN11
3 CLDN18
3 CLSTN2
3 CSPG5
3 CX3CR1
3 CXCR6
3 DCBLD2
3 DRD3
3 EPHB3

[0629]

3 GABRR3
3 GP5
3 GPR128
3 GPR15
3 GPR27
3 GRM2
3 GRM7
3 HEG1
3 HTR3C
3 HTR3D
3 HTR3E
3 IGSF11
3 IL17RC
3 IL17RD
3 IL17RE
3 IL5RA
3 IMPG2
3 ITGA9
3 ITGB5
3 KCNMB3
3 LRIG1
3 LRRC15
3 LRRN1
3 MST1R
3 NAALADL2
3 NRROS
3 OR5AC1
3 OR5H1
3 OR5H14
3 OR5H15
3 OR5H6
3 OR5K2
3 OR5K3
3 OR5K4
3 PLXNB1
3 PLXND1
3 PRRT3
3 PTPRG
3 ROBO2
3 RYK
3 SEMA5B
3 SIDT1

[0630]

3 SLC22A14
3 SLC33A1
3 SLC4A7
3 SLITRK3
3 STAB1
3 SUSD5
3 TFRC
3 TLR9
3 TMEM44
3 TMPRSS7
3 TNFSF10
3 UPK1B
3 VIPR1
3 ZPLD1
4 ANTXR2
4 BTC
4 CNGA1
4 CORIN
4 EGF
4 EMCN
4 ENPEP
4 EPHA5
4 ERVMER34-1
4 EVC2
4 FAT1
4 FAT4
4 FGFRL1
4 FRAS1
4 GPR125
4 GRID2
4 GYPA
4 GYPB
4 KDR
4 KIAA0922
4 KLB
4 MFSD8
4 PARM1
4 PDGFRA
4 RNF150
4 TENM3
4 TLR1
4 TLR10

[0631]

4 TLR6
4 TMEM156
4 TMPRSS11A
4 TMPRSS11B
4 TMPRSS11E
4 TMPRSS11F
4 UNC5C
5 ADAM19
5 ADRB2
5 BTNL3
5 BTNL8
5 BTNL9
5 C5orf15
5 CATSPER3
5 CD180
5 CDH12
5 CDHR2
5 COL23A1
5 CSF1R
5 F2RL2
5 FAM174A
5 FAT2
5 FGFR4
5 FLT4
5 GABRA6
5 GABRG2
5 GPR151
5 GPR98
5 GRM6
5 HAVCR1
5 HAVCR2
5 IL31RA
5 IL6ST
5 IL7R
5 ITGA1
5 ITGA2
5 KCNMB1
5 LIFR
5 LNPEP
5 MEGF10
5 NIPAL4
5 OR2V1

[0632]

5 OR2Y1
5 OSMR
5 PCDH1
5 PCDH12
5 PCDHA1
5 PCDHA2
5 PCDHA4
5 PCDHA8
5 PCDHA9
5 PCDHB10
5 PCDHB11
5 PCDHB13
5 PCDHB14
5 PCDHB15
5 PCDHB16
5 PCDHB2
5 PCDHB3
5 PCDHB4
5 PCDHB5
5 PCDHB6
5 PCDHGA1
5 PCDHGA4
5 PDGFRB
5 PRLR
5 SEMA5A
5 SEMA6A
5 SGCD
5 SLC1A3
5 SLC22A4
5 SLC22A5
5 SLC36A3
5 SLC6A18
5 SLC6A19
5 SLCO6A1
5 SV2C
5 TENM2
5 TIMD4
5 UGT3A1
6 BAI3
6 BTN1A1
6 BTN2A1
[0633] 6 BTN2A2

6 BTN3A2
6 BTNL2
6 CD83
6 DCBLD1
6 DLL1
6 DPCR1
6 ENPP1
6 ENPP3
6 ENPP4
6 EPHA7
6 GABBR1
6 GABRR1
6 GCNT6
6 GFRAL
6 GJB7
6 GLP1R
6 GPR110
6 GPR111
6 GPR116
6 GPR126
6 GPR63
6 GPRC6A
6 HFE
6 HLA-A
6 HLA-B
6 HLA-C
6 HLA-DPA1
6 HLA-DPB1
6 HLA-DQA1
6 HLA-DQA2
6 HLA-DQB1
6 HLA-DQB2
6 HLA-DRB1
6 HLA-DRB5
6 HLA-E
6 HLA-F
6 HLA-G
6 IL20RA
6 ITPR3
6 KIAA0319
6 LMBRD1
[0634] 6 LRFN2

6 LRP11
6 MAS1L
6 MEP1A
6 MICA
6 MICB
6 MUC21
6 MUC22
6 NCR2
6 NOTCH4
6 OPRM1
6 OR10C1
6 OR12D2
6 OR12D3
6 OR14J1
6 OR2B2
6 OR2B6
6 OR2J1
6 OR2W1
6 OR5V1
6 PKHD1
6 PTCRA
6 RAET1E
6 RAET1G
6 ROS1
6 SDIM1
6 SLC22A1
6 SLC44A4
6 TAAR2
6 TREM1
6 TREML1
6 TREML2
7 AQP1
7 CD36
7 CDHR3
7 CNTNAP2
7 DPP6
7 EGFR
7 EPHA1
7 EPHB6
7 ERVW-1
7 GHRHR
7 GJC3

[0635]

7 GPNMB
7 GRM8
7 HYAL4
7 KIAA1324L
7 LRRN3
7 MET
7 MUC12
7 MUC17
7 NPC1L1
7 NPSR1
7 OR2A12
7 OR2A14
7 OR2A2
7 OR2A25
7 OR2A42
7 OR2A7
7 OR2AE1
7 OR2F2
7 OR6V1
7 PILRA
7 PKD1L1
7 PLXNA4
7 PODXL
7 PTPRN2
7 PTPRZ1
7 RAMP3
7 SLC29A4
7 SMO
7 TAS2R16
7 TAS2R4
7 TAS2R40
7 TFR2
7 THSD7A
7 TMEM213
7 TTYH3
7 ZAN
7 ZP3
8 ADAM18
8 ADAM28
8 ADAM32
8 ADAM7
8 ADAM9

[0636]

8 CDH17
8 CHRNA2
8 CSMD1
8 CSMD3
8 DCSTAMP
8 FZD6
8 GPR124
8 NRG1
8 OR4F21
8 PKHD1L1
8 PRSS55
8 SCARA3
8 SCARA5
8 SDC2
8 SLC10A5
8 SLC39A14
8 SLC39A4
8 SLCO5A1
8 TNFRSF10A
8 TNFRSF10B
9 ABCA1
9 AQP7
9 C9orf135
9 CA9
9 CD72
9 CNTNAP3
9 CNTNAP3B
9 ENTPD8
9 GPR144
9 GRIN3A
9 IZUMO3
9 KIAA1161
9 MAMDC4
9 MEGF9
9 MUSK
9 NOTCH1
9 OR13C2
9 OR13C3
9 OR13C5
9 OR13C8
9 OR13C9
9 OR13D1

[0637]

9 OR13F1
9 OR1B1
9 OR1J2
9 OR1K1
9 OR1L1
9 OR1L3
9 OR1L6
9 OR1L8
9 OR1N1
9 OR1N2
9 OR1Q1
9 OR2S2
9 PCSK5
9 PLGRKT
9 PTPRD
9 ROR2
9 SEMA4D
9 SLC31A1
9 TEK
9 TLR4
9 TMEM2
9 VLDLR
10 ABCC2
10 ADAM8
10 ADRB1
10 ANTXRL
10 ATRNL1
10 C10orf54
10 CDH23
10 CDHR1
10 CNNM2
10 COL13A1
10 COL17A1
10 ENTPD1
10 FGFR2
10 FZD8
10 GPR158
10 GRID1
10 IL15RA
10 IL2RA
10 ITGA8
10 ITGB1

[0638]

10 MRC1
10 NPFFR1
10 NRP1
10 OPN4
10 PCDH15
10 PKD2L1
10 PLXDC2
10 PRLHR
10 RGR
10 SLC29A3
10 SLC39A12
10 TACR2
10 TCTN3
10 TSPAN15
10 UNC5B
10 VSTM4
11 AMICA1
11 ANO3
11 APLP2
11 C11orf24
11 CCKBR
11 CD248
11 CD44
11 CD5
11 CD6
11 CDON
11 CLMP
11 CRTAM
11 DCHS1
11 DSCAML1
11 FAT3
11 FOLH1
11 GDPD4
11 GDPD5
11 GRIK4
11 HEPHL1
11 HTR3B
11 IFITM10
11 IL10RA
11 KIRREL3
11 LGR4
11 LRP4

[0639]

11 LRP5
11 LRRC32
11 MCAM
11 MFRP
11 MPEG1
11 MRGPRE
11 MRGPRF
11 MRGPRG
11 MRGPRX2
11 MRGPRX3
11 MRGPRX4
11 MS4A4A
11 MTNR1B
11 MUC15
11 NAALAD2
11 NAALADL1
11 NCAM1
11 NRXN2
11 OR10A2
11 OR10A5
11 OR10A6
11 OR10D3
11 OR10G4
11 OR10G7
11 OR10G8
11 OR10G9
11 OR10Q1
11 OR10S1
11 OR1S1
11 OR2AG1
11 OR2AG2
11 OR2D2
11 OR4A15
11 OR4A47
11 OR4A5
11 OR4A8P
11 OR4C11
11 OR4C13
11 OR4C15
11 OR4C16
11 OR4C3
11 OR4C46

[0640]

11 OR4C5
11 OR4D6
11 OR4D9
11 OR4S2
11 OR4X1
11 OR51E1
11 OR51L1
11 OR52A1
11 OR52E1
11 OR52E2
11 OR52E4
11 OR52E6
11 OR52I1
11 OR52I2
11 OR52J3
11 OR52L1
11 OR52N1
11 OR52N2
11 OR52N4
11 OR52W1
11 OR56B1
11 OR56B4
11 OR5A1
11 OR5A2
11 OR5AK2
11 OR5AR1
11 OR5B17
11 OR5B3
11 OR5D14
11 OR5D16
11 OR5D18
11 OR5F1
11 OR5I1
11 OR5L2
11 OR5M11
11 OR5M3
11 OR5P2
11 OR5R1
11 OR5T2
11 OR5T3
11 OR5W2
11 OR6A2

[0641]

11 OR6T1
11 OR6X1
11 OR8A1
11 OR8B12
11 OR8B2
11 OR8B3
11 OR8B4
11 OR8D1
11 OR8D2
11 OR8H1
11 OR8H2
11 OR8H3
11 OR8I2
11 OR8J1
11 OR8J2
11 OR8J3
11 OR8K1
11 OR8K3
11 OR8K5
11 OR8U1
11 OR9G1
11 OR9G4
11 OR9Q2
11 P2RX3
11 PTPRJ
11 ROBO3
11 SIGIRR
11 SLC22A10
11 SLC3A2
11 SLC5A12
11 SLCO2B1
11 SORL1
11 ST14
11 SYT8
11 TENM4
11 TMEM123
11 TMPRSS4
11 TMPRSS5
11 TRPM5
11 TSPAN18
11 ZP1
12 ANO4

[0642]

12 AVPR1A
12 CACNA2D4
12 CD163
12 CD163L1
12 CD27
12 CD4
12 CLEC12A
12 CLEC2A
12 CLEC4C
12 CLEC7A
12 CLECL1
12 CLSTN3
12 GPR133
12 GPRC5D
12 ITGA7
12 ITGB7
12 KLRB1
12 KLRC2
12 KLRC3
12 KLRC4
12 KLRF1
12 KLRF2
12 LRP1
12 LRP6
12 MANSC1
12 MANSC4
12 OLR1
12 OR10AD1
12 OR10P1
12 OR2AP1
12 OR6C1
12 OR6C2
12 OR6C3
12 OR6C4
12 OR6C6
12 OR6C74
12 OR6C76
12 OR8S1
12 OR9K2
12 ORAI1
12 P2RX4
12 P2RX7

[0643]

12 PTPRB
12 PTPRQ
12 SCNN1A
12 SELPLG
12 SLC38A4
12 SLC5A8
12 SLC6A15
12 SLC8B1
12 SLCO1B1
12 SLCO1B7
12 SSPN
12 STAB2
12 TAS2R10
12 TAS2R13
12 TAS2R20
12 TAS2R30
12 TAS2R31
12 TAS2R42
12 TAS2R43
12 TAS2R46
12 TAS2R7
12 TMEM119
12 TMEM132B
12 TMEM132C
12 TMEM132D
12 TMPRSS12
12 TNFRSF1A
12 TSPAN8
12 VSIG10
13 ATP4B
13 ATP7B
13 FLT3
13 FREM2
13 KL
13 PCDH8
13 SGCG
13 SHISA2
13 SLC15A1
13 SLITRK6
13 TNFRSF19
14 ADAM21
14 BDKRB2

[0644]

14 C14orf37
14 CLEC14A
14 DLK1
14 FLRT2
14 GPR135
14 GPR137C
14 JAG2
14 LTB4R2
14 MMP14
14 OR11G2
14 OR11H12
14 OR11H6
14 OR4K1
14 OR4K15
14 OR4K5
14 OR4L1
14 OR4N2
14 OR4N5
14 OR4Q2
14 SLC24A4
14 SYNDIG1L
15 ANPEP
15 CD276
15 CHRNA7
15 CHRNB4
15 CSPG4
15 DUOX1
15 DUOX2
15 FAM174B
15 GLDN
15 IGDCC4
15 ITGA11
15 LCTL
15 LTK
15 LYSMD4
15 MEGF11
15 NRG4
15 OCA2
15 OR4F4
15 OR4M2
15 OR4N4
15 PRTG

[0645]

15 RHCG
15 SCAMP5
15 SEMA4B
15 SEMA6D
15 SLC24A1
15 SLC28A1
15 TRPM1
15 TYRO3
16 ATP2C2
16 CACNA1H
16 CD19
16 CDH11
16 CDH16
16 CDH3
16 CDH5
16 CNGB1
16 CNTNAP4
16 GDPD3
16 GPR56
16 GPR97
16 IL4R
16 ITFG3
16 ITGAL
16 ITGAM
16 ITGAX
16 KCNG4
16 MMP15
16 MSLNL
16 NOMO1
16 NOMO3
16 OR2C1
16 PKD1
16 PKD1L2
16 SCNN1B
16 SEZ6L2
16 SLC22A31
16 SLC5A11
16 SLC7A6
16 SPN
16 TMC5
16 TMC7
16 TMEM204

[0646]

16 TMEM219
16 TMEM8A
17 ABCC3
17 ACE
17 AOC3
17 ASGR2
17 C17orf80
17 CD300A
17 CD300C
17 CD300E
17 CD300LG
17 CHRNB1
17 CLEC10A
17 CNTNAP1
17 CPD
17 CXCL16
17 FAM171A2
17 GCGR
17 GLP2R
17 GP1BA
17 GPR142
17 GUCY2D
17 ITGA2B
17 ITGA3
17 ITGAE
17 ITGB3
17 KCNJ12
17 LRRC37A
17 LRRC37A2
17 LRRC37A3
17 LRRC37B
17 MRC2
17 NGFR
17 OR1A2
17 OR1D2
17 OR1G1
17 OR3A1
17 OR3A2
17 OR4D1
17 OR4D2
17 RNF43
17 SCN4A

[0647]

17 SDK2
17 SECTM1
17 SEZ6
17 SLC26A11
17 SPACA3
17 TMEM102
17 TMEM132E
17 TNFSF12
17 TRPV3
17 TTYH2
17 TUSC5
18 APCDD1
18 CDH19
18 CDH20
18 CDH7
18 COLEC12
18 DCC
18 DSC1
18 DSG1
18 DSG3
18 DYNAP
18 MEP1B
18 PTPRM
18 SIGLEC15
18 TNFRSF11A
19 ABCA7
19 ACPT
19 BCAM
19 C19orf38
19 C19orf59
19 C5AR1
19 CATSPERD
19 CATSPERG
19 CD320
19 CD33
19 CD97
19 CEACAM1
19 CEACAM19
19 CEACAM21
19 CEACAM3
19 CEACAM4
19 CLEC4M

[0648]

19 DLL3
19 EMR1
19 EMR2
19 EMR3
19 ERVV-1
19 ERVV-2
19 FAM187B
19 FCAR
19 FFAR3
19 FPR1
19 GFY
19 GP6
19 GPR42
19 GRIN3B
19 ICAM3
19 IGFLR1
19 IL12RB1
19 IL27RA
19 KIR2DL1
19 KIR2DL3
19 KIR2DL4
19 KIR3DL1
19 KIR3DL2
19 KIR3DL3
19 KIRREL2
19 KISS1R
19 LAIR1
19 LDLR
19 LILRA1
19 LILRA2
19 LILRA4
19 LILRA6
19 LILRB1
19 LILRB2
19 LILRB3
19 LILRB4
19 LILRB5
19 LINGO3
19 LPHN1
19 LRP3
19 MADCAM1
19 MAG

[0649]

19 MEGF8
19 MUC16
19 NCR1
19 NOTCH3
19 NPHS1
19 OR10H1
19 OR10H2
19 OR10H3
19 OR10H4
19 OR1I1
19 OR2Z1
19 OR7A10
19 OR7C1
19 OR7D4
19 OR7E24
19 OR7G1
19 OR7G2
19 OR7G3
19 PLVAP
19 PTGIR
19 PTPRH
19 PTPRS
19 PVR
19 SCN1B
19 SHISA7
19 SIGLEC10
19 SIGLEC11
19 SIGLEC12
19 SIGLEC5
19 SIGLEC6
19 SIGLEC8
19 SIGLEC9
19 SLC44A2
19 SLC5A5
19 SLC7A9
19 TARM1
19 TGFBR3L
19 TMC4
19 TMEM91
19 TMPRSS9
19 TNFSF14
19 TNFSF9

[0650]

19 TRPM4
19 VN1R2
19 VSIG10L
19 VSTM2B
20 ABHD12
20 ADAM33
20 ADRA1D
20 APMAP
20 ATRN
20 CD40
20 CD93
20 CDH22
20 CDH26
20 CDH4
20 FLRT3
20 GCNT7
20 GGT7
20 JAG1
20 LRRN4
20 NPBWR2
20 OCSTAMP
20 PTPRA
20 PTPRT
20 SEL1L2
20 SIGLEC1
20 SIRPA
20 SIRPB1
20 SIRPG
20 SLC24A3
20 SLC2A10
20 SSTR4
20 THBD
21 CLDN8
21 DSCAM
21 ICOSLG
21 IFNAR1
21 IFNGR2
21 IGSF5
21 ITGB2
21 KCNJ15
21 NCAM2
21 TMPRSS15

[0651]

	21	TMPRSS2
	21	TMPRSS3
	21	TRPM2
	21	UMODL1
	22	CACNA1I
	22	CELSR1
	22	COMT
	22	CSF2RB
	22	GGT1
	22	GGT5
	22	IL2RB
	22	KREMEN1
	22	MCHR1
	22	OR11H1
	22	P2RX6
	22	PKDREJ
	22	PLXNB2
	22	SCARF2
	22	SEZ6L
	22	SSTR3
	22	SUSD2
	22	TMPRSS6
	22	TNFRSF13C
X		ATP6AP2
X		ATP7A
X		EDA2R
X		FMR1NB
X		GLRA4
X		GPR112
X		GUCY2F
X		HEPH
X		P2RY10
X		P2RY4
X		PLXNA3
X		PLXNB3
X		VSIG4
X		XG

[0652]

[0653] **실시예 2에 대한 참고문헌:**

[0654] 1. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, O'Donnell-Luria AH, Ware JS, Hill AJ, Cummings BB, Tukiainen T, Birnbaum DP, Kosmicki JA, Duncan LE, Estrada K, Zhao F, Zou J, Pierce-Hoffman E, Berghout J, Cooper DN, Deflaux N, DePristo M, Do R, Flannick J, Fromer M, Gauthier L, Goldstein J, Gupta N, Howrigan D, Kiezun A, Kurki MI, Moonshine AL, Natarajan P, Orozco L, Peloso GM, Poplin R, Rivas MA, Ruano-Rubio V, Rose SA, Ruderfer DM, Shakir K, Stenson PD, Stevens C, Thomas BP, Tiao G, Tusie-Luna MT, Weisburd B, Won HH, Yu D, Altshuler DM, Ardissino D, Boehnke M, Danesh J, Donnelly S, Elosua R, Florez JC, Gabriel SB, Getz G, Glatt SJ, Hultman CM, Kathiresan S, Laakso M, McCarroll S, McCarthy MI, McGovern D, McPherson R, Neale BM, Palotie A, Purcell SM, Saleheen D, Scharf JM, Sklar P, Sullivan PF, Tuomilehto J, Tsuang MT, Watkins HC, Wilson JG, Daly MJ, MacArthur DG, Exome Aggregation C. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature*. 2016;536:285-291

[0655] 2. Consortium GT. Human genomics. The genotype-tissue expression (gtex) pilot analysis: Multitissue gene regulation in humans. *Science*. 2015;348:648-660

[0656] 3.

[0657] 6. Ng PC, Henikoff S. Sift: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic acids research*. 2003;31:3812-3814

[0658] 7.

[0659] 8. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, Jacobsen A, Byrne CJ, Heuer ML, Larsson E, Antipin Y, Reva B, Goldberg AP, Sander C, Schultz N. The cbio cancer genomics portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer discovery*. 2012;2:401-404

[0660] **실시예 3. KICH 샘플에서의 HLA LOH의 검증을 위한 DNA 시퀀싱 분석**

[0661] 라이브러리 제조 및 시퀀싱

[0662] 목적- 가상 실험 분석에 기초하여, KICH 암이 HLA LOH 예측의 습식 검증을 위한 제1 종양 유형으로 선택되었다. 목표는 정상 조직으로부터 유래한 DNA에 기초하여 각각의 환자에 대한 HLA 유전자형을 식별한 다음, HLA 대립유전자 중 하나의 상실을 식별하기 위해 암 조직에서 HLA 동종이인자형을 분석하는 것이었다.

[0663] 이를 위해, 6개의 냉동된 일치된 KICH 샘플 (정상 및 암)인 RC-001-RC003, TNEABA11, TNEABNWE, 2rDFRAUB, 2RDFRNQG, IOWT5AVJ, IOWT5N74로부터 유래한 DNA에 대해 HLA 동종이인자형을 측정하였다. 또한, 2개의 DNA 일치된 샘플인 OG-001-OG-002 (정상 및 암)를 분석하였다. 샘플의 HLA 타이핑을 식별하기 위해 DNA 라이브러리를 제조하여 서열 분석을 수행하였다. 6개의 냉동된 일치된 KICH 샘플 (정상 및 종양)로부터 DNA를 추출하고, 하기에 기술된 바와 같이 라이브러리를 제조하였다.

[0664] Genotypic Technology Pvt. Ltd. (Bangalore, India)에서 TruSight® HLA v2 시퀀싱 패널 (Illumina, San Diego, California, U.S.A.)을 사용하여 TruSight HLA 시퀀싱 라이브러리를 제조하였다.

[0665] 간략하게 설명하면, TruSight HLA 시퀀싱 키트에 제공된 프라이머를 사용하여 HLA 앰플리콘을 생성하였다. 아가로스 겔에서 앰플리콘을 확인한 후, 키트에 제공된 샘플 정제 비드를 사용하여 앰플리콘을 세척하였다. 앰플리콘을 정규화하고 태그먼트화 (Tagmentation) 반응에 의해 단편화하였다. 태그먼트화 후 각각의 개별 샘플의 상이한 앰플리콘을 수집하고 농축 PCR을 진행하였다. Nextera XT Index Kit v2 (Illumina)를 사용하여 농축 PCR 동안 샘플의 바코딩을 수행하였다. 최종 PCR 생성물을 샘플 정제 비드를 사용하여 정제한 후 라이브러리의 품질 관리 점검을 수행하였다. 라이브러리를 Qubit 형광계 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)에 의해 정량하고 그의 단편 크기 분포를 Agilent 바이오분석기 (Bioanalyzer)에서 분석하였다.

[0666] Illumina 어댑터 서열:

[0667] 5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC [i5] TCGTCGGCAGCGTC

[0668] 5'-CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT [i7] GTCTCGTGGGCTCGG

[0669] [i5, i7] - 샘플-특이적 시퀀싱 데이터를 식별하는 고유한 이중 인덱스 서열

[0670] 하기의 표는 상기 샘플들의 HLA 유전자형을 나타낸다.

[0671] 하기에서 볼 수 있듯이, 본 발명자들은 상기 분석으로부터 상실된 대립유전자를 유추할 수 있으며, 예를 들어, 환자 #RC001은 종양 샘플에서 HLA-A30 대립유전자의 상실을 나타내고 HLA-32에 대해 반접합성이 되며; 환자 #RC003은 종양 샘플에서 HLA-1을 상실하고 HLA-30에 대해 반접합성이 된다. 식별된 상실 대립유전자는 각각의 환자에 대한 관련 iCAR을 결정한다. 종양 샘플이 정상 세포로 오염된 경우는, 이 방법에서 명확한 HLA 대립유전자 상실을 나타낼 수 있다.

표 9

표 9: 일치된 KICH 샘플의 HLA 유전자형

샘플_ID	HLA-A	HLA-B	HLA-C
OG_001_NAT_NORMAL	02:06:01:--	7:02:01	03:04:01:--
	24:02:01:--	15:01:01:--	07:02:01:--
OG_001_TUM_TUMOR	02:06:01:--	7:02:01	03:04:01:--
	24:02:01:--	15:01:01:--	07:02:01:--
OG_002_NAT_NORMAL	02:01:01:--	15:01:01:--	3:03:01
	24:02:01:--	55:01:01	X
OG_002_TUM_TUMOR	02:01:01:--	15:01:01:--	3:03:01
	24:02:01:--	55:01:01	X
RC_002_NAT_A_NORMAL	03:01:01:--	7:02:01	06:02:01:--
	68:02:01:--	58:02:01	7:18:00
RC_002_TUM_A_TUMOR	03:01:01:--	7:02:01	06:02:01:--
	68:02:01:--	58:02:01	7:18:00
RC_003_NAT_A_NORMAL	01:01:01:01	7:02:01	07:01:01:--
	30:04:01	49:01:01	07:02:01:--
RC_003_TUM_A_TUMOR	30:04:01	7:02:01	07:01:01:--
	X	49:01:01	07:02:01:--
RC_001_NAT_B_NORMAL	30:04:01	53:01:01	04:01:01:--
	32:01:01	58:02:01	06:02:01:--
RC_001_TUM_B_TUMOR	32:01:01	53:01:01	04:01:01:--
	X	58:02:01	06:02:01:--
2RDFRAUB_ Tumor	03:01:01:--	7:02:01	07:02:01:--
	32:01:01	38:01:01	12:03:01:--

[0672]

SO_7534_SET3_2RDFRNQG_ Normal	03:01:01:--	7:02:01	07:02:01:--
	32:01:01	38:01:01	12:03:01:--
IOWT5AVJ _Tumor	34:02:01	15:03:01:--	02:10:01:--
	68:01:01:--	81:01:00	8:04:01
IOWT5N74 _Normal	34:02:01	15:03:01:--	02:10:01:--
	68:01:01:--	81:01:00	8:04:01
TNEAB1L_ Tumor	02:01:01:--	8:01:01	03:04:01:--
	03:01:01:--	40:01:02	07:01:01:--
TNEABNWE_ Normal	02:01:01:--	8:01:01	03:04:01:--
	03:01:01:--	40:01:02	07:01:01:--

[0673] x- 변이체 판독값 없음

[0674] **진유전체 시퀀싱**

[0675] HLA 시퀀싱 외에도, 본 발명자들은 HLA-LOH를 확인하고 게놈 전체에 걸쳐 추가적인 LOH 사건을 식별하기 위해 진유전체 시퀀싱을 수행하였다.

[0676] Illumina 페어드 엔드 원시 판독 (paired end raw read) (150X2, HiSeq)은 FastQC를 사용하여 품질을 확인하였다. 최소 판독 길이 50 bp 및 최소 염기 품질 30의 파라미터를 사용하여, 어댑터 클리핑 (clipping) 및 저품질 염기 트리밍 (trimming)을 위한 Trim Galore 소프트웨어로 Illumina 원시 판독을 처리하였다. 처리된 판독은 Bowtie2를 사용하여 기준 인간 게놈 (hg19)에 정렬되었다. 이어서, 각각의 샘플에 대한 정렬된 .bam 파일을 처리하여 최종 PCR 복제물이 제거된 .bam 파일을 획득하고 Qualimap을 사용하여 정렬 품질을 확인하였다.

[0677] SAMtool 및 BCFtool을 사용하여 변이체를 식별하였다. 이 경우, 각각의 쌍의 샘플 (각각의 정상 및 종양 쌍)의 변이체를 식별하기 위해 공동 유전형 분석을 수행한다. 따라서 각각의 쌍에 대해 병합된 .vcf가 생성된다. > 20의 판독 심도 임계 값 및 > 30의 매핑 품질을 사용하여 이들 병합된 .vcf 파일 각각으로부터 잠재적인 변이체를 식별한다. 필터링된 병합된 .vcf의 각각의 쌍으로부터, 샘플에 관한 .vcf 파일을 생성하였다. 필터링된 변이체에 대해, Variant Studio를 사용하여 유전자, 단백질 변화 및 변이의 영향에 대해 추가로 주석을 표시하였다.

[0678] 하기 표는 상기 샘플들에 대한 염색체 상실 정도를 기술한다. RC001, RC002 및 RC003은 HLA 유전자를 암호화하는 6번 염색체를 비롯한 광범위한 염색체 상실을 나타내며, 따라서 이들 샘플의 경우, 1, 2, 3, 4 (RC002의 경우), 5, 6, 8 (RC003의 경우), 9 (RC001, RC002), 10 (RC001, RC003), 11 (RC003), 13 (RC001, RC003), 14 (RC002), 17 (RC001, RC003), 19 (RC001), 21 (RC001, RC003), 22(RC001, RC002)번 염색체에 암호화된 많은 다른 표적뿐만아니라, HLA를 iCAR 표적으로 사용할 수 있다.

표 10

표 10 염색체 상실

Chr	RC001	RC002	RC003	OG001	OG002	2RD	IOW	TNE
1	++	++	++					
2	++	+	++			+		
3	++	++				+		
4		++						
5	++	++						
6	++	+	++				+	
7								
8			++					
9	++	++					++	
10	++		++					
11			++					
12							+	
13	++		++					
14		+				+		
15						+		
16								
17	++		++					
18								
19	++							
20								
21	++		++					
22	++	++					++	

\+ 세포의 약 50%에 대한 LOH (Chr 상실)
++ 세포의 거의 100%에 대한 LOH (Chr 상실)

[0679]

[0680] RC001에 대해, 도 14는 17번 염색체에 암호화된 종양 억제 단백질 TP53에 인접한 염색체 영역의 상실을 도시한다. iCAR 표적으로 식별된 17번 염색체에 암호화된 유전자를 사용하여 환자 RC001을 치료할 수 있다.

[0681] 약어: ADP, 아데노신 디포스페이트; ALL, 급성 림프구성 백혈병; AML, 급성 골수성 백혈병; APRIL, 증식 유도 리간드; BAFF, TNF 패밀리의 B 세포 활성화 인자; BCMA, B 세포 성숙 항원; BCR, B 세포 수용체; BM, 골수; CAIX, 탄산 탈수 효소 IX; CAR, 키메라 항원 수용체; CEA, 암배 항원; CLL, 만성 림프성 백혈병; CNS, 중추 신경계; CSPG4, 콘드로이틴 설페이트 프로테오글리칸 4; DC, 수지상 세포; ECM, 세포외 매트릭스; EGFR, 표피 성장 인자 수용체; EGFRvIII, EGFR의 변이체 III; EphA2, 에리트로포이에틴-생산 간세포 암종 A2; FAP, 섬유아세포 활성화 단백질; FR-α, 엽산 수용체-알파; GBM, 다형 교모세포종; GPI, 글리코실포스파티딜이노시톨; H&N, 두경부; HL, 호지킨 림프종; Ig, 면역글로불린; L1-CAM, L1 세포 부착 분자; MM, 다발성 골수종; NB, 신경모세포종; NF-KB, 핵 인자-KB; NHL, 비호지킨 림프종; NK, 자연 살해; NKG2D-L, NKG2D 리간드; PBMC, 말초 혈액 단핵 세포; PC, 원형질 세포; PLL, 전림프구성 백혈병; PSCA, 전립선 줄기 세포 항원; PSMA, 전립선-특이적 막 항원; RCC, 신장 세포 암종; ROR1, 수용체 티로신 키나제-유사 고아 수용체 1; TCL, T 세포 백혈병/림프종; Th2, T 헬퍼 2; TNBC, 삼중 음성 유방암; TNFR, 종양 괴사 인자 수용체; VEGFR-2, 혈관 내피 성장 인자-2.

[0682] **참고문헌:**

[0683] Abecasis, G.R., Altshuler, D., Auton, A., Brooks, L.D., Durbin, R.M., Gibbs, R.A., Hurles, M.E., and McVean, G.A. (2010). A map of human genome variation from population-scale sequencing. Nature *467*, 1061-1073.

[0684] Abeyweera, T.P., Merino, E., and Huse, M. (2011). Inhibitory signaling blocks activating receptor clustering and induces cytoskeletal retraction in natural killer cells. J. Cell Biol. *192*, 675-690.

[0685] Auton, A., Abecasis, G.R., Altshuler, D.M., Durbin, R.M., Bentley, D.R., Chakravarti, A., Clark, A.G., Donnelly, P., Eichler, E.E., Flicek, P. 등 (2015). A global reference for human genetic variation. Nature *526*, 68-74.

[0686] Barbas, Carlos F., Dennis R. Burton, Jamie K. Scott, G. J. S. 2004. *Phage display: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

[0687] Bausch-Fluck, D., Hofmann, A., Bock, T., Frei, A.P., Cerciello, F., Jacobs, A., Moest, H., Omasits, U., Gundry, R.L., Yoon, C. 등 (2015). A mass spectrometric-derived cell surface protein atlas. PLoS One *10*.

[0688] Bayle, J.H., Grimley, J.S., Stankunas, K., Gestwicki, J.E., Wandless, T.J., and Crabtree, G.R. (2006). Rapamycin analogs with differential binding specificity permit orthogonal control of protein activity. Chem. Biol. 13, 99-107.

[0689] Bergbold, N., and Lemberg, M.K. (2013). Emerging role of rhomboid family proteins in mammalian biology and disease. Biochim. Biophys. Acta *1828*, 2840-2848.

[0690] Blankenstein, T., Leisegang, M., Uckert, W., and Schreiber, H. (2015). Targeting cancer-specific mutations by T cell receptor gene therapy. Curr. Opin. Immunol. 33, 112-119.

[0691] Boczkowski, D., S. K. Nair, J. H. Nam, H. K. Lyerly, and E. Gilboa. 2000. Induction of tumor immunity and cytotoxic T lymphocyte responses using dendritic cells transfected with messenger RNA amplified from tumor cells. *Cancer Res* 60: 1028-34.

[0692] Barrett, M.T., Sanchez, C.A., Prevo, Burrell, R.A., McGranahan, N., Bartek, J., and Swanton, C. (2013). The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. Nature *501*, 338-345.

[0693] Van Buuren, M.M., Calis, J.J.A., and Schumacher, T.N.M. (2014). High sensitivity of cancer exome-based CD8 T cell neo-antigen identification. Oncoimmunology 3.

[0694] Caescu, C.I., Jeschke, G.R., and Turk, B.E. (2009). Active-site determinants of substrate recognition by the metalloproteinases TACE and ADAM10. Biochem. J. *424*, 79-88.

[0695] Carney, W.P., Petit, D., Hamer, P., Der, C.J., Finkel, T., Cooper, G.M., Lefebvre, M., Mobtaker, H., Delellis, R., and Tischler, A.S. (1986). Monoclonal antibody specific for an activated RAS protein. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *83*, 7485-7489.

[0696] Cerami E, et al. The cbio cancer genomics portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. Cancer discovery. 2012;2:401-404.

[0697] Chao, G., W. L. Lau, B. J. Hackel, S. L. Sazinsky, S. M. Lippow, and K. D. Wittrup. 2006. Isolating and engineering human antibodies using yeast surface display. *Nat. Protoc*. 1.

[0698] Chess, A. (2012). Mechanisms and consequences of widespread random monoallelic expression. Nat. Rev. Genet. 13, 421-428.

[0699] Chicaybam, L., and Bonamino, M.H. (2014). Abstract 2797: Construction and validation of an activating and inhibitory chimeric antigen receptor (CAR) system. Cancer Res. 74, 2797-2797.

[0700] Chicaybam, L., and Bonamino, M.H. (2015). Abstract 3156: Construction and validation of an activating and inhibitory chimeric antigen receptor (CAR) system. Cancer Res. 75, 3156-3156.

[0701] Consortium GT. Human genomics. The genotype-tissue expression (gtex) pilot analysis: Multitissue gene regulation in humans. Science. 2015;348:648-660.

[0702] Da Cunha, J.P.C., Galante, P.A.F., De Souza, J.E., De Souza, R.F., Carvalho, P.M., Ohara, D.T., Moura, R.P., Oba-Shinja, S.M., Marie, S.K.N., Silva Jr., W.A. 등 (2009). Bioinformatics construction of the human cell surfaceome. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *106*, 16752-16757.

[0703] Devilee, P., Cleton-Jansen, A.-M., and Cornelisse, C.J. (2001). Ever since Knudson. Trends Genet. *17*,

569-573.

[0704] Dotti, G., Gottschalk, S., Savoldo, B., and Brenner, M.K. (2014). Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells. Immunol. Rev. 257, 107-126.

[0705] Ebsen, H., Schroder, A., Kabelitz, D., and Janssen, O. (2013). Differential surface expression of ADAM10 and ADAM17 on human T lymphocytes and tumor cells. PLoS One 8, e76853.

[0706] Eriksson, M., Leitz, G., Fallman, E., Axner, O., Ryan, J.C., Nakamura, M.C., and Sentman, C.L. (1999). Inhibitory receptors alter natural killer cell interactions with target cells yet allow simultaneous killing of susceptible targets. J. Exp. Med. *190*, 1005-1012.

[0707] Fedorov, V.D., Themeli, M., and Sadelain, M. (2013a). PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses. Sci. Transl. Med. 5, 215ra172.

[0708] Fedorov, V.D., Themeli, M., and Sadelain, M. (2013b). PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses. In Science Translational Medicine, (Affiliation: Center for Cell Engineering, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC), New York, NY 10065, United States; Affiliation: Tri-Institutional MSTP Program (MSKCC, Rockefeller University, Weill-Cornell Medical College), New York, NY 10065, Un),.

[0709] Feenstra, M., Veltkamp, M., van Kuik, J., Wiertsema, S., Slootweg, P., van den Tweel, J., de Weger, R., and Tilanus, M. (1999). HLA class I expression and chromosomal deletions at 6p and 15q in head and neck squamous cell carcinomas. Tissue Antigens *54*, 235-245.

[0710] Gao J. et al, Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBio Portal. Sci Signal. 2013 2;6(269)

[0711] Gill, S., and June, C.H. (2015). Going viral: chimeric antigen receptor T-cell therapy for hematological malignancies. Immunol. Rev. *263*, 68-89.

[0712] Gordon, W.R., Zimmerman, B., He, L., Miles, L.J., Huang, J., Tiyanont, K., McArthur, D.G., Aster, J.C., Perrimon, N., Loparo, J.J. 등 (2015). Mechanical Allostery: Evidence for a Force Requirement in the Proteolytic Activation of Notch. Dev. Cell *33*, 729-736.

[0713] Graef, I.A., Holsinger, L.J., Diver, S., Schreiber, S.L., and Crabtree, G.R. (1997). Proximity and orientation underlie signaling by the non-receptor tyrosine kinase ZAP70. EMBO J. *16*, 5618-5628.

[0714] Gross, G., and Eshhar, Z. (2016a). Therapeutic Potential of T-Cell Chimeric Antigen Receptors in Cancer Treatment: Counteracting Off-Tumor Toxicities for Safe CAR T-Cell Therapy. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2016. 56:59-83.

[0715] Gross, G., and Eshhar, Z. (2016b). Therapeutic Potential of T Cell Chimeric Antigen Receptors (CARs) in Cancer Treatment: Counteracting Off-Tumor Toxicities for Safe CAR T Cell Therapy. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 56, 59-83.

[0716] Gross, G., Waks, T., and Eshhar, Z. (1989). Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. Proc Natl Acad Sci U S A 86, 10024-10028.

[0717] Haapasalo, A., and Kovacs, D.M. (2011). The many substrates of presenilin/y-secretase. J. Alzheimers. Dis. 25, 3-28.

[0718] Hanes, J., and A. Pluckthun. 1997. In vitro selection and evolution of functional proteins by using ribosome display. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94.

[0719] Heemskerk, B., Kvistborg, P., and Schumacher, T.N.M. (2013). The cancer antigenome. EMBO J. 32, 194-203.

[0720] Hemming, M.L., Elias, J.E., Gygi, S.P., and Selkoe, D.J. (2009). Identification of beta-secretase

(BACE1) substrates using quantitative proteomics. PLoS One 4, e8477.

[0721] Huse, M., Catherine Milanoski, S., and Abeyweera, T.P. (2013). Building tolerance by dismantling synapses: inhibitory receptor signaling in natural killer cells. Immunol. Rev. 251, 143-153.

[0722] Jimenez, P., Canton, J., Collado, A., Cabrera, T., Serrano, A., Real, L.M., Garcia, A., Ruiz-Cabello, F., and Garrido, F. (1999). Chromosome loss is the most frequent mechanism contributing to HLA haplotype loss in human tumors. Int. J. Cancer 83, 91-97.

[0723] Klebanoff, C.A., Rosenberg, S.A., and Restifo, N.P. (2016). Prospects for gene-engineered T cell immunotherapy for solid cancers. Nat. Med. 22, 26-36.

[0724] Kloss, C.C., Condomines, M., Cartellieri, M., Bachmann, M., and Sadelain, M. (2013). Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T cells. Nat. Biotechnol. 31, 71-75.

[0725] Knudson Jr., A.G. (1971). Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 68, 820-823.

[0726] Lanitis, E., Poussin, M., Klattenhoff, A.W., Song, D., Sandaltzopoulos, R., June, C.H., and Powell Jr, D.J. (2013). Chimeric antigen receptor T cells with dissociated signaling domains exhibit focused anti-tumor activity with reduced potential for toxicity. Cancer Immunol. Res. 1, 10.1158/2326-6066.CIR - 13-0008.

[0727] Lawrence, M.S., Stojanov, P., Polak, P., Kryukov, G. V, Cibulskis, K., Sivachenko, A., Carter, S.L., Stewart, C., Mermel, C.H., Roberts, S.A. 등 (2013). Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. Nature 499, 214-218.

[0728] Lee, A., Rana, B.K., Schiffer, H.H., Schork, N.J., Brann, M.R., Insel, P.A., and Weiner, D.M. (2003). Distribution analysis of nonsynonymous polymorphisms within the G-protein-coupled receptor gene family. Genomics 81, 245-248.

[0729] Lek M 등, Exome Aggregation C. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. Nature. 2016;536:285-291.

[0730] Lengauer, C., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B. (1998). Genetic instabilities in human cancers. Nature 396, 643-649.

[0731] Li, H., Yang, B., Xing, K., Yuan, N., Wang, B., Chen, Z., He, W., and Zhou, J. (2014). A preliminary study of the relationship between breast cancer metastasis and loss of heterozygosity by using exome sequencing. Sci. Rep. 4.

[0732] Liberles, S.D., Diver, S.T., Austin, D.J., and Schreiber, S.L. (1997). Inducible gene expression and protein translocation using nontoxic ligands identified by a mammalian three-hybrid screen. Proc. Natl. Acad. Sci. 94, 7825-7830.

[0733] Lindblad-Toh, K., Tanenbaum, D.M., Daly, M.J., Winchester, E., Lui, W.-O., Villapakkam, A., Stanton, S.E., Larsson, C., Hudson, T.J., Johnson, B.E. 등 (2000). Loss-of-heterozygosity analysis of small-cell lung carcinomas using single-nucleotide polymorphism arrays. Nat. Biotechnol. 18, 1001-1005.

[0734] Lo, K.C., Bailey, D., Burkhardt, T., Gardina, P., Turpaz, Y., and Cowell, J.K. (2008). Comprehensive analysis of loss of heterozygosity events in glioblastoma using the 100K SNP mapping arrays and comparison with copy number abnormalities defined by BAC array comparative genomic hybridization. Genes Chromosom. Cancer 47, 221-237.

[0735] Long, E.O., Sik Kim, H., Liu, D., Peterson, M.E., and Rajagopalan, S. (2013). Controlling natural killer cell responses: Integration of signals for activation and inhibition. Annu. Rev. Immunol. 31, 227-258.

[0736] Maleno, I., Lopez-Nevot, M.A., Cabrera, T., Salinero, J., and Garrido, F. (2002). Multiple mechanisms

generate HLA class I altered phenotypes in laryngeal carcinomas: high frequency of HLA haplotype loss associated with loss of heterozygosity in chromosome region 6p21. Cancer Immunol. Immunother. 51, 389-396.

[0737] Maleno, I., Cabrera, C.M., Cabrera, T., Paco, L., Lopez-Nevot, M.A., Collado, A., Ferron, A., and Garrido, F. (2004). Distribution of HLA class I altered phenotypes in colorectal carcinomas: high frequency of HLA haplotype loss associated with loss of heterozygosity in chromosome region 6p21. Immunogenetics 56, 244-253.

[0738] Maleno, I., Romero, J.M., Cabrera, T., Paco, L., Aptsiauri, N., Cozar, J.M., Tallada, M., Lopez-Nevot, M.A., and Garrido, F. (2006). LOH at 6p21.3 region and HLA class I altered phenotypes in bladder carcinomas. Immunogenetics 58, 503-510.

[0739] Maleno, I., Aptsiauri, N., Cabrera, T., Gallego, A., Paschen, A., Lopez-Nevot, M.A., and Garrido, F. (2011). Frequent loss of heterozygosity in the β2-microglobulin region of chromosome 15 in primary human tumors. Immunogenetics 63, 65-71.

[0740] McGranahan, N., Burrell, R.A., Endesfelder, D., Novelli, M.R., and Swanton, C. (2012). Cancer chromosomal instability: Therapeutic and diagnostic challenges. EMBO Rep. 13, 528-538.

[0741] Morsut, L., Roybal, K.T., Xiong, X., Gordley, R.M., Coyle, S.M., Thomson, M., and Lim, W.A. (2016). Engineering Customized Cell Sensing and Response Behaviors Using Synthetic Notch Receptors. Cell 164, 780-791.

[0742] Ng PC, Henikoff S. Sift: Predicting amino acid changes that affect protein function. Nucleic acids research. 2003;31:3812-3814.

[0743] Nirschl, C.J., and Drake, C.G. (2013). Molecular pathways: Coexpression of immune checkpoint molecules: Signaling pathways and implications for cancer immunotherapy. Clin. Cancer Res. 19, 4917-4924.

[0744] O'Keefe, C., McDevitt, M.A., and Maciejewski, J.P. (2010). Copy neutral loss of heterozygosity: A novel chromosomal lesion in myeloid malignancies. Blood 115, 2731-2739.

[0745] Ohgaki, H., Dessen, P., Jourde, B., Horstmann, S., Nishikawa, T., Di Patre, P.-L., Burkhard, C., Schuler, D., Probst-Hensch, N.M., Maiorka, P.C. 등 (2004). Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. Cancer Res. 64, 6892-6899.

[0746] Overwijk, W.W., Wang, E., Marincola, F.M., Rammensee, H.G., and Restifo, N.P. (2013). Mining the mutanome: developing highly personalized Immunotherapies based on mutational analysis of tumors. J. Immunother. Cancer 1, 11.

[0747] Rana, B.K., Shiina, T., and Insel, P.A. (2001). Genetic variations and polymorphisms of G protein-coupled receptors: functional and therapeutic implications. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 41, 593-624.

[0748] Rawson, R.B. (2013). The site-2 protease. Biochim. Biophys. Acta 1828, 2801-2807.

[0749] Rosenberg, S.A. (2014). Finding suitable targets is the major obstacle to cancer gene therapy. Cancer Gene Ther. 21, 45-47.

[0750] Rosenberg, S.A., and Restifo, N.P. (2015). Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. Science 348, 62-68.

[0751] Roybal, K.T., Rupp, L.J., Morsut, L., Walker, W.J., McNally, K.A., Park, J.S., and Lim, W.A. (2016a). Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. Cell.

[0752] Roybal, K.T., Rupp, L.J., Morsut, L., Walker, W.J., McNally, K.A., Park, J.S., and Lim, W.A. (2016b). Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. Cell 164, 770-779.

[0753] Sathirapongsasuti, J.F., Lee, H., Horst, B.A.J., Brunner, G., Cochran, A.J., Binder, S., Quackenbush,

J., and Nelson, S.F. (2011). Exome sequencing-based copy-number variation and loss of heterozygosity detection: ExomeCNV. Bioinformatics 27, 2648-2654.

[0754] Savage, P.A. (2014). Tumor antigenicity revealed. Trends Immunol. 35, 47-48.

[0755] Savova, V., Chun, S., Sohail, M., McCole, R.B., Witwicki, R., Gai, L., Lenz, T.L., Wu, C.-T., Sunyaev, S.R., and Gimelbrant, A.A. (2016). Genes with monoallelic expression contribute disproportionately to genetic diversity in humans. Nat. Genet. 48, 231-237.

[0756] Schumacher, T.N., and Schreiber, R.D. (2015). Neoantigens in cancer immunotherapy. Science (80-.). 348, 69-74.

[0757] Sela-Culang, I., Y. Ofran, and B. Peters. 2015a. Antibody specific epitope prediction - Emergence of a new paradigm. Curr. Opin. Virol. 11.

[0758] Sela-Culang, I., S. Ashkenazi, B. Peters, and Y. Ofran. 2015b. PEASE: Predicting B-cell epitopes utilizing antibody sequence. Bioinformatics 31.

[0759] Skora, A.D., Douglass, J., Hwang, M.S., Tam, A.J., Blosser, R.L., Gabelli, S.B., Cao, J., Diaz, L.A., Papadopoulos, N., Kinzler, K.W. 등 (2015). Generation of MANAbodies specific to HLA-restricted epitopes encoded by somatically mutated genes. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 112, 9967-9972.

[0760] Stark, M., and Hayward, N. (2007). Genome-wide loss of heterozygosity and copy number analysis in melanoma using high-density single-nucleotide polymorphism arrays. Cancer Res. 67, 2632-2642.

[0761] Stark, S.E., and Caton, A.J. (1991). Antibodies that are specific for a single amino acid interchange in a protein epitope use structurally distinct variable regions. J. Exp. Med. 174, 613- 624.

[0762] Teo, S.M., Pawitan, Y., Ku, C.S., Chia, K.S., and Salim, A. (2012). Statistical challenges associated with detecting copy number variations with next-generation sequencing. Bioinformatics 28, 2711-2718.

[0763] Thul PJ 등 A subcellular map of the human proteome. Science. 2017;356.

[0764] Treanor, B., Lanigan, P.M.P., Kumar, S., Dunsby, C., Munro, I., Auksorius, E., Culley, F.J., Purbhoo, M.A., Phillips, D., Neil, M.A.A. 등 (2006). Microclusters of inhibitory killer immunoglobulin-like receptor signaling at natural killer cell immunological synapses. J. Cell Biol. 174, 153-161.

[0765] Uhlen M 등 Tissue-based map of the human proteome. Science. 2015;347:1260419.

[0766] Vogelstein, B., Fearon, E.R., Kern, S.E., Hamilton, S.R., Preisinger, A.C., Nakamura, Y., and White, R. (1989). Allelotype of colorectal carcinomas. Science (80-.). 244, 207-211.

[0767] Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V.E., Zhou, S., Diaz Jr., L.A., and Kinzler, K.W. (2013). Cancer genome landscapes. Science (80-.). 340, 1546-1558.

[0768] Voss, M., Schroder, B., and Fluhrer, R. (2013). Mechanism, specificity, and physiology of signal peptide peptidase (SPP) and SPP-like proteases. Biochim. Biophys. Acta 1828, 2828-2839.

[0769] Vyas, Y.M., Mehta, K.M., Morgan, M., Maniar, H., Butros, L., Jung, S., Burkhardt, J.K., and Dupont, B. (2001). Spatial organization of signal transduction molecules in the NK cell immune synapses during MHC class I-regulated noncytolytic and cytolytic interactions. J. Immunol. 167, 4358-4367.

[0770] Wang, Z.C., Lin, M., Wei, L.-J., Li, C., Miron, A., Lodeiro, G., Harris, L., Ramaswamy, S., Tanenbaum, D.M., Meyerson, M. 등 (2004). Loss of heterozygosity and its correlation with expression profiles in subclasses of invasive breast cancers. Cancer Res. 64, 64-71.

[0771] Wilkie, S., Van Schalkwyk, M.C.I., Hobbs, S., Davies, D.M., Van, D.S., Pereira, A.C.P., Burbridge, S.E., Box, C., Eccles, S.A., and Maher, J. (2012). Dual targeting of ErbB2 and MUC in breast cancer using chimeric antigen receptors engineered to provide complementary signaling. J. Clin. Immunol. 32, 1059-1070.

[0772] Wu, C.-Y., Roybal, K.T., Puchner, E.M., Onuffer, J., and Lim, W.A. (2015). Remote control of

therapeutic T cells through a small molecule-gated chimeric receptor. Science (80-.). 350, aab4077.

[0773] Yeung, J.T., Hamilton, R.L., Ohnishi, K., Ikeura, M., Potter, D.M., Nikiforova, M.N., Ferrone, S., Jakacki, R.I., Pollack, I.F., and Okada, H. (2013). LOH in the HLA class I region at 6p21 is associated with shorter survival in newly diagnosed adult glioblastoma. Clin. Cancer Res. 19, 1816-1826.

[0774] **실시예 4. 단백질 수준에서의 LOH의 검증**

[0775] 대립유전자 특이적 항체를 사용하여 정상 세포 대 종양 세포 샘플의 차별적 염색에 의해 단백질 수준에서 LOH를 검출할 수 있다. 예를 들어, 암 샘플에서의 HLA-LOH의 검증은 환자의 HLA 동종이인자형에 특이적인 상업적 HLA 항체를 사용하여 수행될 수 있다. 하기 표 11은 이용가능한 대립유전자-특이적 항체에 대한 예를 상세히 기술한다.

[0776] 샘플은 하기의 IHC 프로토콜에 기술된 바와 같이 면역 조직 화학 (IHC) 염색을 거친다.

표 11

표 11: 대립유전자-특이적 항-HLA 항체

[0777]

항체	제조사
항-인간 HLA-A2 APC (BB7.2)	eBiosciences
항-인간 HLA-A2 PE-cy7 (BB7.2)	eBiosciences
항-인간 HLA-A3 FITC (GAP A3)	eBiosciences
항-인간 HLA-A3 PE (GAP A3)	eBiosciences
마우스 항-HLA 클래스 1 항원 A25, A32 항체	US Biological
HLA 클래스 1 항원A30, A31	MyBioSource
마우스 항-인간 HLA-B7-PE (BB7.1)	Millipore
HLA-A2 항체 (BB7.2)	Novus
HLA B7 항체 (BB7.1)	Novus
마우스 항-인간 HLA-B27-FITC (클론 HLA.ABC.m3)	Millipore

[0778] **IHC 프로토콜**

[0779] 냉동 조직 샘플 -

[0780] 냉동 조직은 종종 포르말린계 용액에 고정되고 시료의 냉동절단을 가능하게 하는 OCT (최적 절단 온도 화합물 (Optimal Cutting Temperature compound))에 포매된다. OCT 내의 조직은 -80℃에서 냉동 상태로 유지된다. 냉동 블록은 절단 전에-80℃에서 제거되고, 저온 챔버에서 평형화되고, 얇은 절편 (종종 5-15 μm 두께)으로 절단된다. 절편을 조직학 슬라이드에 장착한다. 슬라이드는 -20℃ 내지 -80℃에서 저장될 수 있다. IHC 염색 전에 슬라이드를 실온 (RT)에서 10-20분 동안 해동시킨다.

[0781] 파라핀-포매된 조직 -

[0782] 조직을 포름알데히드 고정 용액에 포매한다. 파라핀 왁스를 첨가하기 전에, RT에서 특정 횟수 및 지속시간 동안, 증가하는 농도의 에탄올 (70%, 90%, 100%) 및 자일렌에 점진적으로 침지시킴으로써 조직을 탈수시킨다. 이어서, 조직을 파라핀 왁스에 포매한다.

[0783] 파라핀-포매된 조직을 마이크로톰에서 5-15 μm 두께의 절편으로 절단하고, 56℃ 수조에 부유시킨 후 조직학 슬라이드에 장착한다. 슬라이드는 RT에서 유지될 수 있다.

[0784] IHC 염색 전에, 파라핀-포매된 절편은 재수화 단계를 필요로 한다. 재수화 - 자일렌에 침지 (2 X 10분)시킴으로써 절편을 재수화시키고, 감소하는 농도의 에탄올을 첨가한다 (100% X2, 각각 10분간 95% 에탄올 - 5분간 70% 에탄올 - 5분간 50% 에탄올 - 5분간 dH20에서 세정).

[0785] **면역 형광 검출:**

[0786] 프로토콜:

[0787] 1. 세척 완충액 (PBSX1)에서 10분 동안 슬라이드를 재수화시킨다. 세척 완충액을 제거한다.

[0788] 2. 필요한 경우 항원 복구를 수행한다 (열-유도 항원 복구 또는 효소 복구).

[0789] 3. 세포내 항원의 경우, 투과화를 수행한다 (슬라이드를 PBSX1 중 0.1% 트리톤 X-100에서 RT에서 10분 동안 배양한다).

[0790] 4. 차단 - RT에서 30분 동안 차단 완충액에서 조직을 차단한다. 차단 완충액은 검출 방법에 의해 결정되며, 일반적으로 PBSX1 중 5% 동물 혈청 또는 PBSX1 중 1% BSA이다.

[0791] 5. 1차 항체 - 항체 제조사의 지시에 따라, 배양 완충액 (예를 들어 PBS 중 1% 당나귀 혈청, 1% BSA이며, 다른 배양 완충액이 사용될 수도 있음)에 1차 항체를 희석한다. 희석된 1 차 항체에서 4℃에서 밤새 조직을 배양한다. 1차 항체는 상기 상세히 기술된 단일클론 항-HLA-A, 항-HLA-B 또는 항-HLA-C 대립유전자-특이적 항체일 수 있다.

[0792] · 접합된 1차 항체가 사용되는 경우, 빛으로부터 보호하고 단계 8로 진행한다.

[0793] · 음성 대조군으로서, 1차 항체 없이 배양 완충액만으로 조직을 배양한다.

[0794] · 또한, 실험에 사용된 단일클론 항체의 이소타입 일치된 대조군을 수행한다.

[0795] ·

[0796] 6. 세척 - 세척 완충액에서 슬라이드를 세척한다 (3 X 5-15분).

[0797] 7. 2차 항체 - 항체 제조사의 지시에 따라, 배양 완충액에 2차 항체를 희석한다. 희석된 2차 항체에서 RT에서 30-60분 동안 조직을 배양한다. 빛으로부터 보호한다.

[0798] 8. 세척 - 세척 완충액에서 슬라이드를 세척한다 (3 X 5-15분).

[0799] 9. DAPI 염색 - DAPI 배양 완충액을 희석한다 (약 300 nM - 3㎛M). 각각의 절편에 300 ㎕의 DAPI 용액을 첨가한다. RT에서 5-10분 동안 배양한다.

[0800] 10. 세척 - X1 PBS로 슬라이드를 1회 세척한다.

[0801] 11. 안티페이드 장착 매체 (antifade mounting media)로 장착한다.

[0802] 12. 슬라이드를 빛으로부터 보호한다.

[0803] 13. 형광 현미경을 사용하여 슬라이드를 시각화한다.

[0804] **발색 검출:**

[0805] 프로토콜:

[0806] 1. 세척 완충액 (PBSX1)에서 10분 동안 슬라이드를 재수화시킨다. 세척 완충액을 제거한다.

[0807] 2. 필요한 경우 항원 복구를 수행한다 (상기 참조).

[0808] 3. HRP 시약의 경우, 메탄올 중 3.0% 과산화수소로 적어도 15분 동안 내인성 퍼옥시다제 활성을 차단한다.

[0809] 4. 절편을 dH2O에 5분 동안 침지시킴으로써 이를 세척한다.

[0810] 5. 세포내 항원의 경우, 투과화를 수행한다 (슬라이드를 PBSX1 중 0.1% 트리톤 X-100에서 RT에서 10분 동안 배양한다).

[0811] 6. 차단 - RT에서 30분 동안 차단 완충액에서 조직을 차단한다. 차단 완충액은 검출 방법에 의해 결정되며, 일반적으로 PBSX1 중 5% 동물 혈청 또는 PBSX1 중 1% BSA이다.

[0812] 7. 1차 항체 - 항체 제조사의 지시에 따라, 배양 완충액 (예를 들어 PBS 중 1% 당나귀 혈청, 1% BSA이며, 다른 배양 완충액이 사용될 수도 있음)에 1차 항체를 희석한다. 희석된 1 차 항체에서 4℃에서 밤새 조직을 배양한다.

[0813] 8. 세척 - 세척 완충액에서 슬라이드를 세척한다 (3 X 5-15분).

[0814] 9. 2차 항체 - HRP-접합된 2차 항체에서 RT에서 30-60분 동안 조직을 배양한다.

[0815] 10. 세척 - 세척 완충액에서 슬라이드를 3 X 5-15분 세척한다.

[0816] 11. 제조사 지침에 따라 ABC-HRP 시약을 첨가한다. RT에서 60분 동안 배양한다.

[0817] 12. 제조사 지침에 따라 DAB 용액 (또는 다른 색소원)을 제조하고 조직 절편에 적용한다. 발색 반응은 에피토프 부위를 갈색으로 만든다 (일반적으로 수초 내지 10분). 신호 강도가 이미징에 적합한 경우 다음 단계로 진행한다.

[0818] 13. 세척 - 세척 완충액에서 슬라이드를 세척한다 (3 X 5-15분).

[0819] 14. dH2O에서 슬라이드를 세척한다 (2 X 5-15분).

[0820] 15. 핵 염색 - 헤마톡실린 용액을 첨가한다. RT에서 5분 동안 배양한다.

[0821] 16. 조직 절편을 탈수시킨다 (95% 에탄올 - 2 X 2분. 100% 에탄올 - 2 X 2분. 자일렌 - 2 X 2분).

[0822] 17. 안티페이드 장착 매체 (antifade mounting media)로 장착한다.

[0823] 18. 명시야 조명 (bright-field illumination)을 사용하여 슬라이드를 시각화한다.

[0824] **실시예 5. CAR-T 설계 및 구축**

[0825] 본 연구의 목적은 CAR-T 요법의 표적-상 '종양-외' 효과를 억제하는 합성 수용체를 생성하는 것이다. 이를 위해 활성화 및 억제성 CAR로 구성된 CAR 구조체의 라이브러리를 확립하였다.

[0826] 구조체의 제1 세트는 HLA I형 서열 (HLA-A2)에 대해 지시된 억제성 CAR 및 종양 항원 (CD19)에 대해 지시된 활성화 CAR을 포함하였다. 개념의 증명을 위해 사용될 다음 구조체 세트는 CD19에 대해 지시된 활성화 CAR 서열 및 CD20에 대해 지시된 억제성 CAR 서열을 포함한다. 미래 생물 정보학 분석에 의해 식별된 표적 항원에 대해 지시된 추가적인 구조체를 구축한다. 표적 후보는 제시된 기준에 따라 우선 순위가 결정된다 (예시적인 기준은 표적 발현 패턴, 표적 발현 수준, 항원성 등을 포함하지만 이에 제한되지는 않음). CD19 aCAR, CD20 iCAR 및 HLA-A2 iCAR은 도 15 및 도 21에 기술된 대로 구축되었다.

[0827] iCAR 구조체는 상업적 DNA 합성을 사용하여 설계 및 합성되었다. PD-1 (아미노산 145-288)의 제1 주석이 표시된 세포외 도메인까지의 막횡단 및 세포내 도메인을 HLA-A2 scFv 하류에 융합시켰다 (HLA-A2를 암호화하는 DNA 서열은 항-HLA-A2를 생산하는 하이브리도마 BB7.2 (ATCC cat #: HB-82)로부터 회수하였음).

[0828] CTLA4 (아미노산 161-223) 또는 추가적인 음성 면역 조절인자 (예를 들어 2B4, LAG-3 및 BTLA-4)로부터 유래한 다른 서열을 갖는 유사한 구조체를 설계하고 이들의 신호전달 서열을 HLA-A2 scFv의 하류에 융합시킨다.

[0829] iCAR 검출 및 분류를 위해, 리포터 유전자 (예를 들어, eGFP)를 IRES 서열을 통해 iCAR 서열의 하류에 통합시킨 후, 도 15에 도시된 바와 같이 P2A 서열에 의해 분리된 항생제 내성 유전자 (즉, 하이그로마이신)를 추가하였다.

[0830] aCAR 구조체의 경우, CD19 scFV를 CD8 힌지 서열로 구성된 2세대 CAR 구조체에 융합시킨 후, CD28 막횡단 및 41BB 공동자극 1 및 CD3ζ를 추가하였다. 다른 신호전달 또는 구조적 요소로 구성된 추가적인 aCAR 구조체를 또한 설계 및 구축한다 (예를 들어, CD28 힌지, CD28 신호전달 도메인 또는 CD28 및 41BB 신호전달 도메인 둘 모두). aCAR 검출 및 분류를 위해, RFP 리포터 유전자를 IRES 서열을 통해 aCAR 서열의 하류에 통합시킨 후, P2A 서열에 의해 분리된 항생제 내성 유전자 (즉, 퓨로마이신 내성)를 추가하였다 (도 15).

[0831] aCAR 및 iCAR 서열 모두 렌티바이러스 전달 벡터로 클로닝한 후 HEK-293T 패키징 세포를 사용하여 바이러스 입자 생산에 사용하였다.

[0832] **실시예 6. 효과기 세포의 제조**

[0833] CD19 CAR 활성화 조절에 대한 iCAR 구조체의 효과를 연구하기 위해, 하기 표 12에 상세히 기술된 바와 같이 재조합 저캇 효과기 세포를 구축하였다. 저캇 (ATCC TIB152), CD4+ T-세포주 및 저캇-NFAT (BPS Biosciences로부터 구입한 저캇 세포주, NFAT 반응 요소의 제어하에 반딧불이 루시페라제 단백질을 발현하도록 조작됨)를 레트로넥틴-코팅된 (Takara) 렌티바이러스 벡터 결합된 플레이트를 사용하여 또는 폴리브렌의 존재하에 형질도입하

였다. 형질도입된 세포에 추가로 항생제 선택을 실시하여 표 12에 기술된 세포주를 수득하였다. 선택 후, 세포에 유세포 분석을 실시하여 각각의 구조체에 암호화된 리포터 단백질의 발현을 확인하였다.

표 12

표 12 - 재조합 효과기 세포주

재조합 효과기 세포주	모 세포	구조체 1 (aCAR-RFP)	구조체 2 (iCAR-GFP)
CD19 aCAR 저캇	저캇	CD19 aCAR	-
CD19aCAR/HLA-A2 iCAR 저캇	저캇	CD19 aCAR	HLA-A2 iCAR
HLA-A2 iCAR 저캇	저캇	-	HLA-A2 iCAR
CD19aCAR/CD20 iCAR 저캇	저캇	CD19 aCAR	CD20 iCAR
CD20 iCAR 저캇	저캇	-	CD20 iCAR
CD19 aCAR 저캇-NFAT	저캇-NFAT	CD19 aCAR	-
CD19aCAR/HLA-A2 iCAR 저캇-NFAT	저캇-NFAT	CD19 aCAR	HLA-A2 iCAR
HLA-A2 iCAR 저캇-NFAT	저캇-NFAT	-	HLA-A2 iCAR
CD19aCAR/CD20 iCAR 저캇-NFAT	저캇-NFAT	CD19 aCAR	CD20 iCAR
CD20 iCAR 저캇-NFAT	저캇-NFAT	-	CD20 iCAR

[0834]

[0835] 또한, 건강한 공여자로부터 수득된 말초 혈액으로부터 유래한 활성화된 T-세포를, 상이한 감염다중도 (MOI)로, aCAR, iCAR 또는 둘 모두를 암호화하는 바이러스 입자로 형질도입한다. 리포터 유전자 발현에 기초한 FACS 선택은 상이한 수준의 aCAR, iCAR 또는 둘 모두를 발현하는 세포 집단의 분류 및 선택에 사용된다.

[0836] **실시예 7. 표적 세포의 제조**

[0837] 표적-외 세포에 대한 상기 aCAR의 활성을 억제하는데 있어서의 iCAR 구조체의 기능성을 시험하기 위해 시험관내 재조합 시스템을 확립하였다. 이를 위해, 상기 aCAR 에피토프, iCAR 에피토프 또는 둘 모두를 발현하는 표적 세포를 생산하였다. 상기 aCAR 에피토프를 발현하는 재조합 세포는 '표적-상' '종양-상' 세포를 나타내는 반면, aCAR 및 iCAR 에피토프 둘 모두를 발현하는 세포는 '표적-상' '종양-외' 건강한 세포를 나타낸다.

[0838] 본 발명자들의 제1 iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 CD19에 기초한 것이므로, HLA-A2, CD19 또는 둘 모두를 발현하는 재조합 세포가, 세포주 (예를 들어, 헬라 (Hela), ATCC CRM-CCL-2,헬라-루시페라제-GenTarget SC032-Bsd 또는 라지-ATCC CCL-86)를 이들 유전자를 암호화하는 발현 벡터로 형질감염시킴으로써 생산되었다.

[0839] 재조합 HLA A-2 발현의 검출을 위해 Myc 태그를 삽입하였다. CD20 iCAR/CD19 aCAR로 구성된 제2 iCAR/aCAR 세트에 대해, CD20 또는 CD19 또는 둘 모두를 발현하는 재조합 세포를 구축하였다 (표적 세포는 표 15에 상술됨).

표 13

표 13 - 표적 세포주

세트#	모 세포	표적 단백질 1	표적 단백질 2	목적	모델링
1	라지	CD19	없음	내인성 CD19 를 발현하는 암 세포에 대한 모델	종양-상
	라지	CD19	HLA-A2	내인성 CD19; 재조합 HLA-A2 를 발현하는 정상 세포에 대한 모델	종양-외
	Thp1	없음	HLA_A2	내인성 HLA-A2 를 발현하고 CD19 에 대해 음성인 정상 세포에 대한 모델	음성 대조군

[0840]

[0841]

2		헬라	HLA-A2	없음	내인성 HLA-A2 를 발현하고 CD19 에 대해 음성인 정상 세포에 대한 모델	음성 대조군
		헬라	HLA-A2	CD19	재조합 CD19; HLA-A2 를 발현하는 정상 세포에 대한 모델	종양-외
	4	헬라	CD19	없음	재조합 CD19 를 발현하는 암 세포에 대한 모델	종양-상
		헬라	CD19	CD20	재조합 CD19; CD20 를 발현하는 정상 세포에 대한 모델	종양-외

		헬라	CD20	없음	내인성 CD20 를 발현하고 CD19 에 대해 음성인 정상 세포에 대한 모델	음성 대조군
3		헬라-루시페라제	HLA-A2	없음	살해 분석에 사용되는 음성 대조군	음성 대조군
		헬라-루시페라제	HLA-A2	CD19	재조합 CD19; HLA-A2 를 발현하는 정상 세포에 대한 모델 (살해 분석)	종양-외
	5	헬라-루시페라제	CD19	없음	재조합 CD19 를 발현하는 암 세포에 대한 모델 (살해 분석)	종양-상

[0842]

		헬라-루시페라제	CD19	CD20	재조합 CD19; CD20 를 발현하는 정상 세포에 대한 모델 (살해 분석)	종양-외
		헬라-루시페라제	CD20	없음	음성 대조군 (살해 분석)	음성 대조군

[0843]

[0844] **분석-**

[0845] iCAR의 억제 효과는 시험관내 및 생체내 모두에서 시험된다.

[0846] 시험관내 분석에서, 본 발명자들은 사이토카인 분비 및 세포독성 효과 측정에 중점을 두었으며, 생체내에서는, '표적-상 종양-외' 이종 이식편에 대한 iCAR 억제 및 보호를 평가하였다. 본 발명자들은, 리포터 유전자를 사용하여 T-세포를 iCAR/aCAR 이중 양성으로 분류함으로써, iCAR이 결여된 T-세포가 결과를 오염시키는 것을 제한하였다. iCAR 차단 활성에 대한 음성 대조군으로서, scFv 도메인이 결여된 CAR로 형질도입된 (즉, 모의 형질도입) T-세포를 사용할 수 있다.

[0847] **실시예 8. 시험관내 분석**

[0848] **루시페라제 세포독성 T 림프구 (CTL) 분석**

[0849] 반딧불이 루시페라제 및 하나 또는 2개의 CAR 표적 항원을 발현하도록 조작된 전술된 Hela-Luc 재조합 표적 세포를 사용하여 분석을 수행한다. 시험관내 루시페라제 분석은 Bright-Glo 루시페라제 분석 제조사 프로토콜 (Promega) 및 판독값으로서의 생물 발광에 따라 수행한다.

[0850] T-세포 (iCAR 및 pCAR 둘 모두 또는 iCAR 및 aCAR 또는 aCAR 또는 모의 CAR로 형질도입됨)는 HLA-A2, CD19, 또는 CD19 및 HLA-A2 둘 모두, 또는 CD20, 또는 CD20 및 CD19 둘 모두를 발현하는 재조합 표적 세포와 함께 상이한 효과기 대 표적 비로 24-48시간 동안 배양된다. 세포 살해는 Bright-Glo 루시페라제 시스템을 사용하여 정량한다.

[0851] '종양-외' 세포독성은, iCAR/aCAR 발현 수준에 따라 형질도입된 T 세포 집단을 분류하거나, 또는 이들의 CD19, HLA-A2 또는 CD20 발현 수준에 따라 재조합 표적 세포의 하위 집단을 선택함으로써, 최적화한다. iCAR 형질도입된 T-세포가 시험관내에서 '종양-상' 과 '종양-외' 세포를 구별할 수 있는지 여부를 시험하기 위해, 1:1 이상의 비로 '종양-상'과 '종양-외'의 혼합물과 함께 배양된 형질도입된 T-세포의 살해 효과를 시험한다. '종양-상' 재조합 세포는 루시페라제 발현에 의해 "종양-외" 재조합 세포와 구별된다 (하나의 세포 집단만이 특정시간에 루시페라제 유전자를 발현하도록 조작됨). 24-48시간의 공동 배양 후 살해를 정량한다.

[0852] **카스파제 3 활성 분석 - 항-활성화된 카스파제 3 (CASP3)에 의한 CTL 유도된 세포자멸사의 검출.**

[0853] 세포독성 T-세포가 표적 세포를 살해하는 경로 중 하나는 Fas 리간드를 통해 세포자멸사를 유도하는 것이다. 카스파제의 순차적 활성화는 세포자멸사의 실행 단계에서 중요한 역할을 한다. 프로-카스파제 3에서 카스파제 3으로의 절단은 형태적 변화 및 촉매 활성의 발현을 초래한다. 카스파제 3의 절단된 활성화 형태는 단일클론 항체에 의해 특이적으로 인식될 수 있다.

[0854] 형질도입된 T-세포는, CFSE 또는 다른 세포 추적 염료 (예를 들어, CellTrace Violet)로 이전에 표지된 '종양-상' 또는 '종양-외' 재조합 세포와 함께 2-4시간 동안 공동 배양된다. 내부 염색 키트 (예를 들어 Miltenyi 또는 BD bioscience)에 의한 세포 투과화 및 고정 후, 활성화된 CASP3는 특정 항체 염색 (BD bioscience)에 의해 검출되고, 세포자멸사 표적 세포는 유세포 분석에 의해 검출되고 정량된다.

[0855] **시간 경과 현미경 CTL**

[0856] 형질도입된 T 세포를 '종양-상' 또는 '종양-외' 세포와 함께 최대 5일 동안 배양한다. 시간 경과 현미경을 사용하여 살해를 시각화한다. 대안적으로, 종점 시점에서의 표적 세포 수를 측정하기 위해 생존가능한 세포 수 염색 및 CountBright 비드 (Invitrogen)를 사용한 유세포 분석을 수행한다.

[0857] 시험관내에서 표적을 식별함에 있어서의 aCAR/iCAR 형질도입된 T 세포의 효력을 입증하기 위해, 각각의 재조합 표적 세포 ('종양-상' 또는 '종양-외')를 상이한 리포터 단백질 (예를 들어 GFP 및 mCherry)로 표지한다. 하나 또는 2개의 표적 항원 (표적 세포)을 발현하는 재조합 세포의 혼합물과 함께 형질도입된 T-세포 (효과기 세포)를 상이한 E/T 비율로 공동 배양한다. 각 세포주의 운명을 현미경 이미징으로 관찰한다.

[0858] **사이토카인 방출**

[0859] T-세포 활성화시, 세포는 사이토카인을 분비하고, 이는 T-세포 활성화 및 억제를 평가하기 위해 정량되고 사용될 수 있다. 사이토카인은 세포내에서 유세포 분석에 의해 또는 ELISA 또는 세포질 비드 어레이 (CBA)에 의한 배지 내의 분비된 단백질의 측정에 의해 검출될 수 있다.

[0860] **ELISA에 의한 분비된 사이토카인의 정량**

[0861] iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR 및 iCAR 둘 모두를 발현하는 형질도입된 T-세포 (저캇 또는 1차 T-세포)와 iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR 및 iCAR 항원 둘 모두를 세포 표면에 발현하는 변형된 표적 세포의 공동 배양 후, 조정 배지를 수집하고, 사이토카인 ELISA (제조사 지침 (예를 들어 BioLegened 또는 이와 유사한 것)에 따라 IL-2, INFɣ 및/또는 TNFα) 및 세포질 비드 어레이 (Miltenyi 또는 이와 유사한 것)에 의해 사이토카인의 농도를 측정한다.

[0862] **IL-2 ELISA에 의해 측정된 iCAR 특이적 억제**

[0863] 도 16a에 도시된 바와 같이, 저캇 CD19 aCAR 및 저캇 CD19 aCAR/HLA-A2 iCAR 효과기 세포를 라지, 라지-HLA-A2 및 Thp1 표적 세포와 공동 배양하고, ELISA에 의한 IL-2 측정을 위해 상응하는 상층액을 수집하였다. CD19를 발현하는 라지 표적 세포 ('종양')와 저캇 CD19-aCAR/HLA-A2-iCAR의 배양은 IL-2 분비를 나타내었지만, CD19 및 HLA-A2 둘 모두를 발현하는 라지-HLA-A2 표적 세포 ('종양-외')와 이들 효과기 세포의 배양은 80% 초과의 IL-2 분비 억제를 초래하였다. 반대로, CD19 aCAR 저캇 세포를 라지 또는 라지-HLA-A2 표적 세포와 함께 배양한 경우 IL-2 분비는 영향을 받지 않았다 (도 16b). 이 결과는, 하기에 기술된 NFAT 활성화 분석과 함께, 상기 iCAR 구조체가 종양 세포에서 발현되지 않는 항원을 발현하는 정상 세포를 특이적으로 보호하는 효능을 나타낸다.

[0864] **유세포 분석에 의한 사이토카인 방출의 정량**

[0865] 사이토카인 세포내 축적을 가능하게 하기 위해, 세포 표면에 iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR 및 iCAR 표적 항원 둘 모두를 발현하는 재조합 표적 세포와 함께 6-24시간 동안 공동 배양된, iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR 및 iCAR 둘 모두를 발현하는 형질도입된 T-세포 (저캇 또는 1차 T-세포)에 골지 수송 차단자 (예를 들어, 브레펠딘 A, 모넨신)를 적용한다. 이어서, T-세포를 내부 염색 키트 (예를 들어 Miltenyi)에 의해 투과화 및 고정시키고, 항 CD3 및 CD8로, IL-2 및/또는 INFɣ 및/또는 TNFα에 대해 염색한다.

[0866] **세포 계측 비드 어레이 (Cytometric Bead Array (CBA)) 분석에 의해 측정된 사이토카인 분비**

[0867] 세포 계측 비드 어레이 (CBA)는 사이토카인, 케모카인 및 성장 인자를 비롯한 다양한 가용성 세포내 단백질을 측정하는데 사용된다.

[0868] 세포 표면 상에 iCAR 및 aCAR 둘 모두 또는 aCAR 또는 iCAR 표적 항원을 발현하는 변형된 표적 세포로, aCAR 또는 aCAR 및 iCAR 구조체 (효과기 세포) 둘 모두로 형질 도입된 T-세포 (1차 T-세포 또는 저캇 세포)를 자극한다 (도 17a). 수시간의 공동 배양 후 효과기 세포는 효과기 상태를 나타내는 사이토카인을 생산하고 분비한다. 반응 상층액을 수집하고, 분비된 IL-2를 다중 CBA 분석에 의해 측정하고 정량하였다.

[0869] 도 17b에 도시된 바와 같이, 두 표적 항원 모두를 발현하는 표적 세포와 공동 배양된 aCAR/iCAR 형질도입된 저캇 T 세포에 대해, IL-2 분비의 특이적 억제가 입증되었다. 이중 CAR (aCAR/iCAR) 형질도입된 세포가 두 표적 항원 모두를 발현하는 표적 세포와 공동 배양된 경우, 동일한 효과기 세포와 하나의 표적만을 발현하는 표적 세포의 공동 배양으로부터 생성된 IL-2 분비와 비교하여, IL-2 분비에 있어 86%의 감소가 나타났다.

[0870] **NFAT 활성화 분석**

[0871] NFAT 활성화에 의해 측정된 T-세포 활성화의 측정을 위해, 표 12에 상술된 바와 같이, 저캇-NFAT 세포를 aCAR 및 iCAR의 상이한 조합으로 형질도입하였다. 표 13에 기술된 바와 같이, CD19 aCAR, HLA-A2 iCAR 또는 둘 모두를 발현하는 효과기 저캇-NFAT 세포주를 CD19 (라지 세포-'표적-상') CD19 및 HLA-A2 (라지-HLA-A2 '종양-외') 둘 모두 또는 HLA-A2 (Thp1 '종양-외')와 공동 배양하였다. 양성 대조군으로서, NFAT 신호전달에 필요한 칼슘 방출을 유발하는 PMA 및 이오노마이신의 존재하에 효과기 세포를 자극하였다. 16시간의 37℃ 배양 후, 제조사의 지시에 따라 BPS Biosciences 키트인 "One step luciferase assay system"을 이용하여 루시페라제를 정량하였다. 예측한 바와 같이, CD19-CAR 구조체를 발현하는 저캇 NFAT 세포주는 CD19를 발현하는 라지 세포주의 존재하에 특이적으로 활성화된 반면, CD19를 발현하지 않는 Thp1 세포주와 이들 세포를 공동 배양한 경우, 활성화가 나타나지 않았다 (도 18).

[0872] CD19 aCAR 유도된 NFAT 활성화에 대한 HLA-A2 iCAR의 억제 효과는 도 21에서 확인할 수 있다. CD19 aCAR 및 HLA-A2 iCAR 둘 모두를 발현하는 저캇-NFAT-세포주는, CD19 및 HLA-A2를 발현하는 라지-HLA-A2와 공동 배양된 경우, CD19만을 발현하는 라지 세포에 의해 유도된 활성화와 비교하여 특이적으로 억제되었다. 대조적으로, CD19-CAR만을 발현하는 저캇-NFAT 세포주는 라지 및 라지-A2 세포주 둘 모두에 의해 유사하게 활성화되었다. 이들 조건에서, NFAT 활성화 억제는 약 30%로 계산되었다 (도 19).

[0873] 상이한 E/T 비의 효과를 시험하였다. 10:1, 5:1, 1:1의 E/T 비로 분석을 여러 번 반복하였다. 도 20에 제시된 결과는 더 높은 E/T 비에서 증가된 억제 효과가 얻어질 수 있음을 나타낸다. 결과는 '종양-외' 표적 세포와 각

각의 효과기 세포주의 공동 배양으로부터의 평균 발광 값 대 '표적-상' 제시 세포와의 공동 배양으로부터의 평균 값의 비로서 제시된다. 나타난 바와 같이, CD19 aCAR 및 HLA-A2 둘 모두를 발현하는 저캇-NFAT-세포주는, CD19 및 HLA-A2 단백질을 발현하는 라지-HLA-A2와 공동 배양된 경우 특이적으로 억제되었지만, 이 세포주가 CD19만을 발현하는 라지 세포주와 함께 공동 배양된 경우에는 억제가 검출되지 않았다. 반대로, CD19 aCAR을 발현하는 저캇-NFAT 세포주는, 공동 배양된 CD19 발현 표적 세포주 (라지 또는 라지-HLA-A2)와 관계없이 동일하게 활성화되었다.

[0874] **CD107a 염색에 의해 측정된 T-세포 탈과립 분석**

[0875] T 세포의 탈과립화는 리소좀 관련 막 단백질 (LAMP-1) 인 CD107a의 표면 발현에 의해 식별될 수 있다. LAMP-1의 표면 발현은 CD8 T 세포 세포독성과 상관 관계가 있는 것으로 나타났다. 이 분자는 리소좀의 내강 측에 위치한다. 활성화시, CD107a는 활성화된 림프구의 세포막 표면으로 전달된다. CD107a는 세포 표면에서 일시적으로 발현되고 식작용 경로를 통해 신속하게 재내재화된다. 따라서, CD107a 검출은 세포 자극 동안의 항체 염색 및 모넨신의 첨가 (세포 이물 흡수된 CD107a 항체 복합체의 산성화 및 후속 분해를 방지하기 위함임)에 의해 최대화된다.

[0876] 형질도입된 T 세포는 모넨신의 존재하에 표적 세포와 함께 6-24시간 동안 배양되고, CD8 T 세포 상에서의 CD107a 발현이 T 세포 표면 마커 (CD3, CD8)에 대한 접합된 항체 및 CD107a에 대한 접합된 항체를 사용하여 유세포 측정에 의해 측정된다.

[0877] 살해 가능성에 대한 마커로서의 과립화 (CD107a). 세포용해 T 세포의 가장 중요한 기능은 표적 세포를 살해하는 능력이다. 세포독성 CD8+ T 림프구는 두 가지 주요 경로, 즉 세포자멸사의 퍼포린-그랜자임-매개 활성화 및 세포자멸사의 fas-fas 리간드-매개 유도를 통해 표적 세포의 살해를 매개한다. 이들 경로의 유도는 반응하는 CD8+ T 세포로부터의 세포용해 과립의 방출에 의존한다. 탈과립은 퍼포린-그랜자임-매개 살해의 전제 조건이며, 반응하는 항원-특이적 CD8+ T 세포에 의해 매개되는 즉각적 용해 기능에 필요하다. 세포독성은 효과기 CD8+ T 세포에 의한 단백질의 데 노보 합성을 필요로 하지 않으며; 대신에, 세포질 내에 위치한 사전-형성된 용해 과립은 표적 세포를 향해 극성 방식으로 방출된다. 용해 과립은 퍼포린 및 그랜자임을 비롯한 다양한 단백질로 구성된 조밀한 코어를 포함하는 막-결합된 분비형 리소좀이다. 과립 코어는 CD107a (LAMP-1), CD107b (LAMP-2), 및 CD63 (LAMP-3)을 비롯한 많은 리소좀-관련 막 당단백질 (LAMP)을 포함하는 지질 이중층으로 둘러싸여 있다. 탈과립화 과정 동안, 용해 과립 막은 활성화된 CD8+ T 세포의 원형질 막과 병합되고, 이어서 과립의 내용물은 CD8+ T 세포와 표적 세포 사이의 면역학적 시냅스로 방출된다. 이 과정의 결과로, CD107a, CD107b 및 CD63 당단백질을 포함하는 과립 막이, 반응하는 CD8+ T 세포의 원형질 막에 통합된다. 콜히친과 같은 탈과립화 억제제가 CD107a 및 CD107b의 세포-표면 발현을 극적으로 감소시키기 때문에, 활성화된 T 세포의 세포 표면 상에서의 CD107a 및 CD107b의 고수준 발현은 탈과립을 필요로 한다. 중요하게도, 이들 단백질은 휴지 T 림프구의 표면에서는 거의 발견되지 않는다. 따라서, 반응하는 세포를 CD107a 및 CD107b에 대한 항체로 표지하고 유세포 분석에 의해 이들의 발현을 측정하면 CD8+ T 세포의 탈과립화를 직접 식별할 수 있다 (문헌 [Betts and Koup, 2004]).

[0878] 실험 설정:

[0879] iCAR+aCAR/aCAR 구조체로 형질도입된 PBMC (효과기 세포)를 PMA+이오노마이신 (양성 대조군) 또는 세포 표면에 iCAR+aCAR/ aCAR/ iCAR 항원을 발현하는 변형된 표적 세포로 자극한다. 수시간의 공동 배양 동안, 효과기 세포는 탈과립화되고, CD107a가 세포 표면에서 검출될 수 있다. 이 발현은 일시적이며 CD107a는 식작용 경로를 통해 신속하게 재내재화된다. 따라서, CD107a 검출은 세포 자극 동안의 항체 염색 및 모넨신의 첨가 (세포 이물 흡수된 CD107a 항체 복합체의 산성화 및 후속 분해를 방지하기 위함임)에 의해 최대화된다. 최적의 사이토카인 발현을 위해서는 BFA가 요구된다.

[0880] **실시예 9. 생체내 모델**

[0881] **인간 이종 이식 마우스 모델에서의 생체내 CTL 분석**

[0882] aCAR 및 iCAR 구조체 둘 모두를 발현하는 T-세포가 동일한 유기체 내에서 표적 세포와 '표적-외' 세포를 구별하고 '표적-외' 세포를 살리면서 표적 세포를 효과적으로 살해할 수 있는지 여부에 대한 시험이 생체내 CTL 분석에 의해 평가된다.

[0883] iCAR 또는 aCAR 또는 iCAR 및 aCAR 둘 모두를 갖는 형질도입된 T 세포를 천연 NOD/SCID/γc- 또는 유사한 마우스에 i.v. 주사한다. 수시간 후에, iCAR, aCAR 또는 둘 모두를 발현하는 표적 세포를 주사한다. 이들 표적은 CFSE/CPDE 또는 유사한 세포 추적 염료로 상이한 농도 (고, 중, 저)로 표지되며, 이는 이들을 추가로 구별할 수

있게 한다. 표적 주사 후 18시간에, 마우스를 희생시키고, 비장을 수확하고, 특정 표적의 제거를 FACS에 의해 평가한다. 하기 방정식에 따라 특이적 살해 백분율을 계산한다:

[0884] $$\left\{1-\left[\left(\frac{\%pop_{high}(day1)}{\%pop_{high}(day0)}\right)\div\left(\frac{\%pop_{medium}(day1)}{\%pop_{medium}(day0)}\right)\right]\right\}\times 100$$

[0885] **인간 이종 이식 마우스 모델에서의 종양 성장 동역학**

[0886] NOD/SCID/γc- 또는 유사한 마우스에 종양 세포를 접종한다. 접종은 i.p/i.v. 또는 s.c일 수 있다. 상기 종양 세포는 iCAR 표적, aCAR 표적 또는 둘 모두를 발현한다. 가능한 aCAR 종양 세포주의 일례는 CD19 양성 NALM 6 (ATCC, 인간 BALL 세포주)일 수 있다. 상기 aCAR 및 iCAR 둘 모두를 발현하는 종양 세포 (즉, '종양-외' 세포)의 예는 iCAR 에피토프 (예를 들어, HLA-A2)를 발현하여 건강한 세포를 나타내도록 조작된 NALM 6이다. NALM 6 및 NALM 6-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예를 들어 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작될 수 있다. 표적 세포의 가능한 모든 조합으로 접종된 여러 연구군으로 마우스를 나눈다. 예로서, 한 군에는 NALM 6 세포를 주사하고 다른 군에는 iCAR 에피토프를 발현하는 NALM-6을 주사한다. 며칠 후, 종양이 이미 확립되었을 때, 마우스에 aCAR, 또는 aCAR/iCAR, 또는 iCAR로 형질도입된 T-세포를 정맥내 주입한다. 또한, 형질도입되지 않은 T-세포의 대조군, T-세포가 없는 대조군, 및 신호전달 도메인 없이 형질도입된 T-세포의 대조군이 포함된다. 종양이 실험 종점, 즉 최대 허용 종양 부피에 도달할 때까지 마우스를 모니터링한다. 기계적 수단 (캘리퍼)을 사용하여 종양 부피를 측정함으로써 및 생체내 이미징 시스템 (IVIS)을 사용함으로써 모니터링을 수행한다. 종점 날짜에, 마우스를 희생시키고, 종양 부담을 정량하고, 침윤성 T-세포 집단을 FACS에 의해 분석한다. iCAR 구조체를 발현하는 T-세포가 동일한 유기체 내에서 표적 세포와 '표적-외' 세포를 구별할 수 있는지를 시험하기 위해, 마우스에 몇 가지 비의 '종양-상'/ '종양-외' NALM-6 세포의 몇 가지 가능한 혼합물을 주사한 후, aCAR 단독 또는 aCAR 및 iCAR 둘 모두를 발현하는 형질도입된 T-세포를 주사한다. 마우스 희생시, 비장 및 골수에서의 '종양-상' 및 '종양-외' 세포의 존재를 2개의 마커, 즉 CD19 및 iCAR 에피토프에 대한 유세포 분석에 의해 분석한다.

[0887] **형질전환 마우스 모델에서의 독성 및 종양 성장 동역학**

[0888] 인간 aCAR 및 iCAR 표적을 발현하는 형질전환 마우스를 또한 사용하여 형질도입된 T-세포의 효능을 결정한다. 이들 설정하에서, 마우스는 완전한 기능성 면역계를 가지며, iCAR/aCAR 형질도입된 T-세포의 잠재적 독성이 평가될 수 있다. 상기 CAR 구조체는 인간 항원과 일치된 scFv를 포함하는 반면, 신호전달 도메인은 쥐 T-세포를 활성화 또는 억제하도록 변형된다. 이러한 모델의 일례는 인간 HLA-A2 분자만을 발현하는 HHD-HLA-A2 마우스인 반면 다른 모든 단백질은 단지 쥐이다. CD19 aCAR의 scFv는 이 경우 쥐 CD19 상동물에 대해 지시된다. HLA 분자가 결여된 인간 표적 세포 (예를 들어, LCL 721.221 세포 또는 C1R-neoATCC® CRL-2369™ 또는 이와 유사한 것)를 사용한다. 쥐 CD19를 발현하도록 표적을 변형한다. 이 시스템은 효능 및 독성 문제를 모니터링할 수 있게 한다.

[0889] **mAbs 생산**

[0890] 상이한 종양에서 식별된 여러 쌍의 보존된 대립유전자 변이체 및 상실된 대립유전자 변이체가 선택되며, 이들의 폴리펩티드 생성물은 mAb 생산 기술을 사용한 변이체 특이적 mAb의 생성에 적합하다. 후보 mAb의 판별력은 선택된 대립유전자를 발현하는 재조합 세포주에 대한 결합에 의해 측정되는, 이중 염색 및 유세포 분석 실험 또는 면역 조직 화학에 의해 분석된다.

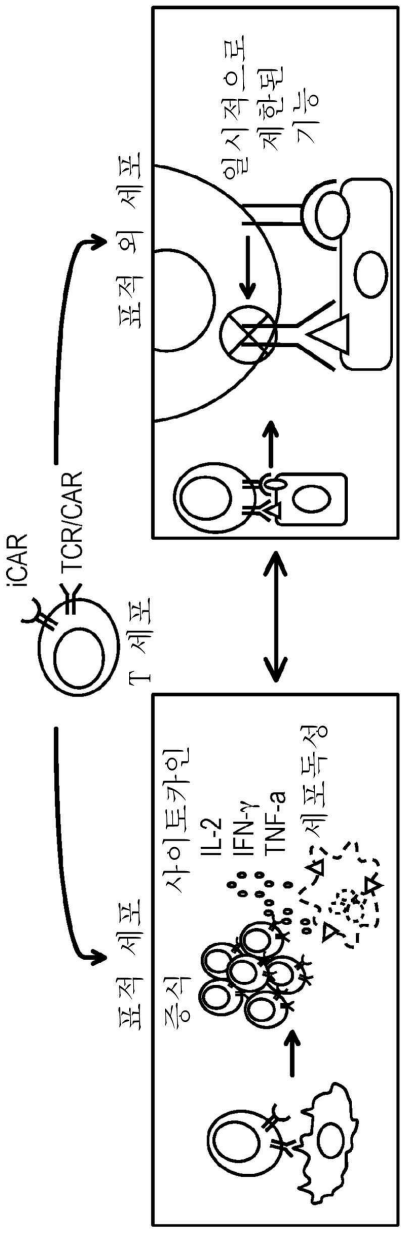
[0891] 모든 표제 및 섹션 지정은 명확성 및 참고 목적으로만 사용되며 어떤 방식으로든 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다. 예를 들어, 당업자라면 본원에 기술된 본 발명의 사상 및 범위에 따라 적절한 경우 상이한 표제 및 섹션으로부터의 다양한 측면을 조합하는 유용성을 이해할 것이다.

[0892] 본원에 인용된 모든 참고문헌은 각각의 개별적인 공보 또는 특허 또는 특허 출원이 모든 목적을 위해 그 전체 내용이 원용에 의해 포함되도록 구체적으로 및 개별적으로 지시된 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전체 내용이 원용에 의해 본원에 포함된다.

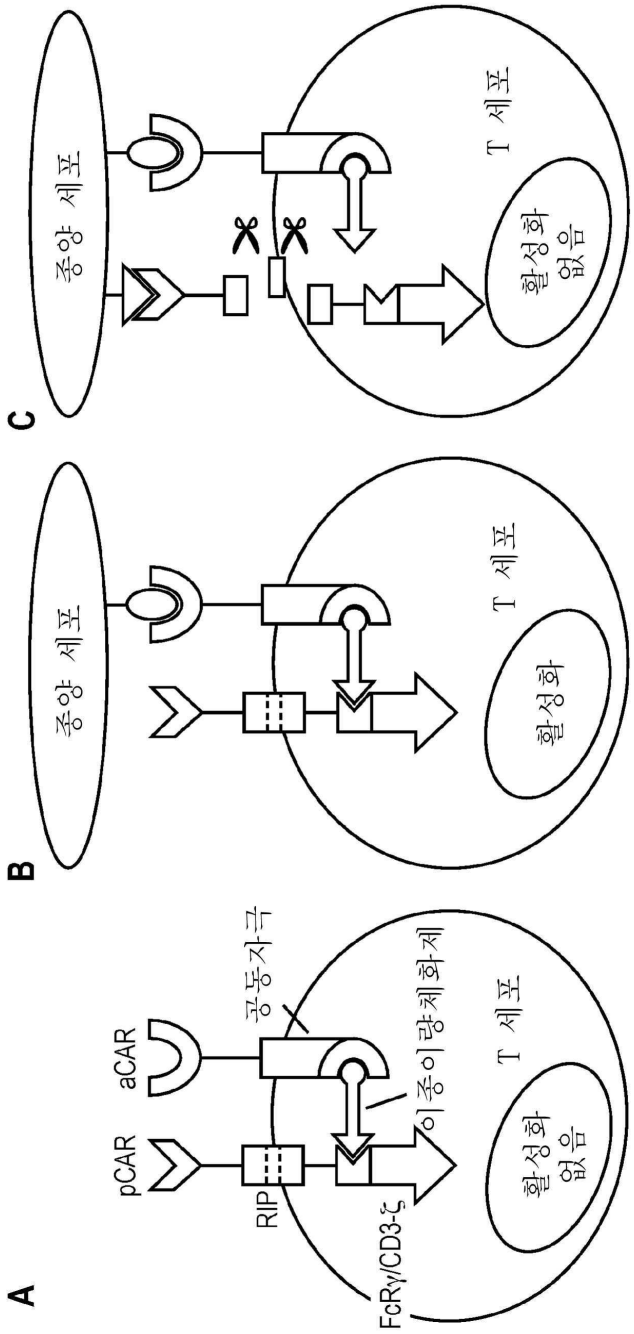
[0893] 당업자라면 자명할 바와 같이, 본원의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 본원에 대한 많은 변형 및 변화가 이루어질 수 있다. 본원에 기술된 특정한 구현예 및 실시예는 단지 예로서 제공되며, 본원은 청구범위에 의해 자격이 부여되는 등가물의 전체 범위와 함께 첨부된 청구범위의 조건에 의해서만 제한되어야 한다.

도면

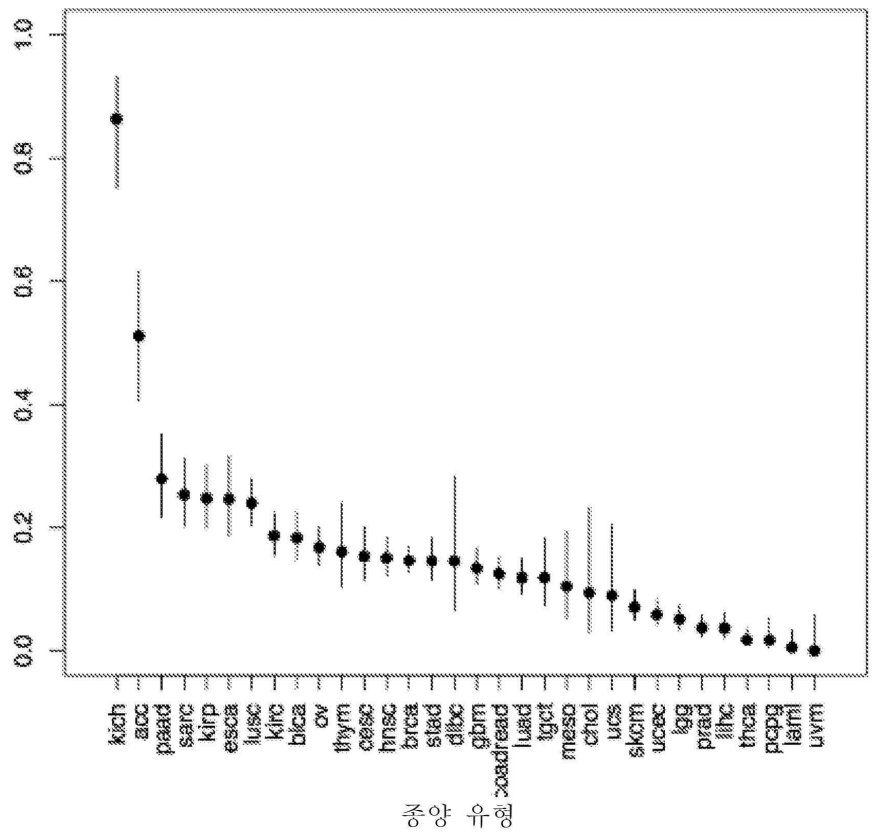
도면1


표적 세포
증식
사이토카인
IL-2
IFN-γ
TNF-a
세포독성
T 세포
iCAR
TCR/CAR
표적 외 세포
일시적으로
제한된
기능

도면2

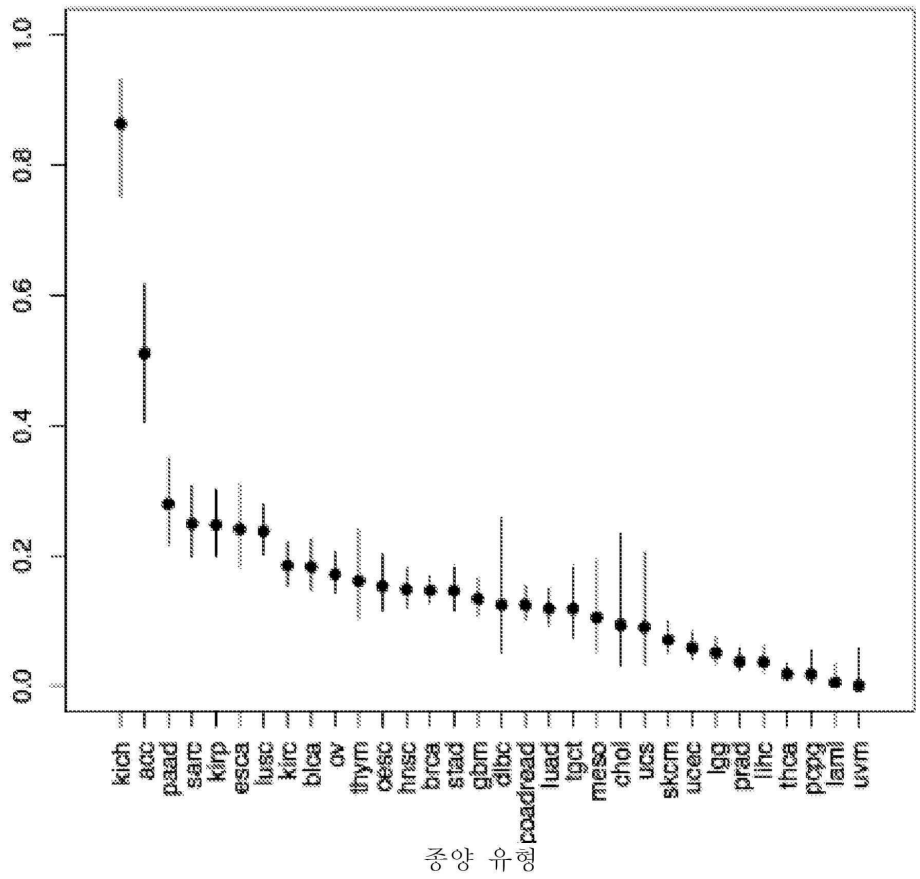

A
pCAR
aCAR
공동자극
RIP
이중이량체화제
FcRγ/CD3-ζ
T 세포
활성화
없음
B
종양 세포
T 세포
활성화
C
종양 세포
T 세포
활성화
없음

도면3a



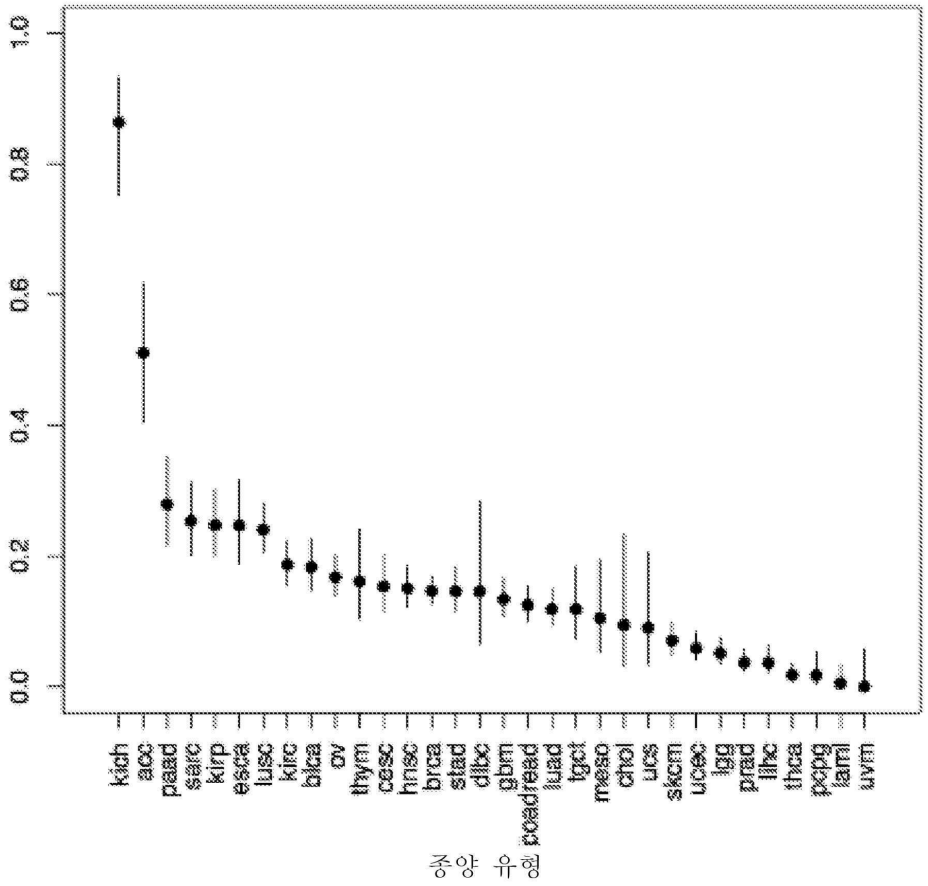
HLA-G(상류 유전자)

도면3b


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
kich
acc
paad
sarc
kirp
esca
lusc
kirc
blca
ov
thym
cesc
hnsc
brca
stad
gbm
dlbc
coadread
luad
tgct
meso
chol
ucs
skcm
ucec
lgg
prad
lihc
thca
pcpg
laml
uvm
종양 유형

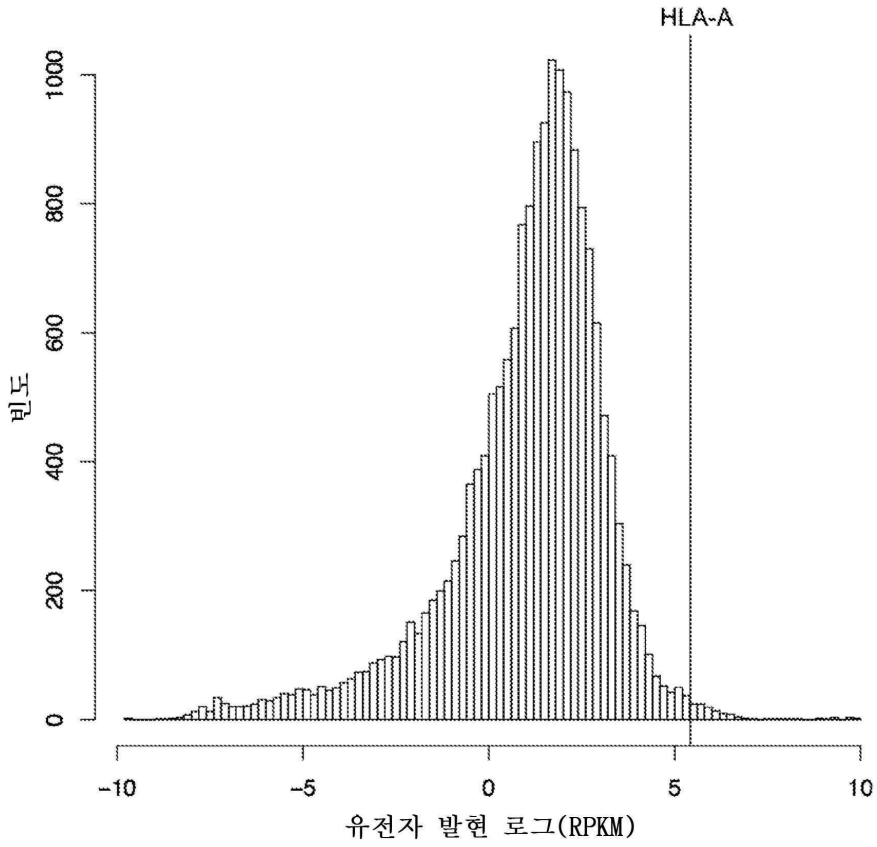
HLA-A

도면3c



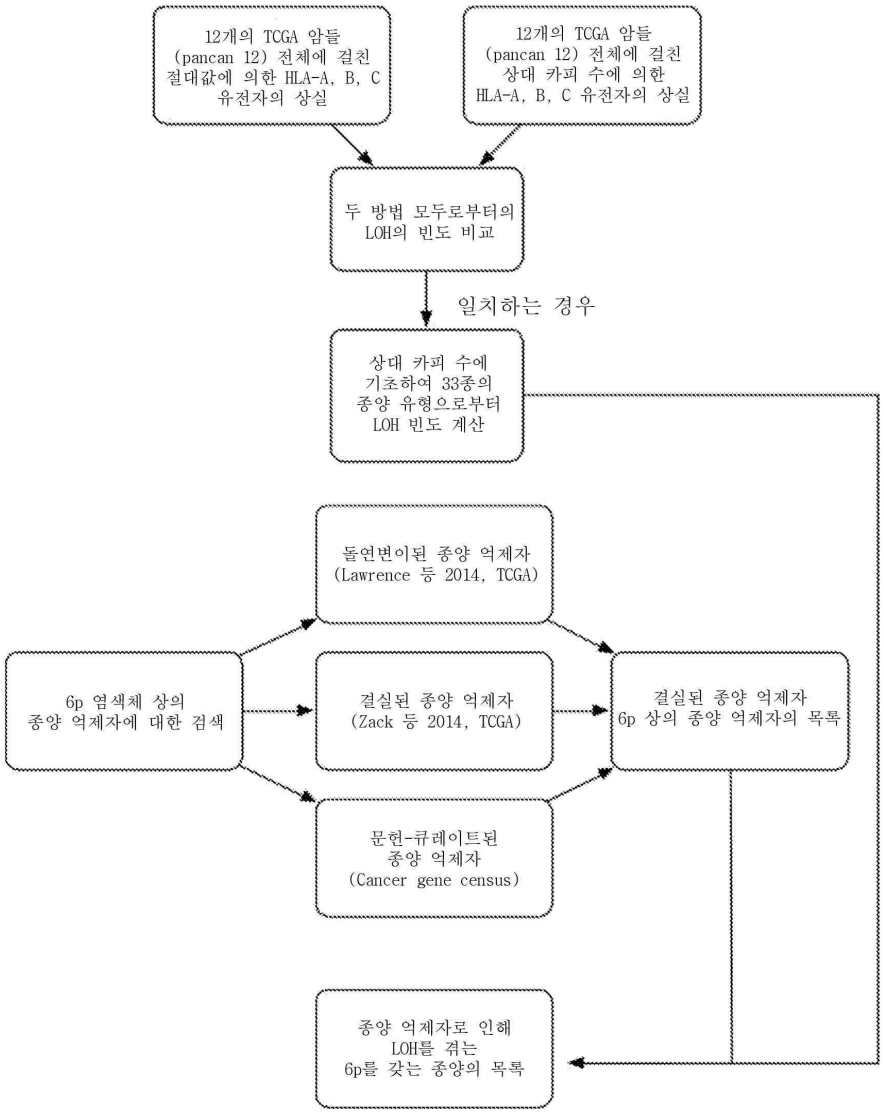
ZNRD1(하류 유전자)

도면4

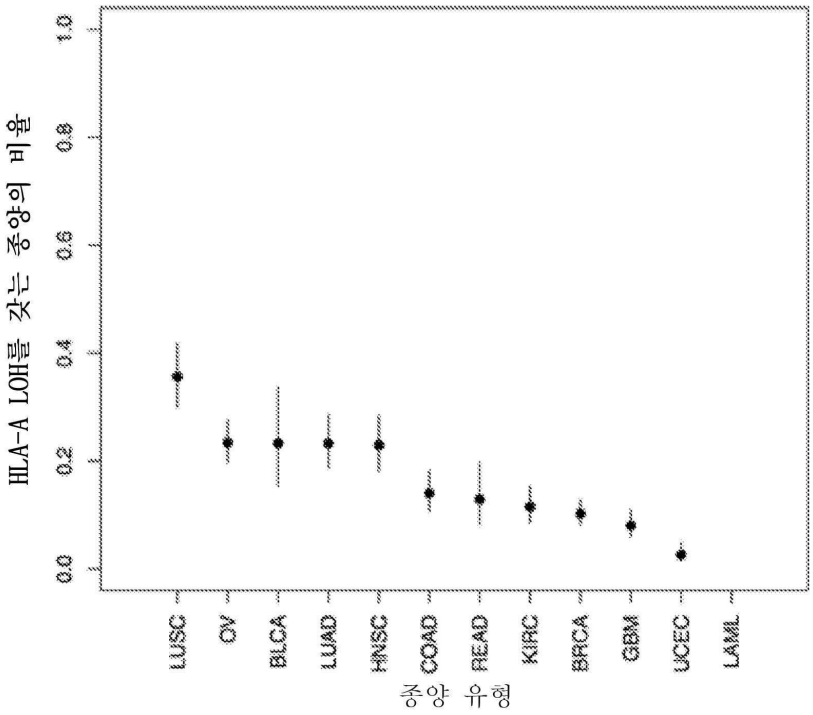


도면5

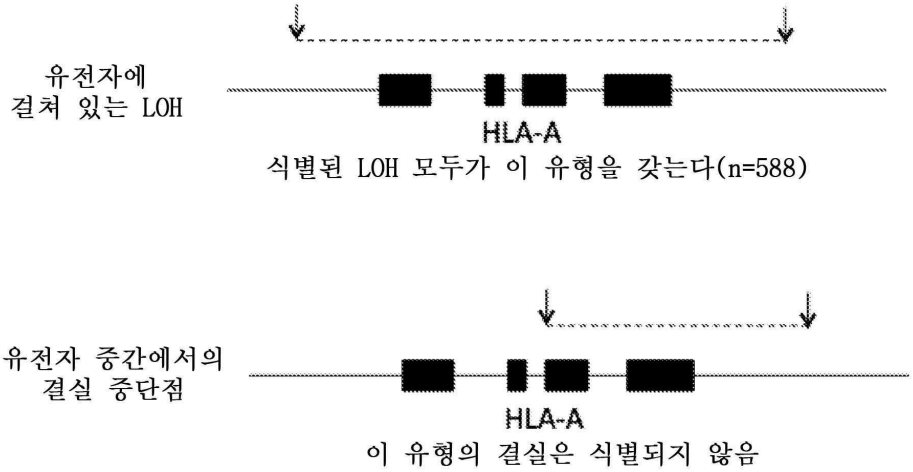
암들에서의 HLA 단백질의 이종접합성 상실



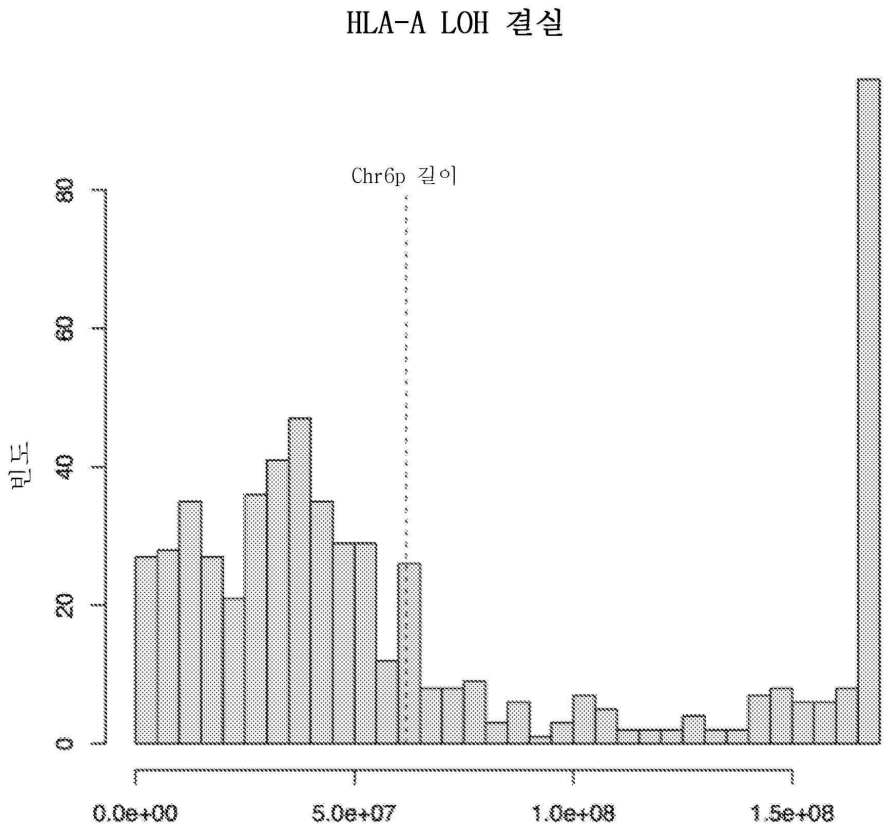
도면6


HLA-A LOH를 갖는 종양의 비율
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
LUSC
OV
BLCA
LUAD
HNSC
COAD
READ
KIRC
BRCA
GBM
UCEC
LAML
종양 유형

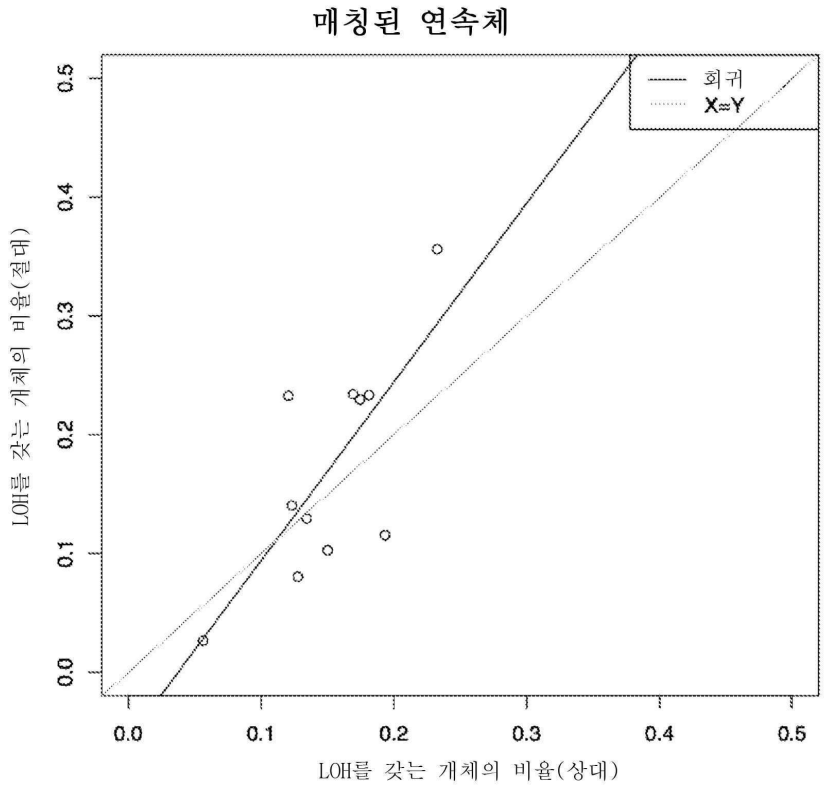
도면7


유전자에
걸쳐 있는 LOH
HLA-A
식별된 LOH 모두가 이 유형을 갖는다(n=588)
유전자 중간에서의
결실 중단점
HLA-A
이 유형의 결실은 식별되지 않음

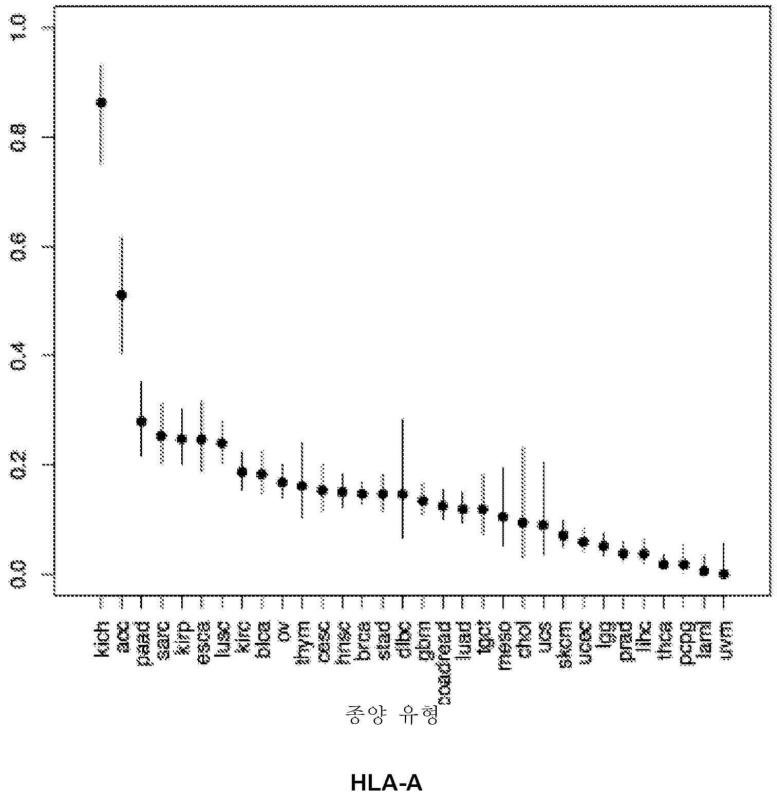
도면8


HLA-A LOH 결실
Chr6p 길이
빈도
0
20
40
60
80
0.0e+00
5.0e+07
1.0e+08
1.5e+08
HLA-A와 중첩되는 결실된 분절의 염기의 수

도면9

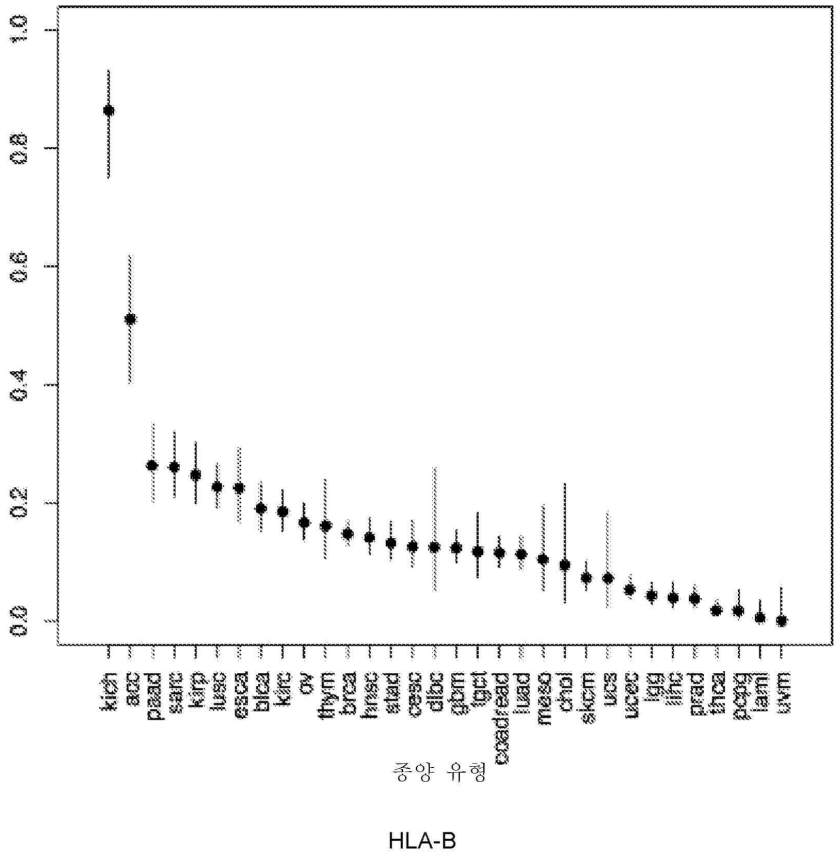


도면10a



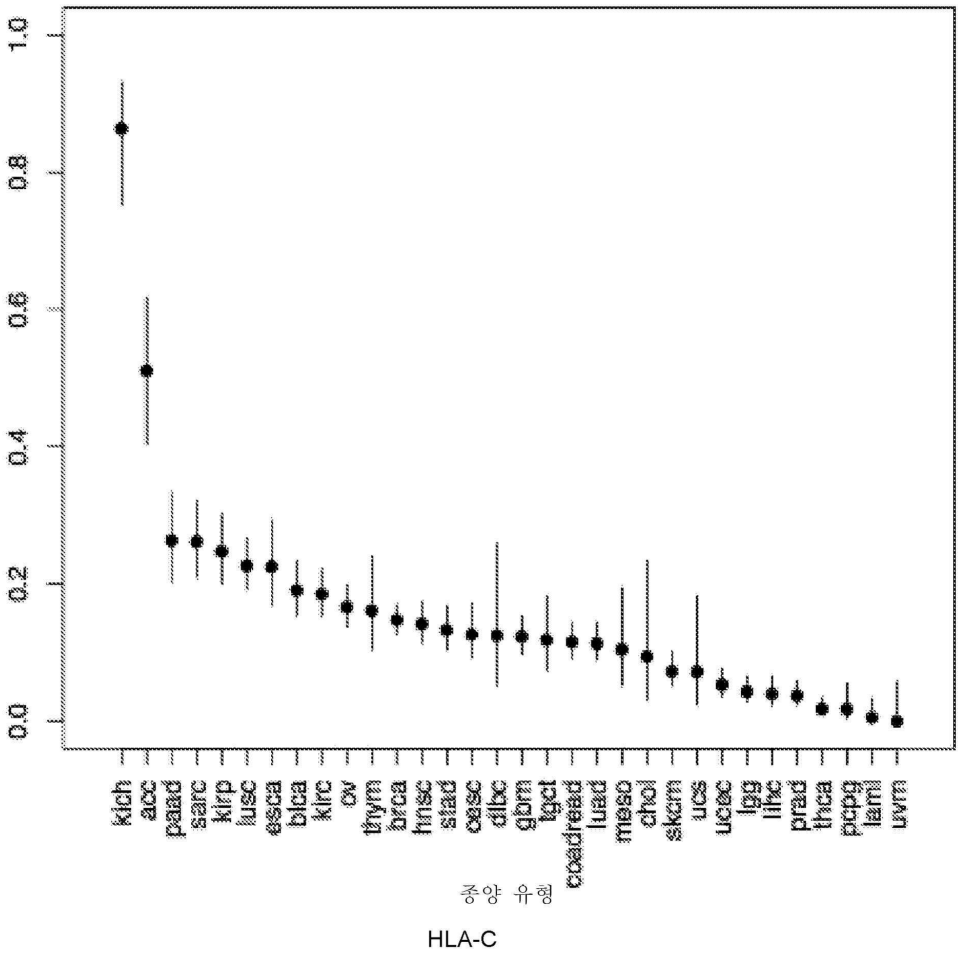
HLA-A

도면10b


1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
kich
acc
paad
sarc
kirp
lusc
esca
blca
kirc
ov
thym
brca
hnsc
stad
cesc
dlbc
gbm
tgct
coadread
luad
meso
chol
skcm
ucs
ucec
lgg
lihc
prad
thca
pcpg
laml
uvm
종양 유형

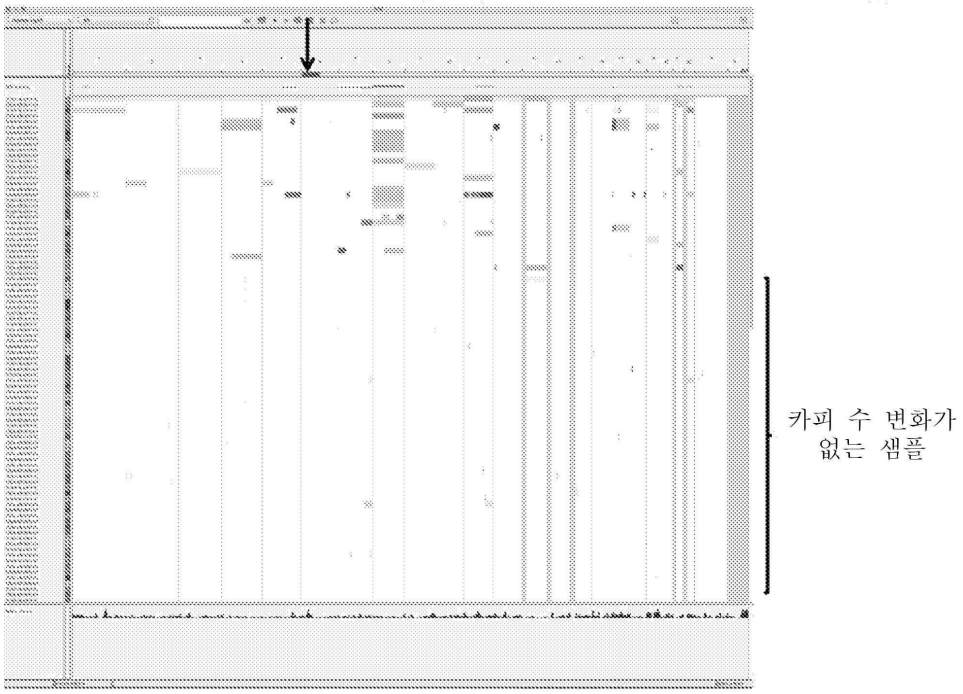
HLA-B

도면10c

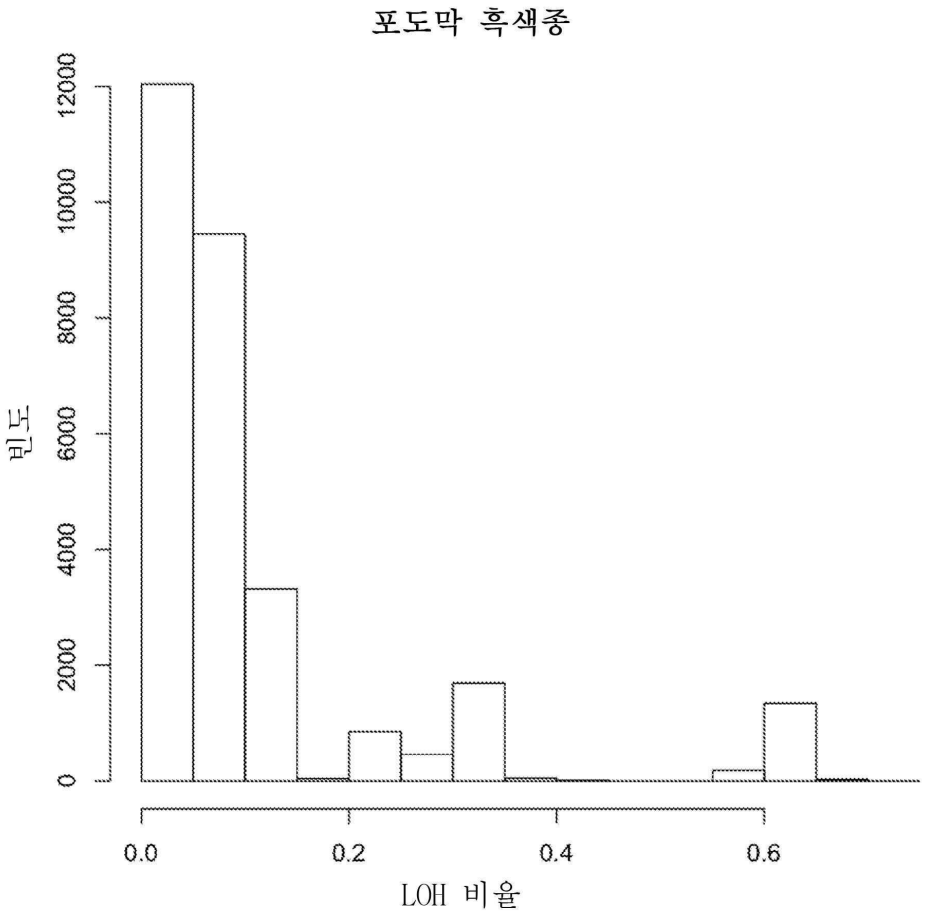


도면11

6p 염색체의 결실 없음 (결실을 위에 표시하도록 샘플을 정렬함)



도면12

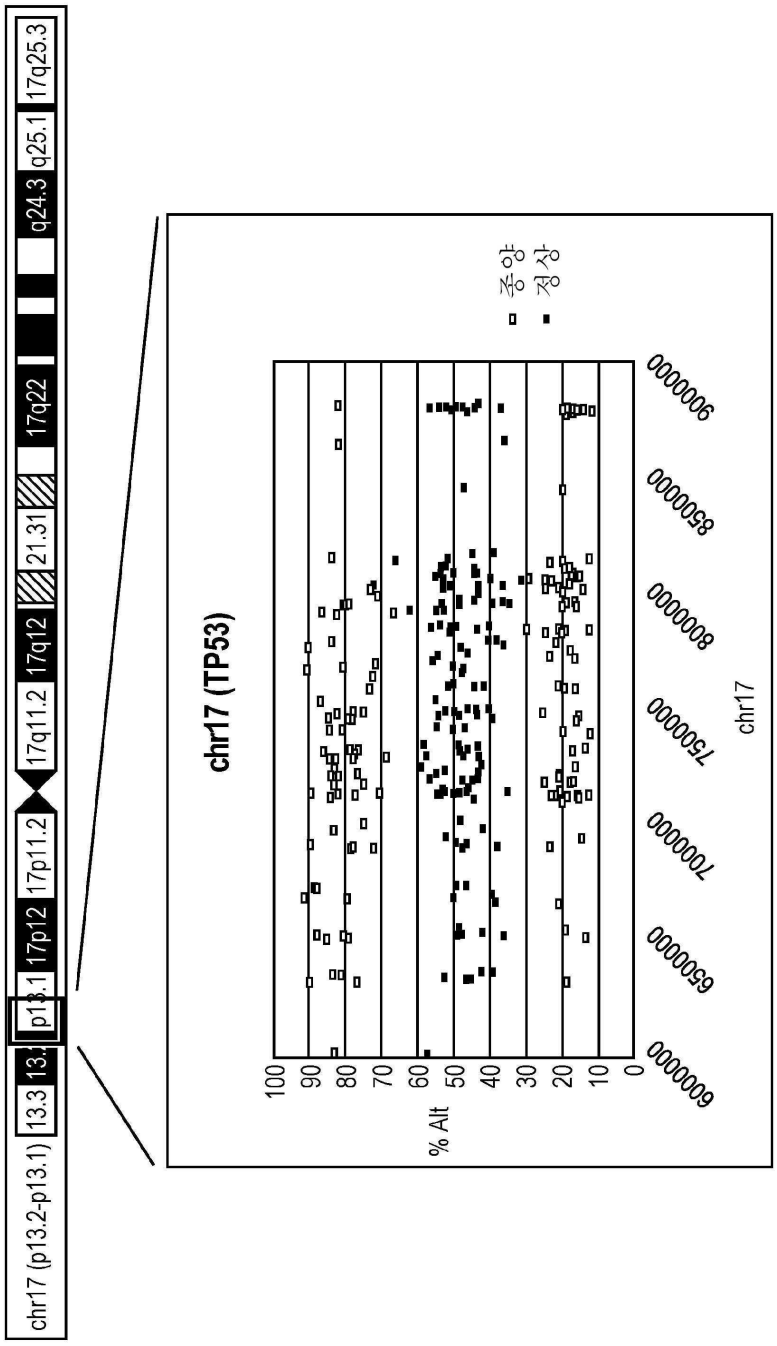


도면13

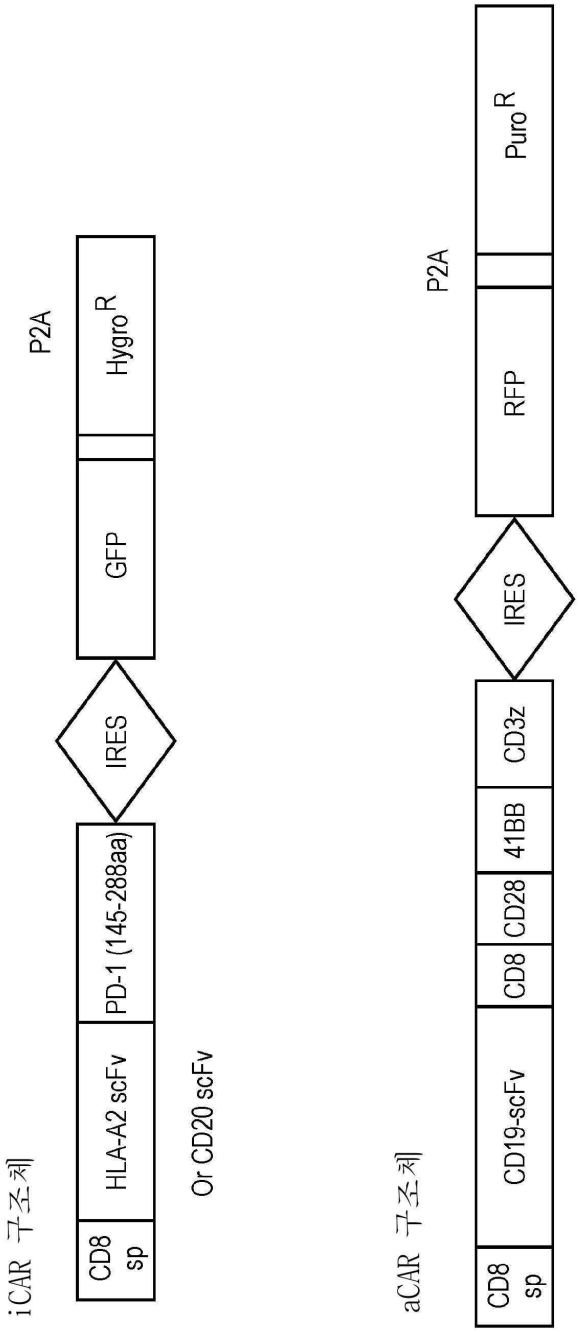
TCGA 연구 약어

연구 약어	연구 명칭
LAML	급성 골수성 백혈병
ACC	부신피질 암종
BLCA	방광 요로상피세포 암종
LGG	뇌 저등급 신경교종
BRCA	유방 침습성 암종
CESC	자궁경부 편평 세포 암종 및 자궁경내 선암종
CHOL	담관암종
LCML	만성 골수성 백혈병
COAD	결장 선암종
CNTL	대조군
ESCA	식도 암종
FPPP FFPE	파일럿 II상
GBM	다형 교모세포종
HNSC	두경부 편평 세포 암종
KICH	신장 비염색
KIRC	신장 투명 세포 암종
KIRP	신장 유두 세포 암종
LIHC	간세포 암종
LUAD	폐 선암종
LUSC	폐 편평 세포 암종
DLBC	림프성 종양 확산성 거대 B-세포 림프종
MESO	중피종
MISC	기타
OV	난소 장액 낭선암종
PAAD	췌장 선암종
PCPG	크롬친화세포종 및 부신경절종
PRAD	전립선 선암종
READ	직장 선암종
SARC	육종
SKCM	피부 흑색종
STAD	위 선암종
TGCT	고환 생식 세포 종양
THYM	흉선종
THCA	갑상선 암종
UCS	자궁 암육종
UCEC	자궁 체부 자궁내막 암종
UVM	포도막 흑색종

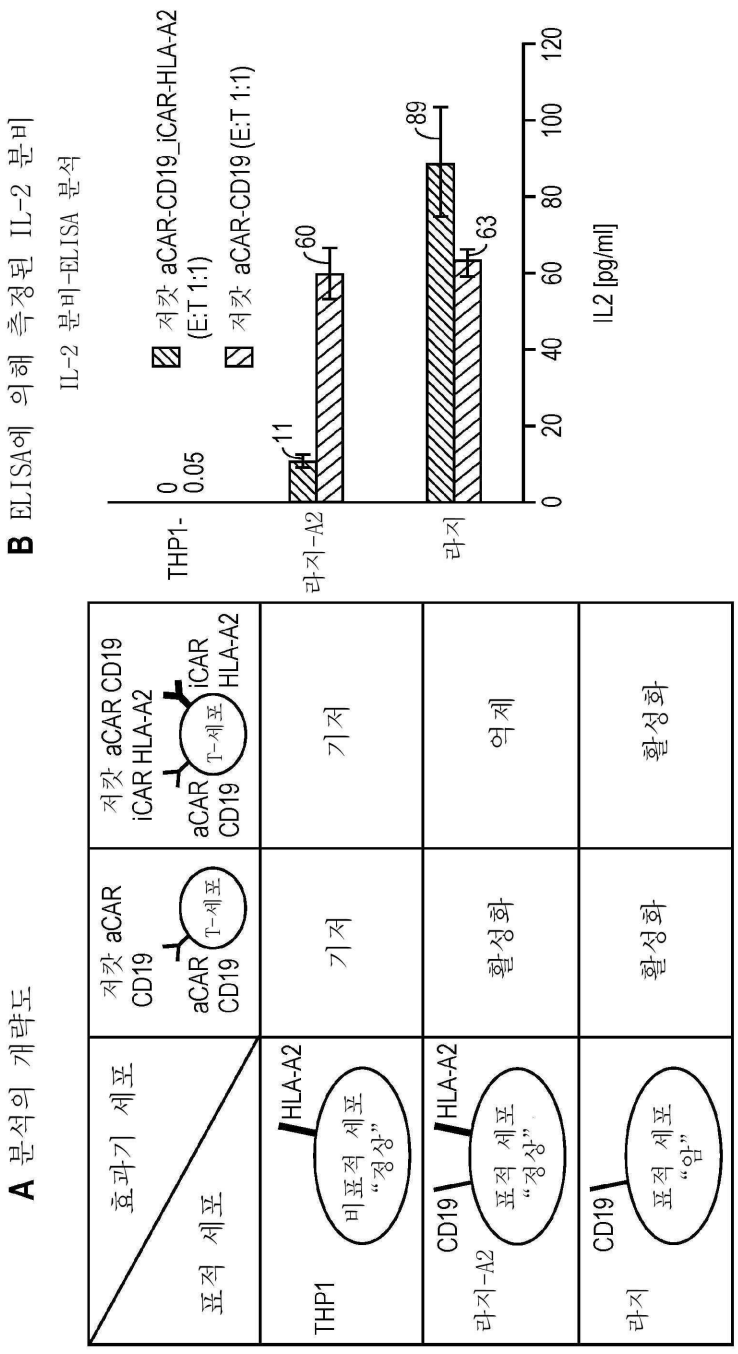
도면14


chr17 (p13.2-p13.1)
13.3
13.2
p13.1
17p12
17p11.2
17q11.2
17q12
21.31
17q22
q24.3
q25.1
17q25.3
chr17 (TP53)
종양
정상
% Alt
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
7600000
7650000
7700000
7750000
7800000
7850000
7900000
chr17

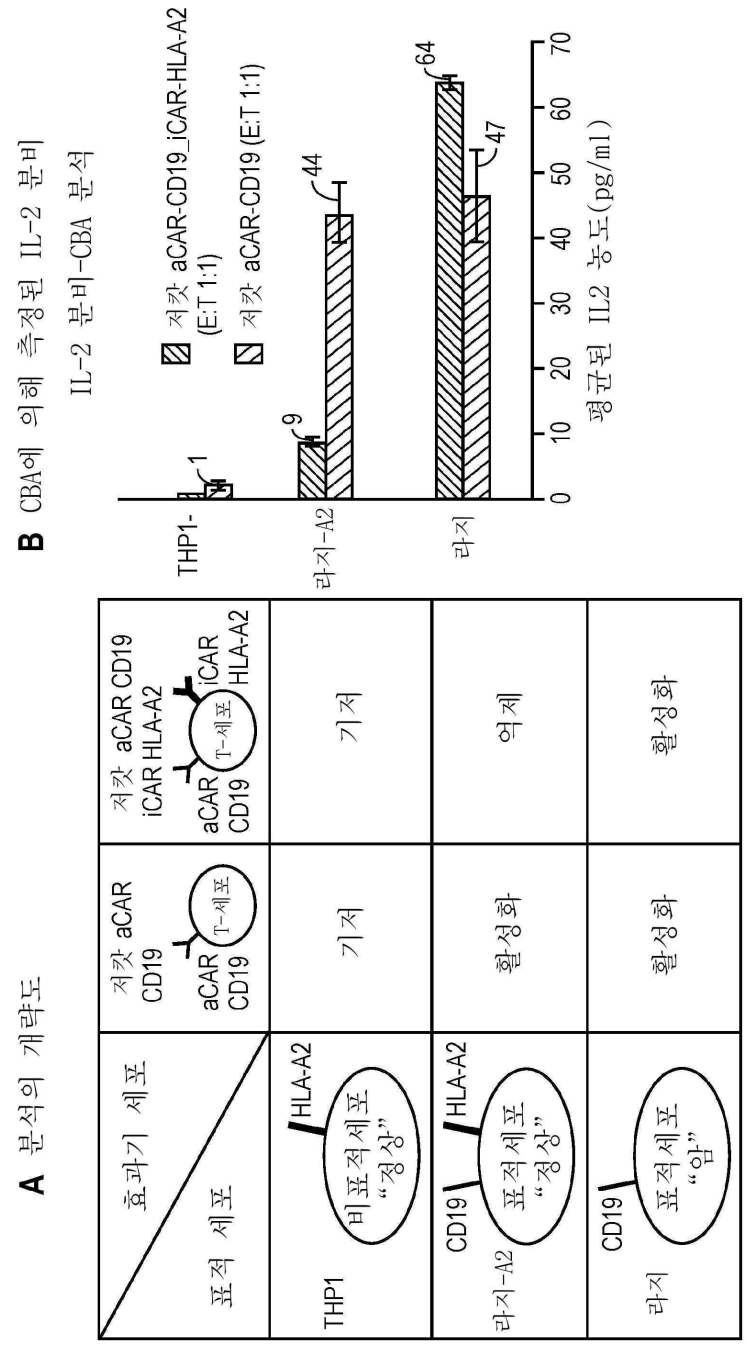
도면15


iCAR 구조체
CD8 sp
HLA-A2 scFv
PD-1 (145-288aa)
Or CD20 scFv
IRES
GFP
P2A
Hygro^R
aCAR 구조체
CD8 sp
CD19-scFv
CD8
CD28
41BB
CD3z
IRES
RFP
P2A
Puro^R

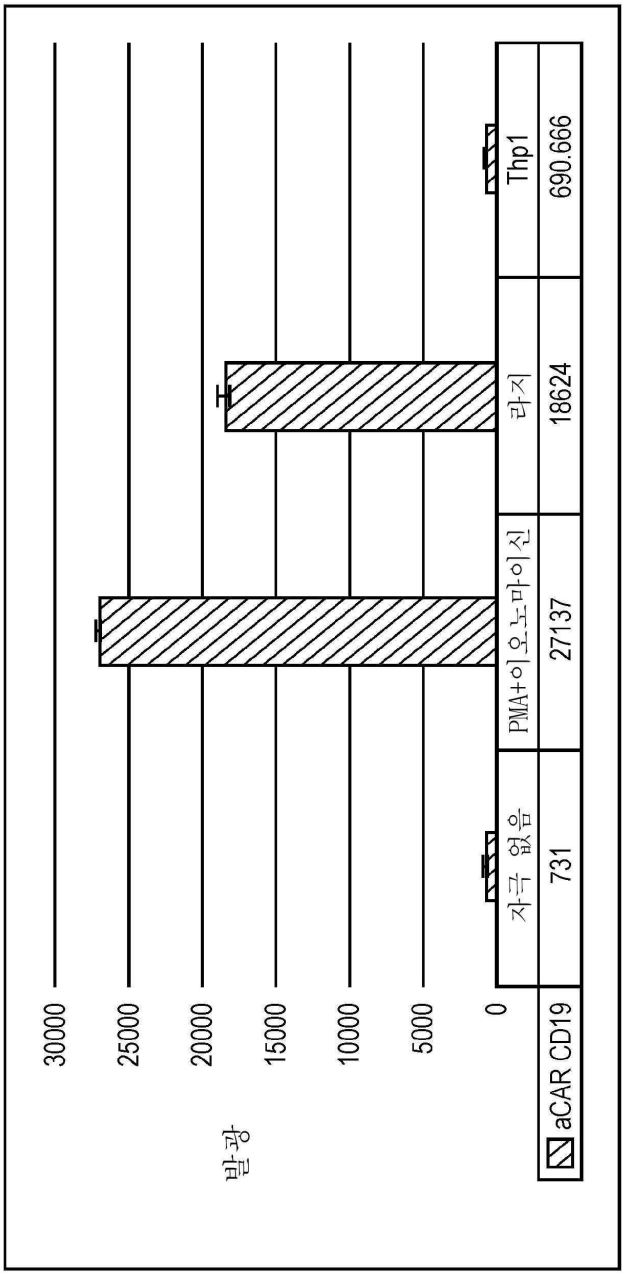
도면16


A 분석의 개략도
효과기 세포
표적 세포
저캇 aCAR CD19
aCAR CD19
T-세포
저캇 aCAR CD19 iCAR HLA-A2
aCAR CD19
iCAR HLA-A2
THP1
HLA-A2
비표적 세포 "정상"
기저
기저
라지-A2
CD19
HLA-A2
표적 세포 "정상"
활성화
억제
라지
CD19
표적 세포 "암"
활성화
활성화
B ELISA에 의해 측정된 IL-2 분비
IL-2 분비-ELISA 분석
저캇 aCAR-CD19_iCAR-HLA-A2 (E:T 1:1)
저캇 aCAR-CD19 (E:T 1:1)
THP1-
0
0.05
라지-A2
라지
11
60
89
63
0
20
40
60
80
100
120
IL2 [pg/ml]

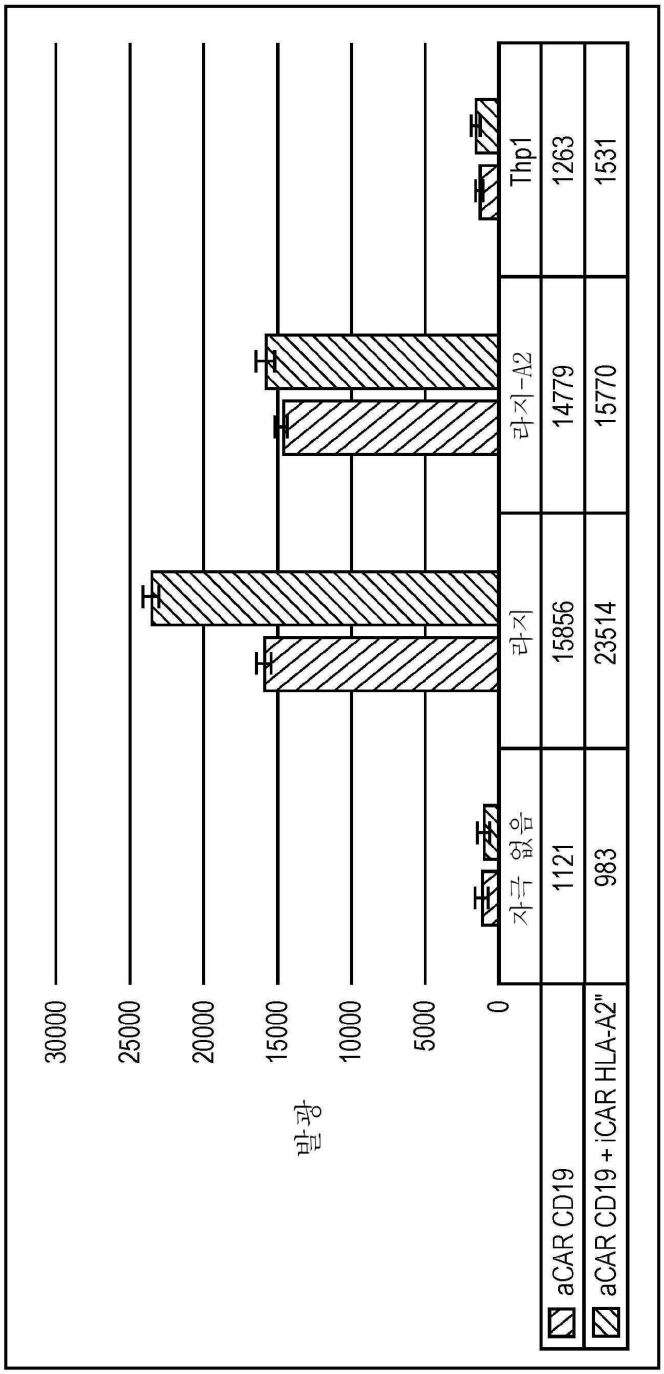
도면17


A 분석의 개략도
효과기 세포
표적 세포
저캇 aCAR CD19
aCAR CD19
T-세포
저캇 aCAR CD19 iCAR HLA-A2
aCAR CD19
iCAR HLA-A2
T-세포
THP1
HLA-A2
비표적세포 "정상"
기저
기저
라지-A2
CD19
HLA-A2
표적세포 "정상"
활성화
억제
라지
CD19
표적세포 "암"
활성화
활성화
B CBA에 의해 측정된 IL-2 분비
IL-2 분비-CBA 분석
저캇 aCAR-CD19_iCAR-HLA-A2 (E:T 1:1)
저캇 aCAR-CD19 (E:T 1:1)
THP1-
라지-A2
라지
1
9
44
64
47
0
10
20
30
40
50
60
70
평균된 IL2 농도(pg/ml)

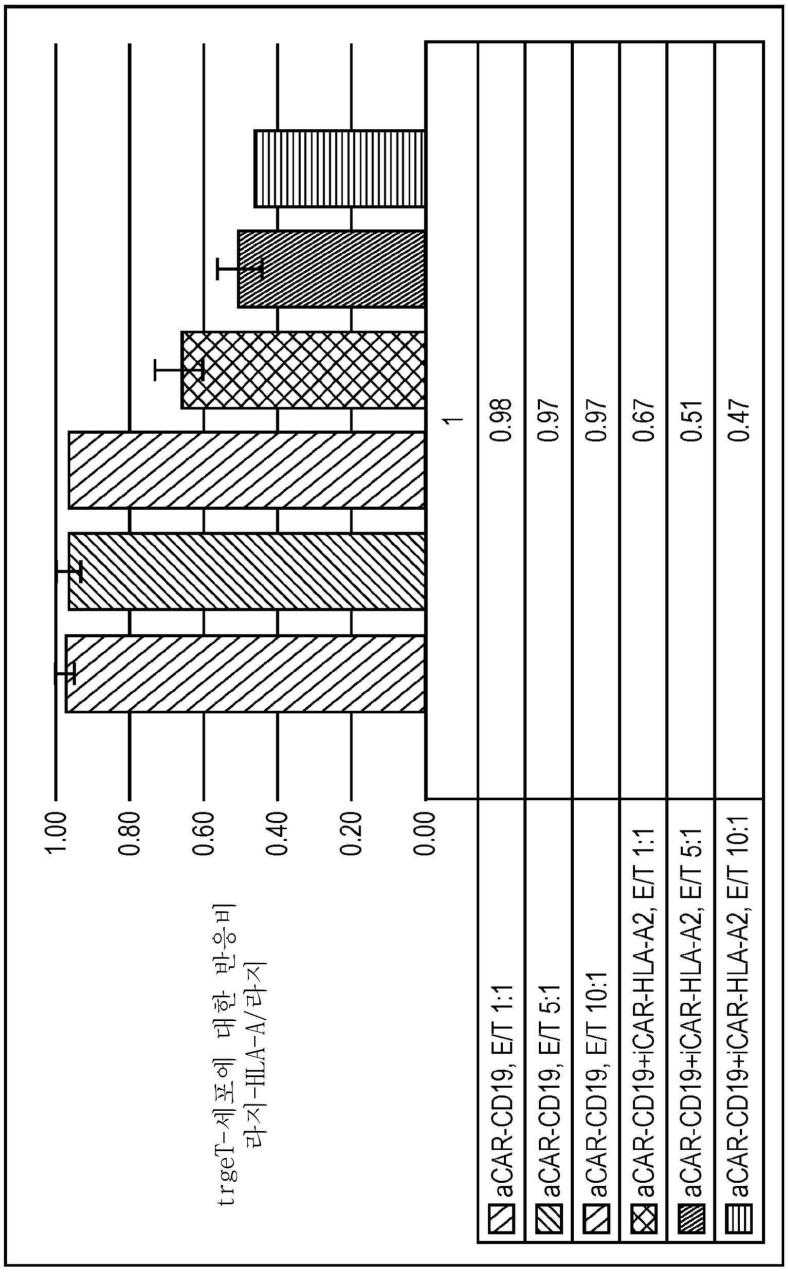
도면18


30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
발광
aCAR CD19
자극 없음
731
PMA+이오노마이신
27137
라지
18624
Thp1
690.666

도면19


30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
발광
자극 없음
라지
라지-A2
Thp1
aCAR CD19
aCAR CD19 + iCAR HLA-A2"
1121
983
15856
23514
14779
15770
1263
1531

도면20


1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
trgeT-세포에 대한 반응비
라지-HLA-A/라지
1
0.98
0.97
0.97
0.67
0.51
0.47
aCAR-CD19, E/T 1:1
aCAR-CD19, E/T 5:1
aCAR-CD19, E/T 10:1
aCAR-CD19+iCAR-HLA-A2, E/T 1:1
aCAR-CD19+iCAR-HLA-A2, E/T 5:1
aCAR-CD19+iCAR-HLA-A2, E/T 10:1

도면21a

CD19 aCAR_IRES_RFP_P2A_Puro- DNA 서열

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGG
CCGGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAA
CCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCA
TCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAG
CAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCGGA
GGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGC
GGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGC
CTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATT
CGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACA
TACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAA
GTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAA
CATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTCACC
GTCTCCTCAACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCC
CAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACC
CGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGG
GTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTG
TACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGT
TCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGC
AGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTT
GGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGC
GGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAG
ATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC
GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATG
CAGGCCCTGCCGCCTCGGTGAGCGGCCGCAAATTCCGCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCCTA
ACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTT
CCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGA
CGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCG
TGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTT
GCAGGCAGCGGAACCCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTAT
AAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGG
AAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGG
TACCCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGT
CGAGGTTAAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTGGTTTTCCTTTGAAAAA
CACGATAATACCATGGTGTCTAAGGGCGAAGAGCTGATTAAGGAGAACATGCACATGAAG
CTGTACATGGAGGGCACCGTGAACAACCACCACTTCAAGTGCACATCCGAGGGCGAAGGC
AAGCCCTACGAGGGCACCCAGACCATGAGAATCAAGGTGGTCGAGGGCGGCCCTCTCCCC
TTCGCCTTCGACATCCTGGCTACCAGCTTCATGTACGGCAGCAGAACCTTCATCAACCAC
ACCCAGGGCATCCCCGACTTCTTTAAGCAGTCCTTCCCTGAGGGCTTCACATGGGAGAGA
GTCACCACATACGAAGACGGGGGCGTGCTGACCGCTACCCAGGACACCAGCCTCCAGGAC
GGCTGCCTCATCTACAACGTCAAGATCAGAGGGGTGAACTTCCCATCCAACGGCCCTGTG
ATGCAGAAGAAAACACTCGGCTGGGAGGCCAACACCGAGATGCTGTACCCCGCTGACGGC
GGCCTGGAAGGCAGAAGCGACATGGCCCTGAAGCTCGTGGGCGGGGGCCACCTGATCTGC
AACTTCAAGACCACATACAGATCCAAGAAACCCGCTAAGAACCTCAAGATGCCCGGCGTC
TACTATGTGGACCACAGACTGGAAAGAATCAAGGAGGCCGACAAAGAGACCTACGTCGAG
CAGCACGAGGTGGCTGTGGCCAGATACTGCGACCTCCCTAGCAAACTGGGGCACAAACTT
AATGGATCCGGCGCGACAAACTTTAGCTTGCTGAAGCAAGCTGGTGACGTGGAGGAGAAT
CCCGGCCCTATGGCCACCGAGTACAAGCCCACGGTGCGCCTCGCCACCCGCGACGACGTC
CCCCGGGCCGTACGCACCCTCGCCGCCGCGTTCGCCGACTACCCCGCCACGCGCCACACC
GTCGATCCGGACCGCCACATCGAGCGGGTCACCGAGCTGCAAGAACTCTTCCTCACGCGC
GTCGGGCTCGACATCGGCAAGGTGTGGGTCGCGGACGACGGCGCCGCGGTGGCGGTCTGG

도면21b

ACCACGCCGGAGAGCGTCGAAGCGGGGGCGGTGTTCGCCGAGATCGGCCCGCGCATGGCC
GAGTTGAGCGGTTCCCGGCTGGCCGCGCAGCAACAGATGGAAGGCCTCCTGGCGCCGCAC
CGGCCCAAGGAGCCCGCGTGGTTCCTGGCCACCGTCGGCGTCTCGCCCGACCACCAGGGC
AAGGGTCTGGGCAGCGCCGTCGTGCTCCCCGGAGTGGAGGCGGCCGAGCGCGCCGGGGTG
CCCGCCTTCCTGGAGACCTCCGCGCCCCGCAACCTCCCCTTCTACGAGCGGCTCGGCTTC
ACCGTCACCGCCGACGTCGAGGTGCCCGAAGGACCGCGCACCTGGTGCATGACCCGCAAG
CCCGGTGCCTGA

CD19 aCAR- 단백질 서열
MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDI
SKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE
QEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQES
GPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETT
YYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAM
DYWGQGTSVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNL
GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM
KGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

RFP-단백질 서열
MVSKGEELIKENMHMKLYMEGTVNNHHFKCTSEGEGKPYEGTQTMRIKVV
EGGPLPFAFDILATSFMYGSRTFINHTQGIPDFFKQSFPEGFTWERVTTY
EDGGVLTATQDTSLQDGCLIYNVKIRGVNFPSNGPVMQKKTLGWEANTEM
LYPADGGLEGRSDMALKLVGGGHLICNFKTTYRSKKPAKNLKMPGVYYVD
HRLERIKEADKETYVEQHEVAVARYCDLPSKLGHKLN

퓨로마이신 내성-단백질 서열
MATEYKPTVRLATRDDVPRAVRTLAAAFADYPATRHTVDPDRHIERVTEL
QELFLTRVGLDIGKVWVADDGAAVAVWTTPESVEAGAVFAEIGPRMAELS
GSRLAAQQQMEGLLAPHRPKEPAWFLATVGVSPDHQGKGLGSAVVLPGVE
AAERAGVPAFLETSAPRNLPFYERLGFTVTADVEVPEGPRTWCMTRKPGA

CD20 iCAR_IRES_GFP_P2A_Hygro- DNA 서열
ATGGCACTGCCTGTGACCGCCCTGCTGCTGCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGG
CCCGACATCGTGCTGACACAGAGCCCAGCAATCCTGTCCGCCTCTCCTGGAGAGAAGGTG
ACCATGACATGCCGCGCCAGCTCCTCTGTGAACTACATGGATTGGTATCAGAAGAAGCCT
GGCAGCTCCCCAAAGCCCTGGATCTACGCCACCAGCAATCTGGCCTCCGGCGTGCCAGCA
CGGTTCAGCGGCTCCGGCTCTGGCACCAGCTATTCCCTGACAATCTCCAGAGTGGAGGCA
GAGGACGCAGCAACCTACTATTGCCAGCAGTGGTCTTTCAACCCCCCTACCTTTGGCGGC
GGCACAAAGCTGGAGATCAAGGGCTCTACAAGCGGAGGAGGCTCTGGAGGAGGCAGCGGA
GGCGGCGGCTCTAGCGAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTGAAGCCTGGA
GCCTCCGTGAAGATGTCTTGTAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACATCCTATAATATGCAC
TGGGTGAAGCAGACCCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGAGCAATCTACCCAGGAAAC
GGCGACACAAGCTATAATCAGAAGTTTAAGGGCAAGGCCACCCTGACAGCCGATAAGTCC
TCTAGCACCGCCTACATGCAGCTGTCCTCTCTGACATCCGAGGACTCTGCCGATTACTAT
TGTGCCCGGTCCAACTACTATGGCAGCTCCTACTGGTTCTTTGACGTGTGGGGAGCAGGC
ACCACAGTGACCGTGTCTAGCACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCCACAGCACACCCATCT
CCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTG
CTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGC
GGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCA
GTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCCAGAGCCA
CCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTTCCATCCGGAATG
GGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCAGCCACTG
CGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGTGACGCCCCTCTCCCCCCCCCCCCTCT
CCCTCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTT
GTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCT

도면21c

GGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAA
GGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACG
TCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGC
CAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAGTGCCACGTTGTG
AGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTG
AAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGC
TTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTG
GTTTTCCTTTGAAAAACACGATGATAAGGCTTGCCACAACCCGTACCAAAGATGGTGTCC
AAGGGAGAGGAGCTGTTCACCGGAGTGGTGCCCATCCTGGTGGAGCTGGACGGCGATGTG
AATGGCCACAAGTTTAGCGTGTCCGGAGAGGGAGAGGGCGACGCAACCTACGGCAAGCTG
ACACTGAAGTTCATCTGCACCACAGGCAAGCTGCCCGTGCCTTGGCCAACCCTGGTGACC
ACACTGACATACGGCGTGCAGTGTTTTTCTCGCTATCCCGACCACATGAAGCAGCACGAT
TTCTTTAAGAGCGCCATGCCTGAGGGCTACGTGCAGGAGCGGACCATCTTCTTTAAGGAC
GATGGCAACTATAAGACCAGAGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACACTGGTGAACAGG
ATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTTAAGGAGGATGGCAATATCCTGGGCCACAAGCTGGAG
TACAACTATAATTCCCACAACGTGTACATCATGGCCGATAAGCAGAAGAACGGCATCAAG
GTCAATTTCAAGATCAGACACAATATCGAGGACGGCTCTGTGCAGCTGGCCGATCACTAC
CAGCAGAACACCCCAATCGGCGACGGACCCGTGCTGCTGCCTGATAATCACTATCTGTCT
ACACAGAGCGCCCTGTCCAAGGACCCCAACGAGAAGAGGGATCACATGGTGCTGCTGGAG
TTTGTGACCGCAGCAGGAATCACACTGGGAATGGACGAGCTGTATAAGGGCAGCGGCGCC
ACCAACTTCTCCCTGCTGAAGCAGGCAGGCGACGTGGAGGAGAATCCAGGACCTATGGAT
AGAAGCGGCAAGCCAGAGCTGACCGCCACATCCGTGGAGAAGTTCCTGATCGAGAAGTTT
GACTCTGTGAGCGATCTGATGCAGCTGTCCGAGGGAGAGGAGTCCAGGGCCTTCTCTTTT
GATGTGGGCGGCAGGGGATACGTGCTGAGGGTGAATAGCTGCGCCGACGGCTTCTATAAG
GATAGATACGTGTATAGACACTTTGCCTCCGCCGCCCTGCCAATCCCAGAGGTGCTGGAC
ATCGGCGAGTTTTCCGAGTCTCTGACCTACTGTATCAGCCGGAGAGCCCAGGGAGTGACC
CTGCAGGATCTGCCTGAGACAGAGCTGCCAGCCGTGCTGCAGCCAGTGGCAGAGGCTATG
GACGCAATCGCCGCCGCCGACCTGTCTCAGACAAGCGGCTTCGGCCCTTTTGGCCCACAG
GGCATCGGCCAGTACACCACATGGAGGGACTTCATCTGCGCCATCGCCGATCCTCACGTG
TATCACTGGCAGACCGTGATGGACGATACAGTGAGCGCCTCCGTGGCACAGGCCCTGGAC
GAGCTGATGCTGTGGGCCGAGGATTGTCCAGAGGTGCGCCACCTGGTGCACGCAGACTTT
GGCAGCAACAATGTGCTGACCGATAATGGCCGGATCACAGCCGTGATCGACTGGTCCGAG
GCCATGTTCGGCGATTCTCAGTACGAGGTGGCCAACATCTTCTTTTGGAGGCCTTGGCTG
GCCTGCATGGAGCAGCAGACCCGCTATTTTGAGAGGCGCCACCCTGAGCTGGCCGGCTCT
CCACGGCTGAGAGCATACATGCTGCGCATCGGCCTGGACCAGCTGTATCAGAGCCTGGTG
GATGGCAATTTCGACGATGCAGCATGGGCACAGGGCCGGTGCGACGCAATCGTGAGATCC
GGCGCCGGCACCGTGGGCCGGACACAGATCGCACGGCGGAGCGCCGCCGTGTGGACCGAC
GGATGCGTGGAGGTGCTGGCCGATTCTGGCAACAGGCGCCCAAGCACAAGGCCCCGCGCC
AAGGAGTGA

CD20 iCAR -단백질 서열
MALPVTALLLPLALLLHAARPDIVLTQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSV
NYMDWYQKKPGSSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEA
EDAATYYCQQWSFNPPTFGGGTKLEIKGSTSGGGSGGGSGGGGSSEVQLQ
QSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGN
GDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSADYYCARSNYYGSS
YWFFDVWGAGTTVTVSSTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVGVVGGL
LGSLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELD
FQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPL
RPEDGHCSWPL

GFP--단백질 서열
MVSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDATYGKLTLKFICT
TGKLPVPWPTLVTTLTYGVQCFSRYPDHMKQHDFFKSAMPEGYVQERTIF
FKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNYNSHN
VYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNH
YLSTQSALSKDPNEKRDHMVLLEFVTAAGITLGMDELYK

도면21d

하이그로마이신 내성--단백질 서열

MDRSGKPELTATSVEKFLIEKFDSVSDLMQLSEGEESRAFSFDVGGRGYV
LRVNSCADGFYKDRYVYRHFASAALPIPEVLDIGEFSESLTYCISRRAQG
VTLQDLPETELPAVLQPVAEAMDAIAAADLSQTSGFGPFGPQGIGQYTTW
RDFICAIADPHVYHWQTVMDDTVSASVAQALDELMLWAEDCPEVRHLVHA
DFGSNNVLTDNGRITAVIDWSEAMFGDSQYEVANIFFWRPWLACMEQQTR
YFERRHPELAGSPRLRAYMLRIGLDQLYQSLVDGNFDDAAWAQGRCDAIV
RSGAGTVGRTQIARRSAAVWTDGCVEVLADSGNRRPSTRPRAKE

HLA-A2 iCAR_IRES_ GFP_P2A_Hygro- DNA 서열

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGA
CCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCT
GAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTC
ACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGA
TGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACA
CTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAG
GACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGC
CAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGC
GGCGGCGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGC
GATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAATACC
TACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTG
TCTAATCGGTTCAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC
ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGC
TCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGA
GCAGAGGTGCCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACC
CTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTG
GCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCT
CTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTT
CAGTGGCGGGAGAAAACCCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTAT
GCCACAATCGTGTTTCCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCC
GACGGACCACGGTCCGCCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTG
TGACGCCCCTCTCCCCCCCCCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGC
CGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCT
TTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGT
CTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCT
CTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCC
CCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAG
GCGGCACAACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTC
TCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTGTATGGGA
TCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAAACGT
CTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTGGTTTTCCTTTGAAAAACACGATGATAAGGCTTG
CCACAACCCGTACCAAAGATGGTGTCCAAGGGAGAGGAGCTGTTCACCGGAGTGGTGCCC
ATCCTGGTGGAGCTGGACGGCGATGTGAATGGCCACAAGTTTAGCGTGTCCGGAGAGGGA
GAGGGCGACGCAACCTACGGCAAGCTGACACTGAAGTTCATCTGCACCACAGGCAAGCTG
CCCGTGCCTTGGCCAACCCTGGTGACCACACTGACATACGGCGTGCAGTGTTTTTCTCGC
TATCCCGACCACATGAAGCAGCACGATTTCTTTAAGAGCGCCATGCCTGAGGGCTACGTG
CAGGAGCGGACCATCTTCTTTAAGGACGATGGCAACTATAAGACCAGAGCCGAGGTGAAG
TTCGAGGGCGACACACTGGTGAACAGGATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTTAAGGAGGAT
GGCAATATCCTGGGCCACAAGCTGGAGTACAACTATAATTCCCACAACGTGTACATCATG
GCCGATAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTCAATTTCAAGATCAGACACAATATCGAGGAC
GGCTCTGTGCAGCTGGCCGATCACTACCAGCAGAACACCCCAATCGGCGACGGACCCGTG
CTGCTGCCTGATAATCACTATCTGTCTACACAGAGCGCCCTGTCCAAGGACCCCAACGAG
AAGAGGGATCACATGGTGCTGCTGGAGTTTGTGACCGCAGCAGGAATCACACTGGGAATG
GACGAGCTGTATAAGGGCAGCGGCGCCACCAACTTCTCCCTGCTGAAGCAGGCAGGCGAC
GTGGAGGAGAATCCAGGACCTATGGATAGAAGCGGCAAGCCAGAGCTGACCGCCACATCC
GTGGAGAAGTTCCTGATCGAGAAGTTTGACTCTGTGAGCGATCTGATGCAGCTGTCCGAG

도면21e

GGAGAGGAGTCCAGGGCCTTCTCTTTTGATGTGGGCGGCAGGGGATACGTGCTGAGGGTG
AATAGCTGCGCCGACGGCTTCTATAAGGATAGATACGTGTATAGACACTTTGCCTCCGCC
GCCCTGCCAATCCCAGAGGTGCTGGACATCGGCGAGTTTTCCGAGTCTCTGACCTACTGT
ATCAGCCGGAGAGCCCAGGGAGTGACCCTGCAGGATCTGCCTGAGACAGAGCTGCCAGCC
GTGCTGCAGCCAGTGGCAGAGGCTATGGACGCAATCGCCGCCGCCGACCTGTCTCAGACA
AGCGGCTTCGGCCCTTTTGGCCCACAGGGCATCGGCCAGTACACCACATGGAGGGACTTC
ATCTGCGCCATCGCCGATCCTCACGTGTATCACTGGCAGACCGTGATGGACGATACAGTG
AGCGCCTCCGTGGCACAGGCCCTGGACGAGCTGATGCTGTGGGCCGAGGATTGTCCAGAG
GTGCGCCACCTGGTGCACGCAGACTTTGGCAGCAACAATGTGCTGACCGATAATGGCCGG
ATCACAGCCGTGATCGACTGGTCCGAGGCCATGTTCGGCGATTCTCAGTACGAGGTGGCC
AACATCTTCTTTTGGAGGCCTTGGCTGGCCTGCATGGAGCAGCAGACCCGCTATTTTGAG
AGGCGCCACCCTGAGCTGGCCGGCTCTCCACGGCTGAGAGCATACATGCTGCGCATCGGC
CTGGACCAGCTGTATCAGAGCCTGGTGGATGGCAATTTCGACGATGCAGCATGGGCACAG
GGCCGGTGCGACGCAATCGTGAGATCCGGCGCCGGCACCGTGGGCCGGACACAGATCGCA
CGGCGGAGCGCCGCCGTGTGGACCGACGGATGCGTGGAGGTGCTGGCCGATTCTGGCAAC
AGGCGCCCAAGCACAAGGCCCCGCGCCAAGGAGTGA

HLA-A2 iCAR --단백질 서열
MALPVTALLLPLALLLHAARPEQKLISEEDLQVQLQQSGPELVKPGASVK
MSCKASGYTFTSYHIQWVKQRPGQGLEWIGWIYPGDGSTQYNEKFKGKTT
LTADKSSSTAYMLLSSLTSEDSAIYFCAREGTYYAMDYWGQGTSVTVSSG
GGGSGGGGSGGGGSDVLMTQTPLSLPVSLGDQVSISCRSSQSIVHSNGNT
YLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE
DLGVYYCFQGSHVPRTFGGGTKLEIKTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQT
LVVGVVGGLLGSLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPV
FSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGMGTSSPARRGSA
DGPRSAQPLRPEDGHCSWPL

도면22a

Chr	유전자
1	ABCA4
1	ADAM30
1	ASTN1
1	C1orf101
1	CACNA1S
1	CATSPER4
1	CD101
1	CD164L2
1	CD1A
1	CD1C
1	CD244
1	CD34
1	CELSR2
1	CHRNB2
1	CLCA2
1	CLSTN1
1	CR1
1	CR2
1	CRB1
1	CSF3R
1	CSMD2
1	ECE1
1	ELTD1
1	EMC1
1	EPHA10
1	EPHA2
1	ERMAP
1	FCAMR
1	FCER1A
1	FCGR1B
1	FCGR2A
1	FCGR2B
1	FCGR3A
1	FCRL1
1	FCRL3
1	FCRL4
1	FCRL5
1	FCRL6
1	GJB4
1	GPA33
1	GPR157
1	GPR37L1
1	GPR88
1	HCRTR1

Chr	유전자
1	IGSF3
1	IGSF9
1	IL22RA1
1	ITGA10
1	KIAA1324
1	KIAA2013
1	LDLRAD2
1	LEPR
1	LRIG2
1	LRP8
1	LRRC52
1	LRRC8B
1	LRRN2
1	LY9
1	MR1
1	MUC1
1	MXRA8
1	NCSTN
1	NFASC
1	NOTCH2
1	NPR1
1	NTRK1
1	OPN3
1	OR10J1
1	OR10J4
1	OR10K1
1	OR10R2
1	OR10T2
1	OR10X1
1	OR11L1
1	OR14A16
1	OR14I1
1	OR14K1
1	OR2AK2
1	OR2C3
1	OR2G2
1	OR2G3
1	OR2L2
1	OR2M7
1	OR2T1
1	OR2T12
1	OR2T27
1	OR2T29
1	OR2T3

Chr	유전자
1	OR2T33
1	OR2T34
1	OR2T35
1	OR2T4
1	OR2T5
1	OR2T6
1	OR2T7
1	OR2T8
1	OR2W3
1	OR6F1
1	OR6K2
1	OR6K3
1	OR6K6
1	OR6N1
1	OR6P1
1	OR6Y1
1	PEAR1
1	PIGR
1	PLXNA2
1	PTCH2
1	PTCHD2
1	PTGFRN
1	PTPRC
1	PTPRF
1	PVRL4
1	RXFP4
1	S1PR1
1	SCNN1D
1	SDC3
1	SELE
1	SELL
1	SELP
1	SEMA4A
1	SEMA6C
1	SLAMF7
1	SLAMF9
1	SLC2A7
1	SLC5A9
1	TACSTD2
1	TAS1R2
1	TIE1
1	TLR5
1	TMEM81
1	TNFRSF14

도면22b

Chr	유전자
1	TNFRSF1B
1	TRABD2B
1	USH2A
1	VCAM1
1	ZP4
2	ABCG5
2	ALK
2	ASPRV1
2	ATRAID
2	CD207
2	CHRNG
2	CLEC4F
2	CNTNAP5
2	CRIM1
2	CXCR1
2	DNER
2	DPP10
2	EDAR
2	EPCAM
2	GPR113
2	GPR148
2	GPR35
2	GPR39
2	IL1RL1
2	ITGA4
2	ITGA6
2	ITGAV
2	LCT
2	LHCGR
2	LRP1B
2	LRP2
2	LY75
2	MARCO
2	MERTK
2	NRP2
2	OR6B2
2	PLA2R1
2	PLB1
2	PROKR1
2	PROM2
2	SCN7A
2	SDC1
2	TGOLN2
2	THSD7B

Chr	유전자
2	TMEFF2
2	TMEM178A
2	TPO
2	TRABD2A
3	ACKR2
3	ALCAM
3	ANO10
3	ATP13A4
3	CACNA1D
3	CACNA2D2
3	CACNA2D3
3	CASR
3	CCRL2
3	CD200
3	CD200R1
3	CD86
3	CD96
3	CDCP1
3	CDHR4
3	CELSR3
3	CHL1
3	CLDN11
3	CLDN18
3	CLSTN2
3	CSPG5
3	CX3CR1
3	CXCR6
3	DCBLD2
3	DRD3
3	EPHB3
3	GABRR3
3	GP5
3	GPR128
3	GPR15
3	GPR27
3	GRM2
3	GRM7
3	HEG1
3	HTR3C
3	HTR3D
3	HTR3E
3	IGSF11
3	IL17RC
3	IL17RD

Chr	유전자
3	IL17RE
3	IL5RA
3	IMPG2
3	ITGA9
3	ITGB5
3	KCNMB3
3	LRIG1
3	LRRC15
3	LRRN1
3	MST1R
3	NAALADL2
3	NRROS
3	OR5AC1
3	OR5H1
3	OR5H14
3	OR5H15
3	OR5H6
3	OR5K2
3	OR5K3
3	OR5K4
3	PLXNB1
3	PLXND1
3	PRRT3
3	PTPRG
3	ROBO2
3	RYK
3	SEMA5B
3	SIDT1
3	SLC22A14
3	SLC33A1
3	SLC4A7
3	SLITRK3
3	STAB1
3	SUSD5
3	TFRC
3	TLR9
3	TMEM44
3	TMPRSS7
3	TNFSF10
3	UPK1B
3	VIPR1
3	ZPLD1
4	ANTXR2
4	BTC

도면22c

Chr	유전자
4	CNGA1
4	CORIN
4	EGF
4	EMCN
4	ENPEP
4	EPHA5
4	ERVMER34-1
4	EVC2
4	FAT1
4	FAT4
4	FGFRL1
4	FRAS1
4	GPR125
4	GRID2
4	GYPA
4	GYPB
4	KDR
4	KIAA0922
4	KLB
4	MFSD8
4	PARM1
4	PDGFRA
4	RNF150
4	TENM3
4	TLR1
4	TLR10
4	TLR6
4	TMEM156
4	TMPRSS11A
4	TMPRSS11B
4	TMPRSS11E
4	TMPRSS11F
4	UNC5C
5	ADAM19
5	ADRB2
5	BTNL3
5	BTNL8
5	BTNL9
5	C5orf15
5	CATSPER3
5	CD180
5	CDH12
5	CDHR2

Chr	유전자
5	COL23A1
5	CSF1R
5	F2RL2
5	FAM174A
5	FAT2
5	FGFR4
5	FLT4
5	GABRA6
5	GABRG2
5	GPR151
5	GPR98
5	GRM6
5	HAVCR1
5	HAVCR2
5	IL31RA
5	IL6ST
5	IL7R
5	ITGA1
5	ITGA2
5	KCNMB1
5	LIFR
5	LNPEP
5	MEGF10
5	NIPAL4
5	OR2V1
5	OR2Y1
5	OSMR
5	PCDH1
5	PCDH12
5	PCDHA1
5	PCDHA2
5	PCDHA4
5	PCDHA8
5	PCDHA9
5	PCDHB10
5	PCDHB11
5	PCDHB13
5	PCDHB14
5	PCDHB15
5	PCDHB16
5	PCDHB2
5	PCDHB3
5	PCDHB4
5	PCDHB5

Chr	유전자
5	PCDHB6
5	PCDHGA1
5	PCDHGA4
5	PDGFRB
5	PRLR
5	SEMA5A
5	SEMA6A
5	SGCD
5	SLC1A3
5	SLC22A4
5	SLC22A5
5	SLC36A3
5	SLC6A18
5	SLC6A19
5	SLCO6A1
5	SV2C
5	TENM2
5	TIMD4
5	UGT3A1
6	BAI3
6	BTN1A1
6	BTN2A1
6	BTN2A2
6	BTN3A2
6	BTNL2
6	CD83
6	DCBLD1
6	DLL1
6	DPCR1
6	ENPP1
6	ENPP3
6	ENPP4
6	EPHA7
6	GABBR1
6	GABRR1
6	GCNT6
6	GFRAL
6	GJB7
6	GLP1R
6	GPR110
6	GPR111
6	GPR116
6	GPR126
6	GPR63

도면22d

Chr	유전자
6	GPRC6A
6	HFE
6	HLA-A
6	HLA-B
6	HLA-C
6	HLA-DPA1
6	HLA-DPB1
6	HLA-DQA1
6	HLA-DQA2
6	HLA-DQB1
6	HLA-DQB2
6	HLA-DRB1
6	HLA-DRB5
6	HLA-E
6	HLA-F
6	HLA-G
6	IL20RA
6	ITPR3
6	KIAA0319
6	LMBRD1
6	LRFN2
6	LRP11
6	MAS1L
6	MEP1A
6	MICA
6	MICB
6	MUC21
6	MUC22
6	NCR2
6	NOTCH4
6	OPRM1
6	OR10C1
6	OR12D2
6	OR12D3
6	OR14J1
6	OR2B2
6	OR2B6
6	OR2J1
6	OR2W1
6	OR5V1
6	PKHD1
6	PTCRA
6	RAET1E
6	RAET1G

Chr	유전자
6	ROS1
6	SDIM1
6	SLC22A1
6	SLC44A4
6	TAAR2
6	TREM1
6	TREML1
6	TREML2
7	AQP1
7	CD36
7	CDHR3
7	CNTNAP2
7	DPP6
7	EGFR
7	EPHA1
7	EPHB6
7	ERVW-1
7	GHRHR
7	GJC3
7	GPNMB
7	GRM8
7	HYAL4
7	KIAA1324L
7	LRRN3
7	MET
7	MUC12
7	MUC17
7	NPC1L1
7	NPSR1
7	OR2A12
7	OR2A14
7	OR2A2
7	OR2A25
7	OR2A42
7	OR2A7
7	OR2AE1
7	OR2F2
7	OR6V1
7	PILRA
7	PKD1L1
7	PLXNA4
7	PODXL
7	PTPRN2
7	PTPRZ1

Chr	유전자
7	RAMP3
7	SLC29A4
7	SMO
7	TAS2R16
7	TAS2R4
7	TAS2R40
7	TFR2
7	THSD7A
7	TMEM213
7	TTYH3
7	ZAN
7	ZP3
8	ADAM18
8	ADAM28
8	ADAM32
8	ADAM7
8	ADAM9
8	CDH17
8	CHRNA2
8	CSMD1
8	CSMD3
8	DCSTAMP
8	FZD6
8	GPR124
8	NRG1
8	OR4F21
8	PKHD1L1
8	PRSS55
8	SCARA3
8	SCARA5
8	SDC2
8	SLC10A5
8	SLC39A14
8	SLC39A4
8	SLCO5A1
8	TNFRSF10A
8	TNFRSF10B
9	ABCA1
9	AQP7
9	C9orf135
9	CA9
9	CD72
9	CNTNAP3
9	CNTNAP3B

도면22e

Chr	유전자
9	ENTPD8
9	GPR144
9	GRIN3A
9	IZUMO3
9	KIAA1161
9	MAMDC4
9	MEGF9
9	MUSK
9	NOTCH1
9	OR13C2
9	OR13C3
9	OR13C5
9	OR13C8
9	OR13C9
9	OR13D1
9	OR13F1
9	OR1B1
9	OR1J2
9	OR1K1
9	OR1L1
9	OR1L3
9	OR1L6
9	OR1L8
9	OR1N1
9	OR1N2
9	OR1Q1
9	OR2S2
9	PCSK5
9	PLGRKT
9	PTPRD
9	ROR2
9	SEMA4D
9	SLC31A1
9	TEK
9	TLR4
9	TMEM2
9	VLDLR
10	ABCC2
10	ADAM8
10	ADRB1
10	ANTXRL
10	ATRNL1
10	C10orf54
10	CDH23

Chr	유전자
10	CDHR1
10	CNNM2
10	COL13A1
10	COL17A1
10	ENTPD1
10	FGFR2
10	FZD8
10	GPR158
10	GRID1
10	IL15RA
10	IL2RA
10	ITGA8
10	ITGB1
10	MRC1
10	NPFFR1
10	NRP1
10	OPN4
10	PCDH15
10	PKD2L1
10	PLXDC2
10	PRLHR
10	RGR
10	SLC29A3
10	SLC39A12
10	TACR2
10	TCTN3
10	TSPAN15
10	UNC5B
10	VSTM4
11	AMICA1
11	ANO3
11	APLP2
11	C11orf24
11	CCKBR
11	CD248
11	CD44
11	CD5
11	CD6
11	CDON
11	CLMP
11	CRTAM
11	DCHS1
11	DSCAML1
11	FAT3

Chr	유전자
11	FOLH1
11	GDPD4
11	GDPD5
11	GRIK4
11	HEPHL1
11	HTR3B
11	IFITM10
11	IL10RA
11	KIRREL3
11	LGR4
11	LRP4
11	LRP5
11	LRRC32
11	MCAM
11	MFRP
11	MPEG1
11	MRGPRE
11	MRGPRF
11	MRGPRG
11	MRGPRX2
11	MRGPRX3
11	MRGPRX4
11	MS4A4A
11	MTNR1B
11	MUC15
11	NAALAD2
11	NAALADL1
11	NCAM1
11	NRXN2
11	OR10A2
11	OR10A5
11	OR10A6
11	OR10D3
11	OR10G4
11	OR10G7
11	OR10G8
11	OR10G9
11	OR10Q1
11	OR10S1
11	OR1S1
11	OR2AG1
11	OR2AG2
11	OR2D2
11	OR4A15

도면22f

Chr	유전자
11	OR4A47
11	OR4A5
11	OR4A8P
11	OR4C11
11	OR4C13
11	OR4C15
11	OR4C16
11	OR4C3
11	OR4C46
11	OR4C5
11	OR4D6
11	OR4D9
11	OR4S2
11	OR4X1
11	OR51E1
11	OR51L1
11	OR52A1
11	OR52E1
11	OR52E2
11	OR52E4
11	OR52E6
11	OR52I1
11	OR52I2
11	OR52J3
11	OR52L1
11	OR52N1
11	OR52N2
11	OR52N4
11	OR52W1
11	OR56B1
11	OR56B4
11	OR5A1
11	OR5A2
11	OR5AK2
11	OR5AR1
11	OR5B17
11	OR5B3
11	OR5D14
11	OR5D16
11	OR5D18
11	OR5F1
11	OR5I1
11	OR5L2
11	OR5M11

Chr	유전자
11	OR5M3
11	OR5P2
11	OR5R1
11	OR5T2
11	OR5T3
11	OR5W2
11	OR6A2
11	OR6T1
11	OR6X1
11	OR8A1
11	OR8B12
11	OR8B2
11	OR8B3
11	OR8B4
11	OR8D1
11	OR8D2
11	OR8H1
11	OR8H2
11	OR8H3
11	OR8I2
11	OR8J1
11	OR8J2
11	OR8J3
11	OR8K1
11	OR8K3
11	OR8K5
11	OR8U1
11	OR9G1
11	OR9G4
11	OR9Q2
11	P2RX3
11	PTPRJ
11	ROBO3
11	SIGIRR
11	SLC22A10
11	SLC3A2
11	SLC5A12
11	SLCO2B1
11	SORL1
11	ST14
11	SYT8
11	TENM4
11	TMEM123
11	TMPRSS4

Chr	유전자
11	TMPRSS5
11	TRPM5
11	TSPAN18
11	ZP1
12	ANO4
12	AVPR1A
12	CACNA2D4
12	CD163
12	CD163L1
12	CD27
12	CD4
12	CLEC12A
12	CLEC2A
12	CLEC4C
12	CLEC7A
12	CLECL1
12	CLSTN3
12	GPR133
12	GPRC5D
12	ITGA7
12	ITGB7
12	KLRB1
12	KLRC2
12	KLRC3
12	KLRC4
12	KLRF1
12	KLRF2
12	LRP1
12	LRP6
12	MANSC1
12	MANSC4
12	OLR1
12	OR10AD1
12	OR10P1
12	OR2AP1
12	OR6C1
12	OR6C2
12	OR6C3
12	OR6C4
12	OR6C6
12	OR6C74
12	OR6C76
12	OR8S1
12	OR9K2

도면22g

Chr	유전자
12	ORAI1
12	P2RX4
12	P2RX7
12	PTPRB
12	PTPRQ
12	SCNN1A
12	SELPLG
12	SLC38A4
12	SLC5A8
12	SLC6A15
12	SLC8B1
12	SLCO1B1
12	SLCO1B7
12	SSPN
12	STAB2
12	TAS2R10
12	TAS2R13
12	TAS2R20
12	TAS2R30
12	TAS2R31
12	TAS2R42
12	TAS2R43
12	TAS2R46
12	TAS2R7
12	TMEM119
12	TMEM132B
12	TMEM132C
12	TMEM132D
12	TMPRSS12
12	TNFRSF1A
12	TSPAN8
12	VSIG10
13	ATP4B
13	ATP7B
13	FLT3
13	FREM2
13	KL
13	PCDH8
13	SGCG
13	SHISA2
13	SLC15A1
13	SLITRK6
13	TNFRSF19
14	ADAM21

Chr	유전자
14	BDKRB2
14	C14orf37
14	CLEC14A
14	DLK1
14	FLRT2
14	GPR135
14	GPR137C
14	JAG2
14	LTB4R2
14	MMP14
14	OR11G2
14	OR11H12
14	OR11H6
14	OR4K1
14	OR4K15
14	OR4K5
14	OR4L1
14	OR4N2
14	OR4N5
14	OR4Q2
14	SLC24A4
14	SYNDIG1L
15	ANPEP
15	CD276
15	CHRNA7
15	CHRNB4
15	CSPG4
15	DUOX1
15	DUOX2
15	FAM174B
15	GLDN
15	IGDCC4
15	ITGA11
15	LCTL
15	LTK
15	LYSMD4
15	MEGF11
15	NRG4
15	OCA2
15	OR4F4
15	OR4M2
15	OR4N4
15	PRTG
15	RHCG

Chr	유전자
15	SCAMP5
15	SEMA4B
15	SEMA6D
15	SLC24A1
15	SLC28A1
15	TRPM1
15	TYRO3
16	ATP2C2
16	CACNA1H
16	CD19
16	CDH11
16	CDH16
16	CDH3
16	CDH5
16	CNGB1
16	CNTNAP4
16	GDPD3
16	GPR56
16	GPR97
16	IL4R
16	ITFG3
16	ITGAL
16	ITGAM
16	ITGAX
16	KCNG4
16	MMP15
16	MSLNL
16	NOMO1
16	NOMO3
16	OR2C1
16	PKD1
16	PKD1L2
16	SCNN1B
16	SEZ6L2
16	SLC22A31
16	SLC5A11
16	SLC7A6
16	SPN
16	TMC5
16	TMC7
16	TMEM204
16	TMEM219
16	TMEM8A
17	ABCC3

도면22h

Chr	유전자
17	ACE
17	AOC3
17	ASGR2
17	C17orf80
17	CD300A
17	CD300C
17	CD300E
17	CD300LG
17	CHRNB1
17	CLEC10A
17	CNTNAP1
17	CPD
17	CXCL16
17	FAM171A2
17	GCGR
17	GLP2R
17	GP1BA
17	GPR142
17	GUCY2D
17	ITGA2B
17	ITGA3
17	ITGAE
17	ITGB3
17	KCNJ12
17	LRRC37A
17	LRRC37A2
17	LRRC37A3
17	LRRC37B
17	MRC2
17	NGFR
17	OR1A2
17	OR1D2
17	OR1G1
17	OR3A1
17	OR3A2
17	OR4D1
17	OR4D2
17	RNF43
17	SCN4A
17	SDK2
17	SECTM1
17	SEZ6
17	SLC26A11
17	SPACA3

Chr	유전자
17	TMEM102
17	TMEM132E
17	TNFSF12
17	TRPV3
17	TTYH2
17	TUSC5
18	APCDD1
18	CDH19
18	CDH20
18	CDH7
18	COLEC12
18	DCC
18	DSC1
18	DSG1
18	DSG3
18	DYNAP
18	MEP1B
18	PTPRM
18	SIGLEC15
18	TNFRSF11A
19	ABCA7
19	ACPT
19	BCAM
19	C19orf38
19	C19orf59
19	C5AR1
19	CATSPERD
19	CATSPERG
19	CD320
19	CD33
19	CD97
19	CEACAM1
19	CEACAM19
19	CEACAM21
19	CEACAM3
19	CEACAM4
19	CLEC4M
19	DLL3
19	EMR1
19	EMR2
19	EMR3
19	ERVV-1
19	ERVV-2
19	FAM187B

Chr	유전자
19	FCAR
19	FFAR3
19	FPR1
19	GFY
19	GP6
19	GPR42
19	GRIN3B
19	ICAM3
19	IGFLR1
19	IL12RB1
19	IL27RA
19	KIR2DL1
19	KIR2DL3
19	KIR2DL4
19	KIR3DL1
19	KIR3DL2
19	KIR3DL3
19	KIRREL2
19	KISS1R
19	LAIR1
19	LDLR
19	LILRA1
19	LILRA2
19	LILRA4
19	LILRA6
19	LILRB1
19	LILRB2
19	LILRB3
19	LILRB4
19	LILRB5
19	LINGO3
19	LPHN1
19	LRP3
19	MADCAM1
19	MAG
19	MEGF8
19	MUC16
19	NCR1
19	NOTCH3
19	NPHS1
19	OR10H1
19	OR10H2
19	OR10H3
19	OR10H4

도면22i

Chr	유전자
19	OR1I1
19	OR2Z1
19	OR7A10
19	OR7C1
19	OR7D4
19	OR7E24
19	OR7G1
19	OR7G2
19	OR7G3
19	PLVAP
19	PTGIR
19	PTPRH
19	PTPRS
19	PVR
19	SCN1B
19	SHISA7
19	SIGLEC10
19	SIGLEC11
19	SIGLEC12
19	SIGLEC5
19	SIGLEC6
19	SIGLEC8
19	SIGLEC9
19	SLC44A2
19	SLC5A5
19	SLC7A9
19	TARM1
19	TGFBR3L
19	TMC4
19	TMEM91
19	TMPRSS9
19	TNFSF14
19	TNFSF9
19	TRPM4
19	VN1R2
19	VSIG10L
19	VSTM2B
20	ABHD12

Chr	유전자
20	ADAM33
20	ADRA1D
20	APMAP
20	ATRN
20	CD40
20	CD93
20	CDH22
20	CDH26
20	CDH4
20	FLRT3
20	GCNT7
20	GGT7
20	JAG1
20	LRRN4
20	NPBWR2
20	OCSTAMP
20	PTPRA
20	PTPRT
20	SEL1L2
20	SIGLEC1
20	SIRPA
20	SIRPB1
20	SIRPG
20	SLC24A3
20	SLC2A10
20	SSTR4
20	THBD
21	CLDN8
21	DSCAM
21	ICOSLG
21	IFNAR1
21	IFNGR2
21	IGSF5
21	ITGB2
21	KCNJ15
21	NCAM2
21	TMPRSS15
21	TMPRSS2

Chr	유전자
21	TMPRSS3
21	TRPM2
21	UMODL1
22	CACNA1I
22	CELSR1
22	COMT
22	CSF2RB
22	GGT1
22	GGT5
22	IL2RB
22	KREMEN1
22	MCHR1
22	OR11H1
22	P2RX6
22	PKDREJ
22	PLXNB2
22	SCARF2
22	SEZ6L
22	SSTR3
22	SUSD2
22	TMPRSS6
22	TNFRSF13C
X	ATP6AP2
X	ATP7A
X	EDA2R
X	FMR1NB
X	GLRA4
X	GPR112
X	GUCY2F
X	HEPH
X	P2RY10
X	P2RY4
X	PLXNA3
X	PLXNB3
X	VSIG4
X	XG

도면23a

Chr	위치	ref	alt	유전자
1	101005090	G	A	GPR88
1	101197012	A	G	VCAM1
1	101704572	C	A	S1PR1
1	109735398	A	C	KIAA1324
1	109801674	A	C	CELSR2
1	109806313	T	C	CELSR2
1	113650307	G	A	LRIG2
1	11561593	G	A	PTCHD2
1	11584109	C	G	PTCHD2
1	11585308	C	T	PTCHD2
1	117122130	T	C	IGSF3
1	117142613	C	T	IGSF3
1	117142641	G	A	IGSF3
1	117503940	G	A	PTGFRN
1	117554421	A	G	CD101
1	117559726	A	G	CD101
1	117560058	C	G	CD101
1	117568200	G	A	CD101
1	11986011	T	C	KIAA2013
1	120437884	A	G	ADAM30
1	120469147	T	C	NOTCH2
1	120572547	T	C	NOTCH2
1	120572572	C	T	NOTCH2
1	120934449	C	T	FCGR1B
1	120934573	C	T	FCGR1B
1	1221001	A	G	SCNN1D
1	1222598	C	T	SCNN1D
1	12252955	T	G	TNFRSF1B
1	1291085	C	T	MXRA8
1	145533877	C	G	ITGA10
1	145535814	C	T	ITGA10
1	145536082	G	A	ITGA10
1	145541460	C	T	ITGA10
1	151107304	C	G	SEMA6C
1	151108137	T	G	SEMA6C
1	151112483	T	C	SEMA6C
1	153653757	G	C	NPR1
1	154541971	T	G	CHRNB2
1	155161702	GT GT CC GG GG CC	G	MUC1

Chr	위치	ref	alt	유전자
		GA GG TG AC AC CG TG GG CT GG GG GG GC GG TG GA GC CC GG GG CT GG CT TG T		
1	155161714	G	A	MUC1
1	155911517	C	A	RXFP4
1	156144971	G	A	SEMA4A
1	156838432	C	T	NTRK1
1	156877457	T	C	PEAR1
1	156878044	G	A	PEAR1
1	156878473	C	T	PEAR1
1	157504422	C	T	FCRL5
1	157508882	C	T	FCRL5
1	157508908	T	C	FCRL5
1	157508997	G	T	FCRL5
1	157509025	C	T	FCRL5
1	157514091	C	T	FCRL5
1	157514097	A	G	FCRL5
1	157559122	C	T	FCRL4
1	157668194	A	C	FCRL3
1	157668390	T	C	FCRL3
1	157772404	C	T	FCRL1
1	158225019	C	G	CD1A
1	158261071	A	C	CD1C

도면23b

Chr	위치	ref	alt	유전자
1	158263011	T	C	CD1C
1	158368964	C	T	OR10T2
1	158368974	A	G	OR10T2
1	158369210	A	G	OR10T2
1	158435928	G	A	OR10K1
1	158449749	A	G	OR10R2
1	158450238	G	A	OR10R2
1	158450314	A	G	OR10R2
1	158517585	G	A	OR6Y1
1	158517891	G	A	OR6Y1
1	158532605	C	A	OR6P1
1	158532614	G	A	OR6P1
1	158532908	T	C	OR6P1
1	158549082	A	T	OR10X1
1	158670426	C	T	OR6K2
1	158687896	C	T	OR6K3
1	158724722	G	C	OR6K6
1	158724750	C	T	OR6K6
1	158725194	T	C	OR6K6
1	158725237	C	T	OR6K6
1	158735691	T	C	OR6N1
1	158735892	A	G	OR6N1
1	158736445	C	T	OR6N1
1	159273892	A	G	FCER1A
1	159273943	G	A	FCER1A
1	159275786	C	G	FCER1A
1	159402547	T	C	OR10J4
1	159409857	A	G	OR10J1
1	159409870	T	G	OR10J1
1	159778910	G	A	FCRL6
1	159779464	T	C	FCRL6
1	159779465	C	T	FCRL6
1	159912899	C	T	IGSF9
1	159922175	C	T	SLAMF9
1	159923111	T	G	SLAMF9
1	159923234	C	T	SLAMF9
1	160318829	G	C	NCSTN
1	160719757	C	T	SLAMF7
1	160719843	A	C	SLAMF7
1	160784275	A	C	LY9
1	160811488	T	C	CD244
1	161049509	G	T	PVRL4
1	161049662	A	G	PVRL4
1	161476204	C	T	FCGR2A

Chr	위치	ref	alt	유전자
1	161476205	A	G	FCGR2A
1	161479745	A	G	FCGR2A
1	161518214	T	C	FCGR3A
1	161518336	C	T	FCGR3A
1	161642774	T	G	FCGR2B
1	16464489	C	T	EPHA2
1	165532746	T	A	LRRC52
1	167032895	C	A	GPA33
1	169563951	T	G	SELP
1	169565346	C	A	SELP
1	169566313	C	T	SELP
1	169580885	C	T	SELP
1	169581595	G	A	SELP
1	169582317	C	T	SELP
1	169676486	A	G	SELL
1	169696946	G	A	SELE
1	177030344	T	C	ASTN1
1	181018236	A	G	MR1
1	19175846	T	C	TAS1R2
1	19181015	G	C	TAS1R2
1	19181393	T	C	TAS1R2
1	19186093	G	A	TAS1R2
1	19565338	C	T	EMC1
1	19565344	C	G	EMC1
1	19566382	A	G	EMC1
1	197396761	G	A	CRB1
1	198671653	A	G	PTPRC
1	201052310	A	T	CACNA1S
1	202092332	C	G	GPR37L1
1	202092360	G	A	GPR37L1
1	204588700	C	G	LRRN2
1	204589066	C	T	LRRN2
1	204924020	C	T	NFASC
1	204944474	T	G	NFASC
1	204966402	A	G	NFASC
1	205053150	A	G	TMEM81
1	205053219	C	T	TMEM81
1	207106478	G	A	PIGR
1	207107806	G	A	PIGR
1	207109116	C	T	PIGR
1	207134226	C	T	FCAMR
1	207134410	T	G	FCAMR
1	207646462	G	A	CR2
1	207646923	G	A	CR2

도면23c

Chr	위치	ref	alt	유전자
1	207707637	A	C	CR1
1	207715740	T	C	CR1
1	207715866	G	A	CR1
1	207741193	T	C	CR1
1	207753621	A	G	CR1
1	207760773	C	T	CR1
1	208073205	C	A	CD34
1	208252715	A	C	PLXNA2
1	208252777	G	C	PLXNA2
1	208252778	C	A	PLXNA2
1	208272313	A	C	PLXNA2
1	208390162	T	C	PLXNA2
1	208390469	C	T	PLXNA2
1	208391098	T	C	PLXNA2
1	208391131	C	T	PLXNA2
1	21573855	G	A	ECE1
1	215808007	G	A	USH2A
1	215808022	T	C	USH2A
1	215821909	C	T	USH2A
1	215916563	G	A	USH2A
1	215960153	A	C	USH2A
1	215960167	T	G	USH2A
1	215987222	T	C	USH2A
1	216011361	T	C	USH2A
1	216011408	T	C	USH2A
1	216051125	G	A	USH2A
1	216172299	C	G	USH2A
1	216172380	A	G	USH2A
1	216219781	A	G	USH2A
1	216258213	A	G	USH2A
1	216348764	C	T	USH2A
1	216373416	A	C	USH2A
1	216462662	T	A	USH2A
1	216595306	C	T	USH2A
1	22141206	A	C	LDLRAD2
1	223284528	A	G	TLR5
1	223284599	T	C	TLR5
1	223285200	G	A	TLR5
1	223285833	G	T	TLR5
1	223285946	T	G	TLR5
1	238046056	G	A	ZP4
1	238053226	G	A	ZP4
1	241767708	C	T	OPN3
1	24454688	C	T	IL22RA1

Chr	위치	ref	alt	유전자
1	24460844	A	G	IL22RA1
1	244723989	C	A	C1orf101
1	244724277	C	T	C1orf101
1	247695756	T	C	OR2C3
1	247751731	C	G	OR2G2
1	247752161	T	C	OR2G2
1	247768948	C	T	OR2G3
1	247769425	G	A	OR2G3
1	247876020	A	G	OR6F1
1	247902448	G	A	OR14K1
1	247902693	G	T	OR14K1
1	247978517	A	G	OR14A16
1	247978541	AA GG	A	OR14A16
1	248004660	T	G	OR11L1
1	248004687	C	G	OR11L1
1	248059150	T	C	OR2W3
1	248059151	G	A	OR2W3
1	248059394	G	C	OR2W3
1	248059423	C	T	OR2W3
1	248059703	T	A	OR2W3
1	248084579	G	A	OR2T8
1	248084825	C	T	OR2T8
1	248084854	A	G	OR2T8
1	248084909	T	G	OR2T8
1	248085124	G	A	OR2T8
1	248128745	A	G	OR2AK2
1	248128929	G	A	OR2AK2
1	248129240	G	A	OR2AK2
1	248129486	C	T	OR2AK2
1	248202344	G	C	OR2L2
1	248436582	T	C	OR2T33
1	248436611	G	A	OR2T33
1	248436857	C	T	OR2T33
1	248458875	CT	C	OR2T12
1	248487300	C	T	OR2M7
1	248487338	C	A	OR2M7
1	248487834	G	T	OR2M7
1	248524937	AT GG GA CT CT TC	A	OR2T4

도면23d

Chr	위치	ref	alt	유전자
		AG AC AA TC CA AA CA TC CA AT GG CC AA TA TC AC CT GG AT GG CC AA CC AC AC TG GA TG GT CG GA TT TC AT CC TG T		
1	248524974	A	G	OR2T4
1	248550976	T	G	OR2T6
1	248569369	A	G	OR2T1
1	248604542	C	T	OR2T7
1	248604971	T	C	OR2T7
1	248605007	AC TT	A	OR2T7
1	248636713	G	C	OR2T3

Chr	위치	ref	alt	유전자
1	248636934	G	T	OR2T3
1	248637480	A	G	OR2T3
1	248651905	A	T	OR2T5
1	248652175	G	A	OR2T5
1	248722507	C	T	OR2T29
1	248722723	G	A	OR2T29
1	248722777	T	A	OR2T29
1	248737230	T	C	OR2T34
1	248801778	A	T	OR2T35
1	248813650	CA GA	C	OR2T27
1	248813695	A	G	OR2T27
1	248845097	C	T	OR14I1
1	248845356	G	T	OR14I1
1	2491306	G	A	TNFRSF14
1	26520292	G	T	CATSPER4
1	27709020	T	C	CD164L2
1	27709044	T	C	CD164L2
1	31347320	G	A	SDC3
1	31349647	C	T	SDC3
1	31381313	CC AG	C	SDC3
1	32084861	T	C	HCRTR1
1	34238283	T	C	CSMD2
1	34401453	A	G	CSMD2
1	35227005	CT	C	GJB4
1	35227007	TT GT C	T	GJB4
1	36937701	T	C	CSF3R
1	38197152	C	T	EPHA10
1	38227086	A	T	EPHA10
1	38227268	G	T	EPHA10
1	43296456	G	A	ERMAP
1	43770692	C	T	TIE1
1	44057042	A	G	PTPRF
1	45292937	T	G	PTCH2
1	48241061	G	A	TRABD2B
1	48694594	G	A	SLC5A9
1	48697277	C	T	SLC5A9
1	53746346	T	G	LRP8
1	53792651	A	C	LRP8
1	59042311	T	G	TACSTD2
1	59042388	C	G	TACSTD2

도면23e

Chr	위치	ref	alt	유전자
1	66036441	A	G	LEPR
1	66058513	A	G	LEPR
1	66075952	G	C	LEPR
1	79392756	C	A	ELTD1
1	86900372	C	G	CLCA2
1	86909582	G	A	CLCA2
1	90049071	G	A	LRRC8B
1	9079301	C	T	SLC2A7
1	9083094	G	T	SLC2A7
1	9188876	T	C	GPR157
1	94496053	G	A	ABCA4
1	94544234	T	C	ABCA4
1	94564483	C	T	ABCA4
1	9804693	C	T	CLSTN1
2	102955468	C	A	IL1RL1
2	109545691	T	C	EDAR
2	112686988	G	A	MERTK
2	112722854	G	A	MERTK
2	112751928	G	A	MERTK
2	112754942	A	G	MERTK
2	116503671	G	A	DPP10
2	116510817	G	C	DPP10
2	116525960	G	A	DPP10
2	116548675	G	A	DPP10
2	119739063	T	C	MARCO
2	125281910	C	T	CNTNAP5
2	125320888	A	C	CNTNAP5
2	131486765	C	G	GPR148
2	133175250	A	G	GPR39
2	136555659	T	C	LCT
2	136567203	T	C	LCT
2	136575534	T	C	LCT
2	137872746	G	A	THSD7B
2	137917922	T	A	THSD7B
2	137928320	C	T	THSD7B
2	137988626	C	T	THSD7B
2	137990678	C	T	THSD7B
2	138420996	A	G	THSD7B
2	141116447	G	T	LRP1B
2	141242918	T	C	LRP1B
2	141259399	A	C	LRP1B
2	141457962	C	T	LRP1B
2	142567910	T	C	LRP1B
2	1481155	G	T	TPO

Chr	위치	ref	alt	유전자
2	1481231	G	C	TPO
2	1488616	A	C	TPO
2	1497657	G	A	TPO
2	1499870	A	G	TPO
2	1499927	A	C	TPO
2	160673519	G	A	LY75
2	160673526	A	G	LY75
2	160676350	T	C	LY75
2	160676427	C	A	LY75
2	160710153	T	G	LY75
2	160711045	G	C	LY75
2	160729005	C	T	LY75
2	160743040	T	A	LY75
2	160808075	C	T	PLA2R1
2	160843746	GC	G	PLA2R1
2	160843748	T	G	PLA2R1
2	160879259	C	T	PLA2R1
2	160885418	G	C	PLA2R1
2	160885442	T	C	PLA2R1
2	160898583	G	T	PLA2R1
2	167279922	C	A	SCN7A
2	170003432	T	G	LRP2
2	170010985	T	C	LRP2
2	170053505	C	T	LRP2
2	170060512	C	G	LRP2
2	170070172	C	T	LRP2
2	170097707	T	G	LRP2
2	170175334	T	C	LRP2
2	173339808	G	A	ITGA6
2	173352507	G	T	ITGA6
2	173355958	G	A	ITGA6
2	182376480	T	A	ITGA4
2	182395345	G	A	ITGA4
2	187466842	A	C	ITGAV
2	187511466	A	G	ITGAV
2	192922499	G	A	TMEFF2
2	20403794	A	T	SDC1
2	206581033	G	A	NRP2
2	219029108	C	G	CXCR1
2	219029843	A	C	CXCR1
2	230341874	T	G	DNER
2	233406178	G	A	CHRNG
2	240969312	A	G	OR6B2
2	241558397	G	A	GPR35

도면23f

Chr	위치	ref	alt	유전자
2	26534801	G	A	GPR113
2	26534813	A	G	GPR113
2	26534872	C	T	GPR113
2	26536694	C	T	GPR113
2	26536727	C	T	GPR113
2	26539204	C	A	GPR113
2	26539806	A	G	GPR113
2	27435165	G	A	ATRAID
2	27435250	A	G	ATRAID
2	28814033	A	G	PLB1
2	28827625	C	T	PLB1
2	28843148	G	A	PLB1
2	28854958	C	T	PLB1
2	29448410	T	G	ALK
2	36744583	A	C	CRIM1
2	39893305	A	C	TMEM178A
2	44040401	G	C	ABCG5
2	47601106	T	C	EPCAM
2	47604176	C	T	EPCAM
2	48921375	T	C	LHCGR
2	48921438	T	C	LHCGR
2	68873071	A	G	PROKR1
2	70188531	C	T	ASPRV1
2	71036417	T	C	CLEC4F
2	71036482	T	C	CLEC4F
2	71043407	A	G	CLEC4F
2	71043461	C	T	CLEC4F
2	71043728	T	A	CLEC4F
2	71044076	T	C	CLEC4F
2	71058230	T	A	CD207
2	71058306	T	C	CD207
2	71060111	G	A	CD207
2	71060936	G	C	CD207
2	71061001	T	A	CD207
2	71061145	C	T	CD207
2	85059227	C	T	TRABD2A
2	85097590	C	T	TRABD2A
2	85554080	G	A	TGOLN2
2	95947085	A	G	PROM2
2	95947099	G	A	PROM2
3	100354524	A	G	GPR128
3	100368546	A	G	GPR128
3	100963154	G	A	IMPG2
3	102157417	A	G	ZPLD1

Chr	위치	ref	alt	유전자
3	102181131	A	G	ZPLD1
3	105258861	A	G	ALCAM
3	111286375	G	C	CD96
3	111780727	C	A	TMPRSS7
3	111780741	C	T	TMPRSS7
3	111799845	A	T	TMPRSS7
3	112059768	C	G	CD200
3	112063850	C	A	CD200
3	112647832	A	C	CD200R1
3	112648127	T	G	CD200R1
3	112648222	T	C	CD200R1
3	113251935	G	A	SIDT1
3	113251962	C	A	SIDT1
3	113890815	C	T	DRD3
3	118649060	G	T	IGSF11
3	118909159	A	G	UPK1B
3	118909892	A	G	UPK1B
3	121825197	G	A	CD86
3	121981215	A	G	CASR
3	122631896	A	T	SEMA5B
3	122632436	A	G	SEMA5B
3	122634665	G	C	SEMA5B
3	122640851	G	C	SEMA5B
3	122646828	A	G	SEMA5B
3	122694930	C	T	SEMA5B
3	124515498	T	C	ITGB5
3	124515636	C	T	ITGB5
3	124728626	A	G	HEG1
3	124731485	C	G	HEG1
3	124731689	T	A	HEG1
3	124731944	T	G	HEG1
3	124732618	A	G	HEG1
3	129293256	T	C	PLXND1
3	129304797	G	A	PLXND1
3	129305459	C	A	PLXND1
3	129305460	C	T	PLXND1
3	133941320	C	T	RYK
3	137743508	A	T	CLDN18
3	140178381	T	C	CLSTN2
3	140178485	G	A	CLSTN2
3	155571275	T	C	SLC33A1
3	164906806	T	C	SLITRK3
3	170136972	A	C	CLDN11
3	172232780	G	T	TNFSF10

도면23g

Chr	위치	ref	alt	유전자
3	174951756	T	C	NAALADL2
3	175345143	C	G	NAALADL2
3	175455116	A	G	NAALADL2
3	175473047	T	C	NAALADL2
3	178961025	G	C	KCNMB3
3	178961038	T	C	KCNMB3
3	183753777	G	A	HTR3D
3	183754278	C	G	HTR3D
3	183774762	C	A	HTR3C
3	183822145	C	T	HTR3E
3	183824398	G	A	HTR3E
3	184293716	A	C	EPHB3
3	193171979	T	A	ATP13A4
3	193209178	T	C	ATP13A4
3	194080916	G	A	LRRC15
3	194080983	C	T	LRRC15
3	194117911	C	G	GP5
3	194337901	T	C	TMEM44
3	194353875	G	T	TMEM44
3	195800811	C	T	TFRC
3	196388099	G	C	NRROS
3	27472936	C	T	SLC4A7
3	27473156	T	A	SLC4A7
3	3139957	T	C	IL5RA
3	33194990	C	A	SUSD5
3	33195309	A	G	SUSD5
3	33255592	A	G	SUSD5
3	37559040	A	G	ITGA9
3	37574951	G	A	ITGA9
3	37695260	A	G	ITGA9
3	38347851	A	G	SLC22A14
3	38350543	A	G	SLC22A14
3	3886665	G	A	LRRN1
3	391100	A	G	CHL1
3	39323163	A	C	CX3CR1
3	42555275	A	C	VIPR1
3	42906116	T	C	ACKR2
3	43602803	C	T	ANO10
3	439963	A	G	CHL1
3	45134822	T	C	CDCP1
3	45987980	G	A	CXCR6
3	46449164	G	A	CCRL2
3	46449175	G	A	CCRL2
3	46449581	A	G	CCRL2

Chr	위치	ref	alt	유전자
3	46450070	T	A	CCRL2
3	46450072	G	A	CCRL2
3	47618953	C	A	CSPG5
3	47619025	G	C	CSPG5
3	48461437	G	A	PLXNB1
3	48461530	G	A	PLXNB1
3	48463856	G	A	PLXNB1
3	48691316	T	C	CELSR3
3	48697654	C	G	CELSR3
3	49832788	G	A	CDHR4
3	49933240	G	A	MST1R
3	49933461	C	T	MST1R
3	49936102	T	C	MST1R
3	49936608	T	C	MST1R
3	49940078	C	T	MST1R
3	50513613	C	T	CACNA2D2
3	51747288	G	A	GRM2
3	52258319	G	A	TLR9
3	52551973	C	T	STAB1
3	53700459	T	G	CACNA1D
3	54420749	T	G	CACNA2D3
3	54420752	A	G	CACNA2D3
3	57138419	G	A	IL17RD
3	61975382	T	C	PTPRG
3	62189189	G	A	PTPRG
3	62189385	A	G	PTPRG
3	66434643	T	C	LRIG1
3	66436546	C	T	LRIG1
3	71803448	CG GC CG CG GC GG G	C	GPR27
3	7494417	A	T	GRM7
3	75986717	G	A	ROBO2
3	75986741	G	T	ROBO2
3	97726747	T	A	GABRR3
3	97783335	T	C	OR5AC1
3	97783823	C	G	OR5AC1
3	97783851	T	C	OR5AC1
3	97852083	C	T	OR5H1
3	97868795	A	G	OR5H14

도면23h

Chr	위치	ref	alt	유전자
3	97888322	T	TG	OR5H15
3	97888337	C	T	OR5H15
3	97983231	C	T	OR5H6
3	97983664	C	T	OR5H6
3	97983699	C	A	OR5H6
3	97983711	T	C	OR5H6
3	97983723	C	T	OR5H6
3	97983981	G	A	OR5H6
3	98072715	C	A	OR5K4
3	98109529	C	T	OR5K3
3	98110287	C	T	OR5K3
3	98217050	C	A	OR5K2
3	98251211	A	G	GPR15
3	98600385	T	C	DCBLD2
3	9953258	C	T	IL17RE
3	9959410	G	A	IL17RC
3	9960070	C	T	IL17RC
3	9991101	C	G	PRRT3
3	9991163	A	G	PRRT3
3	9991388	G	C	PRRT3
3	9991429	G	A	PRRT3
4	101386643	C	T	EMCN
4	101401161	TAAC	T	EMCN
4	1018705	C	A	FGFRL1
4	110864533	C	T	EGF
4	110883121	G	A	EGF
4	110901198	G	A	EGF
4	110902111	A	T	EGF
4	110908933	T	C	EGF
4	110914427	A	T	EGF
4	111398208	A	G	ENPEP
4	111409705	T	C	ENPEP
4	126241335	C	G	FAT4
4	126371814	C	T	FAT4
4	126372742	G	A	FAT4
4	126373570	C	T	FAT4
4	126373653	A	G	FAT4
4	128842876	C	G	MFSD8
4	142053488	G	A	RNF150
4	142053711	C	G	RNF150
4	144920596	G	A	GYPB
4	145041720	A	G	GYPA
4	154513627	A	G	KIAA0922

Chr	위치	ref	alt	유전자
4	154514965	T	C	KIAA0922
4	183601761	G	A	TENM3
4	187524464	G	A	FAT1
4	187531022	A	G	FAT1
4	187539323	C	T	FAT1
4	187540635	T	G	FAT1
4	187542755	T	C	FAT1
4	187542927	T	C	FAT1
4	187549428	C	T	FAT1
4	187557893	T	C	FAT1
4	187627792	T	C	FAT1
4	187629140	G	C	FAT1
4	187629770	A	C	FAT1
4	187630590	G	A	FAT1
4	187630597	C	G	FAT1
4	187630905	C	T	FAT1
4	22404391	G	A	GPR125
4	38776070	C	T	TLR10
4	38776235	A	G	TLR10
4	38776320	C	T	TLR10
4	38776491	T	G	TLR10
4	38776725	C	A	TLR10
4	38799399	G	T	TLR1
4	38799710	T	C	TLR1
4	38800214	C	G	TLR1
4	38800323	A	G	TLR1
4	38829675	C	T	TLR6
4	38829702	C	T	TLR6
4	38829815	A	G	TLR6
4	38830116	C	T	TLR6
4	38830350	A	G	TLR6
4	38830736	A	G	TLR6
4	39000305	A	G	TMEM156
4	39000475	T	C	TMEM156
4	39448529	G	A	KLB
4	39448586	C	T	KLB
4	47663760	T	G	CORIN
4	47663799	G	A	CORIN
4	47667064	T	C	CORIN
4	47695024	G	T	CORIN
4	47945295	C	T	CNGA1
4	53610402	G	A	ERVMER34-1

도면23i

Chr	위치	ref	alt	유전자
4	53611484	C	T	ERVMER34-1
4	55133806	G	A	PDGFRA
4	55139771	T	C	PDGFRA
4	55972974	T	A	KDR
4	55979558	C	T	KDR
4	5690902	T	C	EVC2
4	66467418	A	C	EPHA5
4	66509085	T	G	EPHA5
4	68784774	T	C	TMPRSS11A
4	68938185	C	T	TMPRSS11F
4	69094507	T	A	TMPRSS11B
4	69095197	T	C	TMPRSS11B
4	69337325	C	G	TMPRSS11E
4	69343287	A	G	TMPRSS11E
4	75695301	G	A	BTC
4	75937971	C	T	PARM1
4	78987157	A	G	FRAS1
4	79158715	G	C	FRAS1
4	79166478	A	T	FRAS1
4	79186200	C	T	FRAS1
4	79186257	T	C	FRAS1
4	79188027	A	G	FRAS1
4	79188584	C	T	FRAS1
4	79205699	T	A	FRAS1
4	79284694	C	T	FRAS1
4	79285146	C	G	FRAS1
4	79300993	G	A	FRAS1
4	79373353	C	T	FRAS1
4	79373436	G	A	FRAS1
4	79373499	G	A	FRAS1
4	79387464	A	G	FRAS1
4	79394702	G	A	FRAS1
4	79434685	T	G	FRAS1
4	79443837	A	T	FRAS1
4	79443850	G	A	FRAS1
4	79447763	T	C	FRAS1
4	80977133	G	A	ANTXR2
4	94006294	T	G	GRID2
4	96171659	T	G	UNC5C
5	101724448	G	C	SLCO6A1
5	101748741	G	C	SLCO6A1
5	115811248	G	T	SEMA6A
5	115811273	C	T	SEMA6A

Chr	위치	ref	alt	유전자
5	1213668	G	A	SLC6A19
5	1240749	A	G	SLC6A18
5	1245997	C	A	SLC6A18
5	126732256	A	C	MEGF10
5	126732427	G	A	MEGF10
5	131630568	G	C	SLC22A4
5	131630571	A	C	SLC22A4
5	131705926	A	C	SLC22A5
5	133295334	T	C	C5orf15
5	134343766	T	G	CATSPER3
5	140166953	A	G	PCDHA1
5	140167175	T	C	PCDHA1
5	140174622	G	A	PCDHA2
5	140174865	G	C	PCDHA2
5	140186937	G	T	PCDHA4
5	140187322	C	T	PCDHA4
5	140187664	A	G	PCDHA4
5	140188354	C	G	PCDHA4
5	140221098	C	G	PCDHA8
5	140221139	G	A	PCDHA8
5	140229086	C	G	PCDHA9
5	140229368	G	C	PCDHA9
5	140229581	G	C	PCDHA9
5	140229794	G	C	PCDHA9
5	140230122	G	A	PCDHA9
5	140474756	G	A	PCDHB2
5	140480852	G	A	PCDHB3
5	140481333	T	G	PCDHB3
5	140481475	A	T	PCDHB3
5	140481594	T	C	PCDHB3
5	140482013	G	A	PCDHB3
5	140502083	A	G	PCDHB4
5	140502343	C	T	PCDHB4
5	140502344	C	T	PCDHB4
5	140502841	G	A	PCDHB4
5	140503237	A	G	PCDHB4
5	140503531	C	T	PCDHB4
5	140515483	T	C	PCDHB5
5	140516407	G	A	PCDHB5
5	140530529	G	A	PCDHB6
5	140531592	C	T	PCDHB6
5	140531667	T	C	PCDHB6
5	140531746	C	G	PCDHB6
5	140562739	G	A	PCDHB16

도면23j

Chr	위치	ref	alt	유전자
5	140563173	G	T	PCDHB16
5	140563656	G	A	PCDHB16
5	140564048	G	C	PCDHB16
5	140564088	C	T	PCDHB16
5	140572763	C	G	PCDHB10
5	140573754	A	C	PCDHB10
5	140574079	C	T	PCDHB10
5	140574103	T	G	PCDHB10
5	140580931	C	G	PCDHB11
5	140581076	C	T	PCDHB11
5	140595625	G	A	PCDHB13
5	140604419	G	A	PCDHB14
5	140625897	G	A	PCDHB15
5	140626566	A	C	PCDHB15
5	140626627	G	A	PCDHB15
5	140626855	C	T	PCDHB15
5	140627020	G	T	PCDHB15
5	140627184	C	G	PCDHB15
5	140710705	G	A	PCDHGA1
5	140710810	G	A	PCDHGA1
5	140735215	G	A	PCDHGA4
5	140736689	G	A	PCDHGA4
5	140736814	G	C	PCDHGA4
5	141244356	C	T	PCDH1
5	141335498	C	T	PCDH12
5	145895558	G	A	GPR151
5	148206440	G	A	ADRB2
5	148206473	G	C	ADRB2
5	149450132	T	C	CSF1R
5	149509508	G	A	PDGFRB
5	150666907	A	G	SLC36A3
5	150897236	A	G	FAT2
5	150901261	C	T	FAT2
5	150901613	A	G	FAT2
5	150908812	C	T	FAT2
5	150908813	G	A	FAT2
5	150930186	C	T	FAT2
5	150930345	C	T	FAT2
5	150942969	G	A	FAT2
5	150945483	C	T	FAT2
5	150945518	C	T	FAT2
5	150946436	A	G	FAT2
5	150946773	G	A	FAT2
5	150948147	T	G	FAT2

Chr	위치	ref	alt	유전자
5	155935708	G	A	SGCD
5	156376703	A	G	TIMD4
5	156378666	G	A	TIMD4
5	156479426	T	C	HAVCR1
5	156479443	CT TG	C	HAVCR1
5	156479488	G	A	HAVCR1
5	156479509	A	G	HAVCR1
5	156531736	C	A	HAVCR2
5	156887270	C	T	NIPAL4
5	156918850	C	T	ADAM19
5	156936364	T	C	ADAM19
5	161116672	C	T	GABRA6
5	161529571	A	G	GABRG2
5	161529631	G	T	GABRG2
5	167642193	A	G	TENM2
5	169805866	G	A	KCNMB1
5	169810796	C	T	KCNMB1
5	175995711	C	A	CDHR2
5	176002734	G	A	CDHR2
5	176004476	T	C	CDHR2
5	176011579	T	C	CDHR2
5	176017455	C	T	CDHR2
5	176517797	C	T	FGFR4
5	177683377	T	C	COL23A1
5	177683905	G	A	COL23A1
5	177987740	C	T	COL23A1
5	178409927	G	A	GRM6
5	178421594	G	T	GRM6
5	178421770	T	G	GRM6
5	180049808	T	C	FLT4
5	180057293	T	C	FLT4
5	180058762	G	T	FLT4
5	180166256	C	T	OR2Y1
5	180338368	A	G	BTNL8
5	180374523	G	A	BTNL8
5	180420155	T	C	BTNL3
5	180424423	G	C	BTNL3
5	180477168	T	G	BTNL9
5	180551775	T	C	OR2V1
5	21765178	A	G	CDH12
5	21817206	T	C	CDH12
5	22078584	C	T	CDH12
5	35084647	T	C	PRLR

도면23k

Chr	위치	ref	alt	유전자
5	35861068	T	C	IL7R
5	35871190	G	A	IL7R
5	35965970	A	C	UGT3A1
5	36677083	G	C	SLC1A3
5	38486065	C	T	LIFR
5	38496637	C	T	LIFR
5	38527308	G	A	LIFR
5	38884071	T	G	OSMR
5	38921788	G	A	OSMR
5	52201722	C	T	ITGA1
5	52214581	G	A	ITGA1
5	52229745	T	G	ITGA1
5	52240810	A	G	ITGA1
5	52351838	G	A	ITGA2
5	52358757	G	A	ITGA2
5	55168132	A	G	IL31RA
5	55250727	A	G	IL6ST
5	55251931	G	C	IL6ST
5	55264153	C	G	IL6ST
5	66479383	T	C	CD180
5	66480374	G	C	CD180
5	66481777	G	C	CD180
5	75591710	C	G	SV2C
5	75594743	G	A	SV2C
5	75913784	T	C	F2RL2
5	89914925	T	G	GPR98
5	89920969	C	A	GPR98
5	89925169	T	C	GPR98
5	89949754	G	A	GPR98
5	89979518	C	T	GPR98
5	89979589	G	A	GPR98
5	89979698	C	T	GPR98
5	89979750	G	T	GPR98
5	89985882	A	G	GPR98
5	89988504	A	G	GPR98
5	89989802	A	G	GPR98
5	89990324	A	G	GPR98
5	90006849	G	A	GPR98
5	90012379	G	A	GPR98
5	90016871	G	A	GPR98
5	90021035	T	C	GPR98
5	90024735	G	A	GPR98
5	90052289	G	A	GPR98
5	90085654	T	C	GPR98

Chr	위치	ref	alt	유전자
5	90107108	A	G	GPR98
5	90119324	G	A	GPR98
5	90151589	G	A	GPR98
5	9050549	T	C	SEMA5A
5	96322360	G	A	LNPEP
5	96350710	G	A	LNPEP
5	96363459	A	G	LNPEP
5	99871518	A	G	FAM174A
6	10647272	C	T	GCNT6
6	117130544	A	C	GPRC6A
6	117130704	G	A	GPRC6A
6	117150008	G	A	GPRC6A
6	117650532	C	G	ROS1
6	117665231	T	C	ROS1
6	117683821	G	A	ROS1
6	117710661	T	C	ROS1
6	117724379	C	T	ROS1
6	117725448	T	G	ROS1
6	117860508	A	G	DCBLD1
6	132047245	G	A	ENPP3
6	132061420	G	A	ENPP3
6	132172368	A	C	ENPP1
6	132206079	C	T	ENPP1
6	132939217	C	T	TAAR2
6	137338202	T	C	IL20RA
6	14131854	A	G	CD83
6	142688969	A	G	GPR126
6	142689042	T	A	GPR126
6	142691549	A	C	GPR126
6	150158558	C	T	LRP11
6	150164259	A	C	LRP11
6	150174278	A	C	LRP11
6	150184601	G	A	LRP11
6	150184684	AG CA CG GC TG CC GG GG GC GC GG	A	LRP11

도면231

Chr	위치	ref	alt	유전자
		GG CG CC GG		
6	150184882	G	C	LRP11
6	150210681	G	A	RAET1E
6	150210685	C	T	RAET1E
6	150210723	C	T	RAET1E
6	150211071	C	T	RAET1E
6	150211123	A	T	RAET1E
6	150239484	C	T	RAET1G
6	150240829	G	C	RAET1G
6	154360569	C	T	OPRM1
6	154360797	A	G	OPRM1
6	160543148	C	T	SLC22A1
6	166307718	T	C	SDIM1
6	166307982	C	T	SDIM1
6	170593037	C	T	DLL1
6	24564540	A	G	KIAA0319
6	24564544	T	C	KIAA0319
6	24576631	C	T	KIAA0319
6	24596433	A	C	KIAA0319
6	24596478	T	G	KIAA0319
6	26091179	C	G	HFE
6	26093141	G	A	HFE
6	26370630	T	G	BTN3A2
6	26370657	A	G	BTN3A2
6	26370660	G	A	BTN3A2
6	26370748	G	A	BTN3A2
6	26388405	G	A	BTN2A2
6	26463574	G	T	BTN2A1
6	26463575	G	T	BTN2A1
6	26463660	G	A	BTN2A1
6	26505362	G	A	BTN1A1
6	27879551	C	G	OR2B2
6	27925827	A	G	OR2B6
6	29012712	T	C	OR2W1
6	29068759	C	A	OR2J1
6	29069264	T	C	OR2J1
6	29069299	C	T	OR2J1
6	29274486	T	C	OR14J1
6	29323905	A	C	OR5V1
6	29342775	G	A	OR12D3
6	29364508	T	C	OR12D2

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	29364951	G	A	OR12D2
6	29407800	C	A	OR10C1
6	29408275	C	A	OR10C1
6	29408313	C	A	OR10C1
6	29455465	G	A	MAS1L
6	29600104	G	A	GABBR1
6	29693011	C	T	HLA-F
6	29795913	A	T	HLA-G
6	29796376	C	A	HLA-G
6	29910557	T	A	HLA-A
6	29910566	G	A	HLA-A
6	29910660	A	G	HLA-A
6	29910688	A	G	HLA-A
6	29910693	A	G	HLA-A
6	29910698	G	A	HLA-A
6	29910721	G	C	HLA-A
6	29910750	C	T	HLA-A
6	29910761	G	A	HLA-A
6	29910767	G	C	HLA-A
6	29910801	C	A	HLA-A
6	29911064	A	G	HLA-A
6	29911086	T	C	HLA-A
6	29911092	G	T	HLA-A
6	29911098	T	C	HLA-A
6	29911198	T	C	HLA-A
6	29911207	G	A	HLA-A
6	29911218	G	A	HLA-A
6	29911222	C	T	HLA-A
6	29911271	G	C	HLA-A
6	29911296	G	A	HLA-A
6	29911306	C	T	HLA-A
6	29911970	G	A	HLA-A
6	29912028	AG	A	HLA-A
6	29912030	G	C	HLA-A
6	29912042	G	A	HLA-A
6	29912085	C	T	HLA-A
6	29912153	A	G	HLA-A
6	29912297	A	G	HLA-A
6	30458064	G	A	HLA-E
6	30459165	C	T	HLA-E
6	30916705	A	G	DPCR1
6	30917212	T	C	DPCR1
6	30917482	C	T	DPCR1
6	30954245	T	C	MUC21

도면23m

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	30954356	C	T	MUC21
6	30954389	GG GC TA GC AC AG CC AC CA AC TC TG AC TC CA GC AC AA CC	G	MUC21
6	30954559	A	C	MUC21
6	30954560	C	T	MUC21
6	30954684	G	C	MUC21
6	30954909	C	G	MUC21
6	30955010	C	T	MUC21
6	30955247	C	T	MUC21
6	30955250	A	G	MUC21
6	30993377	T	A	MUC22
6	30993440	G	A	MUC22
6	30993494	G	C	MUC22
6	30993533	A	G	MUC22
6	30993590	A	G	MUC22
6	30993719	A	G	MUC22
6	30993776	A	T	MUC22
6	30993813	G	A	MUC22
6	30993866	A	T	MUC22
6	30993880	G	C	MUC22
6	30994022	AC CA CA GG CT	A	MUC22
6	30994025	A	G	MUC22
6	30994034	GA GA	G	MUC22

Chr	위치	ref	alt	유전자
		CC AC TA CA AT CC TG AT TA		
6	30994059	C	G	MUC22
6	30994248	C	G	MUC22
6	30994253	G	A	MUC22
6	30994259	A	T	MUC22
6	30994283	G	A	MUC22
6	30994412	G	A	MUC22
6	30994431	C	T	MUC22
6	30994470	C	G	MUC22
6	30994532	G	T	MUC22
6	30994617	C	G	MUC22
6	30994635	C	T	MUC22
6	30994730	G	A	MUC22
6	30995114	AC	A	MUC22
6	30995178	C	T	MUC22
6	30995187	T	C	MUC22
6	30995297	A	G	MUC22
6	30995532	T	C	MUC22
6	30995786	A	G	MUC22
6	30995894	A	T	MUC22
6	30996132	C	T	MUC22
6	30996154	TG AG AC CA CC AC AG CC TC TA CT GA AG GC TC C	T	MUC22

도면23n

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	30996314	A	G	MUC22
6	30996354	C	T	MUC22
6	30996487	GA CC	G	MUC22
6	30996509	G	A	MUC22
6	30996699	A	C	MUC22
6	30996959	G	A	MUC22
6	30996981	T	TC A	MUC22
6	30996984	C	A	MUC22
6	30997334	A	G	MUC22
6	30997352	A	G	MUC22
6	30997517	A	T	MUC22
6	30997692	G	C	MUC22
6	30997824	T	C	MUC22
6	30997877	G	C	MUC22
6	30999997	T	C	MUC22
6	31000005	T	A	MUC22
6	31237862	T	C	HLA-C
6	31238002	G	A	HLA-C
6	31238027	C	A	HLA-C
6	31238053	G	C	HLA-C
6	31238068	C	T	HLA-C
6	31238155	G	A	HLA-C
6	31238232	G	A	HLA-C
6	31238868	C	T	HLA-C
6	31238880	C	T	HLA-C
6	31238886	A	G	HLA-C
6	31238925	C	T	HLA-C
6	31238970	T	A	HLA-C
6	31239006	G	T	HLA-C
6	31239060	A	G	HLA-C
6	31239116	G	A	HLA-C
6	31239407	G	T	HLA-C
6	31239417	C	T	HLA-C
6	31239430	C	T	HLA-C
6	31239449	C	G	HLA-C
6	31239501	G	T	HLA-C
6	31239543	C	T	HLA-C
6	31239585	C	T	HLA-C
6	31239607	G	A	HLA-C
6	31239616	C	A	HLA-C
6	31239630	C	T	HLA-C
6	31322980	C	T	HLA-B

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	31323115	T	C	HLA-B
6	31323202	T	C	HLA-B
6	31323262	G	A	HLA-B
6	31323321	G	A	HLA-B
6	31323337	T	C	HLA-B
6	31323953	C	G	HLA-B
6	31323958	T	G	HLA-B
6	31323991	C	G	HLA-B
6	31324022	TC C	T	HLA-B
6	31324064	T	A	HLA-B
6	31324100	G	T	HLA-B
6	31324210	G	A	HLA-B
6	31324492	GC	G	HLA-B
6	31324506	C	T	HLA-B
6	31324524	GC C	G	HLA-B
6	31324542	T	C	HLA-B
6	31324549	T	C	HLA-B
6	31324552	G	C	HLA-B
6	31324580	T	C	HLA-B
6	31324582	T	C	HLA-B
6	31324599	T	G	HLA-B
6	31324615	C	T	HLA-B
6	31324641	T	A	HLA-B
6	31324647	T	C	HLA-B
6	31324674	C	T	HLA-B
6	31324702	C	T	HLA-B
6	31378388	G	A	MICA
6	31378864	A	G	MICA
6	31378932	G	A	MICA
6	31378956	C	G	MICA
6	31378977	G	A	MICA
6	31379043	A	G	MICA
6	31379109	G	A	MICA
6	31379115	G	A	MICA
6	31379134	C	G	MICA
6	31379795	A	G	MICA
6	31379807	C	T	MICA
6	31379817	T	C	MICA
6	31379823	C	G	MICA
6	31379931	G	A	MICA
6	31473546	A	G	MICB
6	31473561	A	G	MICB

도면23o

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	31473957	C	G	MICB
6	31474000	G	A	MICB
6	31474820	C	T	MICB
6	31475056	G	A	MICB
6	31836976	G	A	SLC44A4
6	31839309	C	T	SLC44A4
6	32178570	C	T	NOTCH4
6	32185796	C	T	NOTCH4
6	32188383	T	C	NOTCH4
6	32188640	T	C	NOTCH4
6	32188823	G	A	NOTCH4
6	32188943	G	A	NOTCH4
6	32190390	T	G	NOTCH4
6	32362703	G	T	BTNL2
6	32362741	C	T	BTNL2
6	32362745	G	A	BTNL2
6	32363816	T	C	BTNL2
6	32363888	C	T	BTNL2
6	32364011	T	C	BTNL2
6	32364046	T	A	BTNL2
6	32370816	G	A	BTNL2
6	32370835	T	C	BTNL2
6	32370879	C	T	BTNL2
6	32370927	G	A	BTNL2
6	32370969	TG	T	BTNL2
6	32370975	C	T	BTNL2
6	32370993	C	T	BTNL2
6	32372863	A	T	BTNL2
6	32487165	G	C	HLA-DRB5
6	32487170	G	A	HLA-DRB5
6	32487215	C	T	HLA-DRB5
6	32487242	G	A	HLA-DRB5
6	32487294	C	T	HLA-DRB5
6	32487309	T	C	HLA-DRB5
6	32487353	T	C	HLA-DRB5
6	32487398	C	T	HLA-DRB5
6	32487402	C	A	HLA-DRB5
6	32489708	C	A	HLA-DRB5
6	32489711	A	G	HLA-DRB5
6	32489732	T	A	HLA-DRB5
6	32489733	A	C	HLA-DRB5
6	32489735	G	T	HLA-DRB5
6	32489786	T	G	HLA-DRB5
6	32489792	G	T	HLA-DRB5

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	32489796	C	T	HLA-DRB5
6	32489813	G	C	HLA-DRB5
6	32489825	T	A	HLA-DRB5
6	32489888	A	T	HLA-DRB5
6	32489919	G	A	HLA-DRB5
6	32489949	G	A	HLA-DRB5
6	32497914	C	T	HLA-DRB5
6	32548628	G	A	HLA-DRB1
6	32548632	T	A	HLA-DRB1
6	32549340	C	G	HLA-DRB1
6	32549357	G	A	HLA-DRB1
6	32549424	C	T	HLA-DRB1
6	32549475	T	C	HLA-DRB1
6	32549481	C	T	HLA-DRB1
6	32549520	T	C	HLA-DRB1
6	32549525	C	G	HLA-DRB1
6	32549531	T	C	HLA-DRB1
6	32549540	C	T	HLA-DRB1
6	32549579	TG	T	HLA-DRB1
6	32549588	G	A	HLA-DRB1
6	32549589	A	C	HLA-DRB1
6	32551886	C	T	HLA-DRB1
6	32551915	A	G	HLA-DRB1
6	32551939	G	T	HLA-DRB1
6	32551990	T	G	HLA-DRB1
6	32551996	G	T	HLA-DRB1
6	32552000	C	T	HLA-DRB1
6	32552029	A	T	HLA-DRB1
6	32552048	C	T	HLA-DRB1
6	32552075	A	G	HLA-DRB1
6	32552092	A	T	HLA-DRB1
6	32552123	G	A	HLA-DRB1
6	32552143	C	T	HLA-DRB1
6	32552146	AG	A	HLA-DRB1
6	32605309	A	G	HLA-DQA1
6	32609105	G	A	HLA-DQA1
6	32609126	T	C	HLA-DQA1
6	32609147	A	T	HLA-DQA1
6	32609150	C	G	HLA-DQA1
6	32609173	C	G	HLA-DQA1
6	32609192	A	G	HLA-DQA1
6	32609195	G	A	HLA-DQA1
6	32609207	C	T	HLA-DQA1
6	32609213	G	A	HLA-DQA1

도면23p

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	32609216	G	T	HLA-DQA1
6	32609220	TGA	T	HLA-DQA1
6	32609221	G	C	HLA-DQA1
6	32609222	A	T	HLA-DQA1
6	32609224	T	TTC	HLA-DQA1
6	32609229	C	A	HLA-DQA1
6	32609231	A	G	HLA-DQA1
6	32609238	AGGT	A	HLA-DQA1
6	32609239	G	A	HLA-DQA1
6	32609254	G	T	HLA-DQA1
6	32609255	G	T	HLA-DQA1
6	32609264	G	C	HLA-DQA1
6	32609276	TGG	T	HLA-DQA1
6	32609806	C	T	HLA-DQA1
6	32609874	T	G	HLA-DQA1
6	32609952	T	C	HLA-DQA1
6	32609964	G	T	HLA-DQA1
6	32609965	C	A	HLA-DQA1
6	32609969	T	G	HLA-DQA1
6	32609974	T	G	HLA-DQA1
6	32610401	G	A	HLA-DQA1
6	32629755	G	A	HLA-DQB1
6	32629764	C	T	HLA-DQB1
6	32629891	C	T	HLA-DQB1
6	32629905	T	C	HLA-DQB1
6	32629920	C	T	HLA-DQB1
6	32629931	C	G	HLA-DQB1
6	32629935	C	G	HLA-DQB1
6	32629936	C	T	HLA-DQB1
6	32629963	C	T	HLA-DQB1
6	32632593	C	T	HLA-DQB1
6	32632599	A	G	HLA-DQB1
6	32632605	C	A	HLA-DQB1
6	32632608	C	G	HLA-DQB1
6	32632650	C	T	HLA-DQB1
6	32632659	C	T	HLA-DQB1
6	32632660	T	G	HLA-DQB1
6	32632700	T	A	HLA-DQB1
6	32632703	G	A	HLA-DQB1
6	32632721	A	T	HLA-DQB1

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	32632724	C	T	HLA-DQB1
6	32632745	G	A	HLA-DQB1
6	32632748	T	A	HLA-DQB1
6	32632769	T	C	HLA-DQB1
6	32632775	G	C	HLA-DQB1
6	32632790	C	A	HLA-DQB1
6	32632818	T	G	HLA-DQB1
6	32632832	A	T	HLA-DQB1
6	32634282	A	G	HLA-DQB1
6	32713784	C	A	HLA-DQA2
6	32726753	G	A	HLA-DQB2
6	32726788	T	C	HLA-DQB2
6	32726803	C	T	HLA-DQB2
6	33036853	A	C	HLA-DPA1
6	33036951	A	G	HLA-DPA1
6	33036999	T	C	HLA-DPA1
6	33037424	T	C	HLA-DPA1
6	33037474	A	G	HLA-DPA1
6	33037522	T	C	HLA-DPA1
6	33037579	A	T	HLA-DPA1
6	33037580	T	G	HLA-DPA1
6	33037639	G	A	HLA-DPA1
6	33037640	C	T	HLA-DPA1
6	33053577	G	A	HLA-DPB1
6	33659472	C	G	ITPR3
6	39033595	G	A	GLP1R
6	40400288	C	T	LRFN2
6	41119109	CTCT	C	TREML1
6	41162518	T	C	TREML2
6	41162562	G	C	TREML2
6	41166021	C	T	TREML2
6	41166149	A	G	TREML2
6	41166154	G	C	TREML2
6	41250466	T	A	TREM1
6	41303995	A	G	NCR2
6	41309552	T	C	NCR2
6	42891022	G	A	PTCRA
6	46108083	A	G	ENPP4
6	46801071	G	T	MEP1A
6	46801092	A	G	MEP1A
6	46803018	A	T	MEP1A
6	46803102	A	G	MEP1A
6	46827073	A	G	GPR116

도면23q

Chr	위치	ref	alt	유전자
6	46827239	C	T	GPR116
6	46834685	G	A	GPR116
6	46977458	T	C	GPR110
6	46977783	C	T	GPR110
6	47624239	A	G	GPR111
6	47624299	A	G	GPR111
6	47626833	C	A	GPR111
6	47646748	T	C	GPR111
6	47646842	A	G	GPR111
6	47649265	T	A	GPR111
6	47649574	A	G	GPR111
6	51497519	C	T	PKHD1
6	51612837	C	T	PKHD1
6	51777251	G	A	PKHD1
6	51875250	A	C	PKHD1
6	51890823	G	A	PKHD1
6	51910905	T	C	PKHD1
6	51914956	G	A	PKHD1
6	51920465	A	C	PKHD1
6	55196587	C	T	GFRAL
6	69349073	A	G	BAI3
6	69666684	A	G	BAI3
6	70407465	A	T	LMBRD1
6	87994504	C	T	GJB7
6	89926962	T	C	GABRR1
6	89926966	T	C	GABRR1
6	94120219	G	A	EPHA7
6	94120639	T	C	EPHA7
6	97247547	C	T	GPR63
7	100218631	C	T	TFR2
7	100230864	G	C	TFR2
7	100350763	T	G	ZAN
7	100353013	TA CA	T	ZAN
7	100361675	G	A	ZAN
7	100361819	C	T	ZAN
7	100366284	T	C	ZAN
7	100367573	T	C	ZAN
7	100371114	C	T	ZAN
7	100371358	G	A	ZAN
7	100371417	G	A	ZAN
7	100371474	G	A	ZAN
7	100373077	C	G	ZAN
7	100373367	G	C	ZAN

Chr	위치	ref	alt	유전자
7	100374087	A	G	ZAN
7	100377082	T	C	ZAN
7	100377138	A	AG GG C	ZAN
7	100377364	G	A	ZAN
7	100385532	A	C	ZAN
7	100385578	G	C	ZAN
7	100385714	G	A	ZAN
7	100386900	T	C	ZAN
7	100389590	C	T	ZAN
7	100395003	G	C	ZAN
7	100612952	G	A	MUC12
7	100612955	A	AC TG	MUC12
7	100612961	G	C	MUC12
7	100634356	G	A	MUC12
7	100634358	C	T	MUC12
7	100634821	A	G	MUC12
7	100634838	C	A	MUC12
7	100634877	C	T	MUC12
7	100634892	G	A	MUC12
7	100634933	G	C	MUC12
7	100634964	C	A	MUC12
7	100635205	C	T	MUC12
7	100635375	A	C	MUC12
7	100635535	C	T	MUC12
7	100635661	T	C	MUC12
7	100635679	C	G	MUC12
7	100635767	G	C	MUC12
7	100636147	C	T	MUC12
7	100636383	G	A	MUC12
7	100636408	G	A	MUC12
7	100636446	G	A	MUC12
7	100636447	A	G	MUC12
7	100636461	C	A	MUC12
7	100636551	C	T	MUC12
7	100636584	T	C	MUC12
7	100637008	C	A	MUC12
7	100637035	A	C	MUC12
7	100637193	C	A	MUC12
7	100637547	G	A	MUC12
7	100637556	G	A	MUC12
7	100637605	A	C	MUC12

도면23r

Chr	위치	ref	alt	유전자
7	100637839	C	G	MUC12
7	100637887	A	G	MUC12
7	100638135	G	A	MUC12
7	100638279	T	C	MUC12
7	100638444	G	A	MUC12
7	100638484	A	T	MUC12
7	100638828	C	T	MUC12
7	100638856	A	G	MUC12
7	100639012	C	T	MUC12
7	100639054	G	A	MUC12
7	100639066	C	T	MUC12
7	100639147	A	G	MUC12
7	100639153	C	T	MUC12
7	100639177	C	T	MUC12
7	100639203	A	C	MUC12
7	100639632	G	A	MUC12
7	100639708	C	T	MUC12
7	100641130	C	T	MUC12
7	100641631	C	T	MUC12
7	100641744	C	T	MUC12
7	100641745	G	A	MUC12
7	100641798	C	G	MUC12
7	100641913	G	A	MUC12
7	100641922	C	G	MUC12
7	100642455	G	A	MUC12
7	100642924	G	A	MUC12
7	100642986	G	A	MUC12
7	100643073	C	A	MUC12
7	100643080	C	T	MUC12
7	100643088	A	G	MUC12
7	100643104	C	T	MUC12
7	100643155	A	T	MUC12
7	100643490	G	T	MUC12
7	100643638	C	G	MUC12
7	100643832	C	G	MUC12
7	100644027	C	A	MUC12
7	100644059	G	C	MUC12
7	100644082	G	A	MUC12
7	100644089	C	A	MUC12
7	100644090	G	A	MUC12
7	100644167	T	G	MUC12
7	100644184	C	T	MUC12
7	100644303	G	A	MUC12
7	100644660	G	A	MUC12

Chr	위치	ref	alt	유전자
7	100644772	C	T	MUC12
7	100644793	C	T	MUC12
7	100645453	C	T	MUC12
7	100645525	A	C	MUC12
7	100645569	T	A	MUC12
7	100645825	C	A	MUC12
7	100646199	T	C	MUC12
7	100646322	C	A	MUC12
7	100646364	G	A	MUC12
7	100646676	A	G	MUC12
7	100646712	A	C	MUC12
7	100647276	C	A	MUC12
7	100647338	C	A	MUC12
7	100647339	G	A	MUC12
7	100647553	G	A	MUC12
7	100647565	C	T	MUC12
7	100647646	A	G	MUC12
7	100647652	C	T	MUC12
7	100647702	A	C	MUC12
7	100647819	C	T	MUC12
7	100648029	G	A	MUC12
7	100648117	C	G	MUC12
7	100648476	T	C	MUC12
7	100675128	G	A	MUC17
7	100675376	A	C	MUC17
7	100675512	G	A	MUC17
7	100675976	G	A	MUC17
7	100676409	C	T	MUC17
7	100677279	G	C	MUC17
7	100677285	G	A	MUC17
7	100677333	C	G	MUC17
7	100677405	G	A	MUC17
7	100677429	G	A	MUC17
7	100677455	G	A	MUC17
7	100677516	A	G	MUC17
7	100677523	A	C	MUC17
7	100677572	A	G	MUC17
7	100677630	C	T	MUC17
7	100677642	C	T	MUC17
7	100677645	C	A	MUC17
7	100677704	C	T	MUC17
7	100677710	A	G	MUC17
7	100677714	C	T	MUC17
7	100677816	G	A	MUC17

도면23s

Chr	위치	ref	alt	유전자
7	100677944	T	C	MUC17
7	100677974	A	G	MUC17
7	100677995	A	G	MUC17
7	100678013	G	A	MUC17
7	100678029	G	C	MUC17
7	100678032	T	C	MUC17
7	100678173	C	T	MUC17
7	100678370	C	T	MUC17
7	100678421	T	A	MUC17
7	100678433	A	T	MUC17
7	100678434	C	A	MUC17
7	100678464	C	T	MUC17
7	100678481	A	T	MUC17
7	100678527	G	T	MUC17
7	100678568	A	T	MUC17
7	100678610	A	T	MUC17
7	100678616	G	A	MUC17
7	100678622	G	A	MUC17
7	100678740	T	C	MUC17
7	100679136	T	C	MUC17
7	100679316	T	A	MUC17
7	100679318	A	C	MUC17
7	100679366	A	G	MUC17
7	100679388	A	C	MUC17
7	100679390	A	G	MUC17
7	100679550	G	A	MUC17
7	100679754	C	G	MUC17
7	100679760	G	A	MUC17
7	100680132	G	A	MUC17
7	100680137	C	T	MUC17
7	100680256	A	C	MUC17
7	100680268	A	G	MUC17
7	100680269	G	C	MUC17
7	100680286	T	G	MUC17
7	100680521	G	A	MUC17
7	100680761	G	A	MUC17
7	100680939	C	A	MUC17
7	100680983	G	A	MUC17
7	100681172	A	G	MUC17
7	100681751	A	G	MUC17
7	100683036	T	C	MUC17
7	100683050	T	G	MUC17
7	100683053	A	G	MUC17
7	100683864	C	T	MUC17

Chr	위치	ref	alt	유전자
7	100684593	G	A	MUC17
7	100686491	G	C	MUC17
7	100686777	C	T	MUC17
7	100695138	G	A	MUC17
7	105615406	G	A	CDHR3
7	105615426	G	C	CDHR3
7	105658451	G	A	CDHR3
7	110762920	G	A	LRRN3
7	11500372	C	T	THSD7A
7	11581121	T	C	THSD7A
7	116340262	A	G	MET
7	11676065	G	C	THSD7A
7	11871406	G	C	THSD7A
7	121653250	G	A	PTPRZ1
7	121653398	G	A	PTPRZ1
7	122635173	A	C	TAS2R16
7	123514896	G	T	HYAL4
7	126173902	G	C	GRM8
7	126542667	A	T	GRM8
7	128843396	G	A	SMO
7	131191476	C	T	PODXL
7	131193739	C	T	PODXL
7	131194255	G	C	PODXL
7	131195712	G	A	PODXL
7	131195959	C	T	PODXL
7	132193371	G	A	PLXNA4
7	138486096	G	C	TMEM213
7	141478308	T	C	TAS2R4
7	141478800	G	A	TAS2R4
7	142563253	T	G	EPHB6
7	142749439	T	C	OR6V1
7	142749919	G	A	OR6V1
7	142749928	T	C	OR6V1
7	142750243	G	A	OR6V1
7	142919731	C	A	TAS2R40
7	143097100	A	G	EPHA1
7	143632618	C	T	OR2F2
7	143632833	A	G	OR2F2
7	143771557	T	C	OR2A25
7	143792991	G	A	OR2A12
7	143806688	C	A	OR2A2
7	143826697	C	G	OR2A14
7	143826729	AC TT	A	OR2A14

도면23t

Chr	위치	ref	alt	유전자
7	143929434	G	C	OR2A42
7	143956181	A	C	OR2A7
7	147183121	A	C	CNTNAP2
7	147674989	A	C	CNTNAP2
7	147926842	A	C	CNTNAP2
7	154684153	T	C	DPP6
7	157931091	C	T	PTPRN2
7	157931144	C	T	PTPRN2
7	157931151	C	G	PTPRN2
7	157959794	T	C	PTPRN2
7	157959895	C	T	PTPRN2
7	157959911	A	G	PTPRN2
7	157959965	C	T	PTPRN2
7	157985149	C	G	PTPRN2
7	23300255	C	T	GPNMB
7	23300345	C	T	GPNMB
7	2692639	A	G	TTYH3
7	30915263	A	G	AQP1
7	31008686	G	A	GHRHR
7	31009576	G	T	GHRHR
7	34818113	A	T	NPSR1
7	44578836	T	C	NPC1L1
7	45216926	G	A	RAMP3
7	45217015	T	C	RAMP3
7	47840310	C	G	PKD1L1
7	47840387	C	T	PKD1L1
7	47847865	G	A	PKD1L1
7	47851623	C	T	PKD1L1
7	47852837	C	T	PKD1L1
7	47886583	T	C	PKD1L1
7	47913579	T	C	PKD1L1
7	47925525	G	T	PKD1L1
7	47927650	G	A	PKD1L1
7	47927744	C	T	PKD1L1
7	47930180	T	C	PKD1L1
7	47933494	C	T	PKD1L1
7	47968927	C	A	PKD1L1
7	5327517	A	C	SLC29A4
7	55229255	G	A	EGFR
7	76054372	G	A	ZP3
7	76069811	T	C	ZP3
7	76069881	A	G	ZP3
7	76069886	A	G	ZP3
7	76069902	G	C	ZP3

Chr	위치	ref	alt	유전자
7	76071228	A	G	ZP3
7	80300449	T	G	CD36
7	86539251	A	C	KIAA1324L
7	86539302	G	C	KIAA1324L
7	92098776	C	T	ERVW-1
7	92099196	A	G	ERVW-1
7	99473858	G	C	OR2AE1
7	99526754	G	A	GJC3
7	99971849	A	G	PILRA
8	10390452	C	T	PRSS55
8	10396056	G	C	PRSS55
8	10411495	T	C	PRSS55
8	10411512	TG	T	PRSS55
8	104312432	A	G	FZD6
8	104336788	C	G	FZD6
8	105361354	G	C	DCSTAMP
8	105367121	A	G	DCSTAMP
8	110397780	A	G	PKHD1L1
8	110406671	T	A	PKHD1L1
8	110413762	T	C	PKHD1L1
8	110437443	T	C	PKHD1L1
8	110441582	A	G	PKHD1L1
8	110448635	A	G	PKHD1L1
8	110455184	C	T	PKHD1L1
8	110455187	A	T	PKHD1L1
8	110455321	C	A	PKHD1L1
8	110457011	A	G	PKHD1L1
8	110460488	G	T	PKHD1L1
8	110476776	G	A	PKHD1L1
8	110492279	G	A	PKHD1L1
8	110495303	T	C	PKHD1L1
8	110504218	A	G	PKHD1L1
8	110510993	C	A	PKHD1L1
8	110523026	T	G	PKHD1L1
8	110527429	C	T	PKHD1L1
8	113241088	T	G	CSMD3
8	113299353	A	G	CSMD3
8	114186003	T	C	CSMD3
8	116725	T	G	OR4F21
8	145640235	C	T	SLC39A4
8	145640411	A	G	SLC39A4
8	145641328	C	T	SLC39A4
8	145641417	G	A	SLC39A4
8	145642002	C	T	SLC39A4

도면23u

Chr	위치	ref	alt	유전자
8	22262321	T	C	SLC39A14
8	22886020	A	G	TNFRSF10B
8	22900701	G	A	TNFRSF10B
8	23058220	T	G	TNFRSF10A
8	23059324	C	G	TNFRSF10A
8	23060256	T	C	TNFRSF10A
8	23082369	C	G	TNFRSF10A
8	23082477	G	A	TNFRSF10A
8	24178738	G	T	ADAM28
8	24199218	C	A	ADAM28
8	24339679	G	A	ADAM7
8	24356818	A	C	ADAM7
8	27324822	T	C	CHRNA2
8	27516955	G	A	SCARA3
8	27528446	T	C	SCARA3
8	27729527	C	T	SCARA5
8	27767231	C	G	SCARA5
8	27779093	G	A	SCARA5
8	27779612	G	A	SCARA5
8	2909992	G	A	CSMD1
8	3000108	C	G	CSMD1
8	3076959	T	C	CSMD1
8	3245054	C	T	CSMD1
8	32453358	G	A	NRG1
8	37654907	A	G	GPR124
8	37690619	A	C	GPR124
8	38879190	C	T	ADAM9
8	39080632	C	G	ADAM32
8	39112033	T	C	ADAM32
8	39564367	A	G	ADAM18
8	70594420	C	A	SLCO5A1
8	82607068	C	G	SLC10A5
8	95143186	C	G	CDH17
8	95188850	T	C	CDH17
8	97614625	G	A	SDC2
8	97614661	T	A	SDC2
9	104385711	C	T	GRIN3A
9	104433235	C	T	GRIN3A
9	104433255	C	T	GRIN3A
9	107266596	T	C	OR13F1
9	107267352	T	C	OR13F1
9	107299001	C	A	OR13C3
9	107331504	C	A	OR13C8
9	107360910	G	A	OR13C5

Chr	위치	ref	alt	유전자
9	107361111	T	C	OR13C5
9	107361129	C	T	OR13C5
9	107361460	G	A	OR13C5
9	107361642	G	A	OR13C5
9	107367392	TG TT A	T	OR13C2
9	107367664	AG C	A	OR13C2
9	107367841	A	T	OR13C2
9	107379895	G	T	OR13C9
9	107380215	T	A	OR13C9
9	107456763	T	C	OR13D1
9	107562804	T	C	ABCA1
9	107620835	G	A	ABCA1
9	107620867	C	T	ABCA1
9	113538122	G	A	MUSK
9	116018501	C	G	SLC31A1
9	120475302	A	G	TLR4
9	120475602	C	T	TLR4
9	123476303	A	C	MEGF9
9	125273574	G	A	OR1J2
9	125289521	G	A	OR1N1
9	125315557	T	C	OR1N2
9	125316028	T	C	OR1N2
9	125330714	G	A	OR1L8
9	125377087	A	G	OR1Q1
9	125377505	A	G	OR1Q1
9	125391241	G	A	OR1B1
9	125424189	C	G	OR1L1
9	125437482	G	A	OR1L3
9	125512193	C	A	OR1L6
9	125512245	C	T	OR1L6
9	125512770	T	C	OR1L6
9	125562651	G	A	OR1K1
9	125563212	T	C	OR1K1
9	127215344	A	G	GPR144
9	127215772	C	G	GPR144
9	127215778	C	T	GPR144
9	127220392	G	C	GPR144
9	127220938	G	C	GPR144
9	127231554	G	A	GPR144
9	127231579	A	G	GPR144
9	139399320	C	T	NOTCH1

도면23v

Chr	위치	ref	alt	유전자
9	139413097	T	G	NOTCH1
9	139417464	T	G	NOTCH1
9	139748483	G	A	MAMDC4
9	139751164	G	A	MAMDC4
9	139751649	G	A	MAMDC4
9	140332478	A	G	ENTPD8
9	24543732	C	T	IZUMO3
9	24545451	G	A	IZUMO3
9	2635545	G	A	VLDLR
9	27168571	T	C	TEK
9	27190655	G	A	TEK
9	27203078	G	A	TEK
9	33385698	A	G	AQP7
9	33385733	C	T	AQP7
9	33387044	T	A	AQP7
9	33387047	T	G	AQP7
9	33387060	C	G	AQP7
9	34371788	A	T	KIAA1161
9	34372347	G	T	KIAA1161
9	35612978	G	A	CD72
9	35674347	A	T	CA9
9	35679251	A	G	CA9
9	35957615	T	C	OR2S2
9	35957831	G	A	OR2S2
9	35958047	T	C	OR2S2
9	39085808	T	C	CNTNAP3
9	39088517	C	A	CNTNAP3
9	39100130	G	C	CNTNAP3
9	39102655	A	G	CNTNAP3
9	39103743	C	T	CNTNAP3
9	39118196	C	A	CNTNAP3
9	39133031	C	A	CNTNAP3
9	43800940	G	A	CNTNAP3B
9	43822668	C	T	CNTNAP3B
9	43822704	G	A	CNTNAP3B
9	43822762	C	T	CNTNAP3B
9	43844281	G	C	CNTNAP3B
9	43849812	T	G	CNTNAP3B
9	43853583	CT	C	CNTNAP3B
9	43861081	T	G	CNTNAP3B
9	43891504	A	T	CNTNAP3B
9	43891683	G	A	CNTNAP3B
9	5431913	A	G	PLGRKT
9	72459437	C	T	C9orf135

Chr	위치	ref	alt	유전자
9	74305098	C	T	TMEM2
9	74319677	T	C	TMEM2
9	74332970	G	A	TMEM2
9	74349846	A	T	TMEM2
9	74360096	C	T	TMEM2
9	74360234	C	T	TMEM2
9	78853916	G	C	PCSK5
9	78854033	T	A	PCSK5
9	78910241	A	C	PCSK5
9	78910273	G	A	PCSK5
9	78923638	C	T	PCSK5
9	78936358	G	A	PCSK5
9	78936492	A	G	PCSK5
9	78937974	C	T	PCSK5
9	78938043	G	A	PCSK5
9	78938186	G	C	PCSK5
9	78969059	C	A	PCSK5
9	8485787	C	G	PTPRD
9	8518052	G	C	PTPRD
9	91994101	G	A	SEMA4D
9	91994433	C	T	SEMA4D
9	92003679	C	T	SEMA4D
9	94493330	G	C	ROR2
9	94495608	T	C	ROR2
10	101560169	G	A	ABCC2
10	102056790	G	A	PKD2L1
10	102057262	C	T	PKD2L1
10	102057362	A	C	PKD2L1
10	104678350	G	A	CNNM2
10	105810400	T	C	COL17A1
10	115804036	A	G	ADRB1
10	117075090	T	G	ATRNL1
10	120353843	G	A	PRLHR
10	123310871	A	G	FGFR2
10	135084781	G	A	ADAM8
10	135086766	G	A	ADAM8
10	15573050	A	G	ITGA8
10	15649698	T	G	ITGA8
10	15649710	G	A	ITGA8
10	15719621	C	G	ITGA8
10	18116531	C	T	MRC1
10	18138639	A	G	MRC1
10	18183217	G	A	MRC1
10	18242311	A	G	SLC39A12

도면23

Chr	위치	ref	alt	유전자
10	20506418	G	A	PLXDC2
10	25464527	C	A	GPR158
10	33199278	T	G	ITGB1
10	33475282	C	T	NRP1
10	35929254	GC CC GC GC CC GC GC CC GC CG CG CC CG CG CC CG CC GC CG CG CC GC CC GC GC CC CC AG CG CC C	G	FZD8
10	35929308	AG CG CC CC CC	A	FZD8
10	47658590	G	C	ANTXRL
10	47658597	T	G	ANTXRL
10	47669277	C	G	ANTXRL
10	47674009	G	A	ANTXRL
10	50315893	A	G	VSTM4

Chr	위치	ref	alt	유전자
10	55755491	C	T	PCDH15
10	55892642	T	C	PCDH15
10	55955444	T	G	PCDH15
10	55955610	C	T	PCDH15
10	6002368	T	G	IL15RA
10	6063567	C	T	IL2RA
10	71176012	A	G	TACR2
10	71176066	T	C	TACR2
10	71265955	A	G	TSPAN15
10	71582188	C	T	COL13A1
10	71690231	G	A	COL13A1
10	72015429	C	A	NPFFR1
10	73046617	A	G	UNC5B
10	73103969	T	C	SLC29A3
10	73111408	C	T	SLC29A3
10	73199595	C	T	CDH23
10	73434888	G	C	CDH23
10	73434906	G	A	CDH23
10	73515221	T	C	C10orf54
10	73520632	A	C	C10orf54
10	73544086	G	A	CDH23
10	73550117	C	G	CDH23
10	73558128	G	A	CDH23
10	73558886	G	A	CDH23
10	73558952	C	T	CDH23
10	73571765	T	C	CDH23
10	85960404	G	C	CDHR1
10	85962824	C	T	CDHR1
10	86017740	C	T	RGR
10	87489317	T	C	GRID1
10	88414569	C	T	OPN4
10	97453464	T	G	TCTN3
10	97607266	G	A	ENTPD1
11	102272839	C	A	TMEM123
11	102272884	C	T	TMEM123
11	112832299	C	T	NCAM1
11	112832308	A	AG	NCAM1
11	113561054	A	G	TMPRSS5
11	113567640	TG	T	TMPRSS5
11	113803028	A	C	HTR3B
11	113803666	G	A	HTR3B
11	117403235	G	T	DSCAML1
11	117864063	A	G	IL10RA
11	117864846	A	G	IL10RA

도면23x

Chr	위치	ref	alt	유전자
11	117978578	G	A	TMPRSS4
11	117982464	A	G	TMPRSS4
11	117988105	C	T	TMPRSS4
11	118074337	A	G	AMICA1
11	118081345	A	T	AMICA1
11	119181832	C	G	MCAM
11	119185677	T	C	MCAM
11	119215586	C	T	MFRP
11	119216504	C	T	MFRP
11	119216555	T	C	MFRP
11	120811161	G	A	GRIK4
11	121393684	G	A	SORL1
11	121437819	C	G	SORL1
11	121491782	G	A	SORL1
11	122722440	C	A	CRTAM
11	122726430	A	G	CRTAM
11	122955402	C	T	CLMP
11	123624425	T	C	OR6X1
11	123624658	G	T	OR6X1
11	123814478	A	G	OR6T1
11	123847558	C	T	OR10S1
11	123848121	T	C	OR10S1
11	123886307	C	T	OR10G4
11	123886550	C	T	OR10G4
11	123886822	C	T	OR10G4
11	123886865	T	A	OR10G4
11	123893745	C	T	OR10G9
11	123893988	C	T	OR10G9
11	123894234	A	G	OR10G9
11	123894246	A	G	OR10G9
11	123900385	C	A	OR10G8
11	123900916	C	T	OR10G8
11	123909650	C	G	OR10G7
11	123909653	G	T	OR10G7
11	123909656	G	A	OR10G7
11	123909671	G	A	OR10G7
11	123909695	G	C	OR10G7
11	124056566	G	A	OR10D3
11	124180082	A	G	OR8D1
11	124189306	G	A	OR8D2
11	124190036	G	A	OR8D2
11	124252750	G	A	OR8B2
11	124253170	G	A	OR8B2
11	124266697	A	AG	OR8B3

Chr	위치	ref	alt	유전자
11	124267177	T	C	OR8B3
11	124294236	A	G	OR8B4
11	124294703	T	C	OR8B4
11	124413261	A	T	OR8B12
11	124440617	C	T	OR8A1
11	124742365	G	A	ROBO3
11	124746180	C	T	ROBO3
11	125864206	T	C	CDON
11	125871715	G	A	CDON
11	125885283	G	C	CDON
11	125889526	C	T	CDON
11	125891269	C	T	CDON
11	125891295	T	C	CDON
11	126343227	T	C	KIRREL3
11	130010313	G	A	APLP2
11	130058437	G	A	ST14
11	130060569	G	A	ST14
11	130064567	A	G	ST14
11	1769226	G	T	IFITM10
11	18158993	T	C	MRGPRX3
11	18159254	A	G	MRGPRX3
11	18159455	T	C	MRGPRX3
11	18194827	C	G	MRGPRX4
11	18194878	T	G	MRGPRX4
11	18195051	T	C	MRGPRX4
11	18195537	A	G	MRGPRX4
11	1855821	G	C	SYT8
11	1856344	C	A	SYT8
11	19077904	T	G	MRGPRX2
11	2432666	C	T	TRPM5
11	26586801	G	A	MUC15
11	26660708	T	G	ANO3
11	26743240	C	T	SLC5A12
11	27390220	T	C	LGR4
11	27393886	G	A	LGR4
11	3239559	G	A	MRGPRG
11	3239818	C	T	MRGPRG
11	3249984	C	T	MRGPRE
11	35226155	A	G	CD44
11	35229673	T	C	CD44
11	408174	G	T	SIGIRR
11	44940828	G	A	TSPAN18
11	4608116	T	C	OR52I2
11	4615767	A	G	OR52I1

도면23y

Chr	위치	ref	alt	유전자
11	4615771	A	G	OR52I1
11	4615837	G	A	OR52I1
11	4615857	G	A	OR52I1
11	4616062	C	T	OR52I1
11	4674282	A	G	OR51E1
11	46886077	A	T	LRP4
11	46897446	G	A	LRP4
11	46898771	T	C	LRP4
11	46916179	T	G	LRP4
11	46917868	A	G	LRP4
11	48145375	A	C	PTPRJ
11	48146522	G	A	PTPRJ
11	48146622	G	A	PTPRJ
11	48149352	G	A	PTPRJ
11	48166267	G	C	PTPRJ
11	48285906	C	T	OR4X1
11	48285981	CC TT	C	OR4X1
11	48346523	C	T	OR4C3
11	48346541	A	T	OR4C3
11	48346547	C	T	OR4C3
11	48346551	C	A	OR4C3
11	48346962	A	G	OR4C3
11	48346996	G	A	OR4C3
11	48347014	G	A	OR4C3
11	48347067	C	T	OR4C3
11	48347267	T	C	OR4C3
11	48387186	A	G	OR4C5
11	48387201	G	A	OR4C5
11	48387424	G	T	OR4C5
11	48387668	C	G	OR4C5
11	48387683	GT	G	OR4C5
11	48387689	T	C	OR4C5
11	48387705	C	T	OR4C5
11	48387890	T	C	OR4C5
11	48387894	C	T	OR4C5
11	48387900	G	A	OR4C5
11	48387917	AT	A	OR4C5
11	48387930	T	C	OR4C5
11	48387945	C	CC A	OR4C5
11	48387960	T	C	OR4C5
11	48387978	T	A	OR4C5
11	48387983	T	C	OR4C5

Chr	위치	ref	alt	유전자
11	48510919	C	A	OR4A47
11	49186274	G	A	FOLH1
11	49204779	C	T	FOLH1
11	49208267	G	A	FOLH1
11	49227620	A	G	FOLH1
11	49973979	C	T	OR4C13
11	5020799	C	T	OR51L1
11	5068297	G	A	OR52J3
11	5080068	G	A	OR52E2
11	5080337	T	C	OR52E2
11	5080359	G	A	OR52E2
11	5080844	T	C	OR52E2
11	5091576	A	AC	OR52E1
11	51411914	T	C	OR4A5
11	51412327	T	A	OR4A5
11	51412353	A	T	OR4A5
11	51412379	T	C	OR4A5
11	51435852	G	T	OR4A8P
11	51435866	A	G	OR4A8P
11	51515834	C	A	OR4C46
11	5172786	A	G	OR52A1
11	5172795	A	AC	OR52A1
11	55135435	C	T	OR4A15
11	55136219	C	T	OR4A15
11	55321823	T	A	OR4C15
11	55339652	C	T	OR4C16
11	55340170	A	C	OR4C16
11	55340379	T	C	OR4C16
11	55371381	G	A	OR4C11
11	55371807	A	T	OR4C11
11	55371828	G	T	OR4C11
11	55418620	G	A	OR4S2
11	55563602	G	A	OR5D14
11	55587914	A	G	OR5D18
11	55594936	T	G	OR5L2
11	55606472	T	C	OR5D16
11	55681566	G	A	OR5W2
11	55703861	T	C	OR5I1
11	55761528	T	C	OR5F1
11	55861277	GT	G	OR8I2
11	55861297	A	G	OR8I2
11	55861306	CA	C	OR8I2
11	55873013	A	T	OR8H2
11	55873026	G	T	OR8H2

도면23z

Chr	위치	ref	alt	유전자
11	55873293	T	C	OR8H2
11	55889895	C	T	OR8H3
11	55890356	G	T	OR8H3
11	55904382	A	C	OR8J3
11	55927763	C	T	OR8K5
11	55978721	G	A	OR8J2
11	55979047	T	G	OR8J2
11	55979246	G	A	OR8J2
11	55999737	G	C	OR5T2
11	56000471	G	A	OR5T2
11	56000600	G	T	OR5T2
11	56020049	T	C	OR5T3
11	56058474	T	A	OR8H1
11	56058535	C	T	OR8H1
11	56086299	G	A	OR8K3
11	56113516	T	C	OR8K1
11	56113575	A	G	OR8K1
11	56113593	C	A	OR8K1
11	56113764	G	A	OR8K1
11	56127971	T	G	OR8J1
11	56143103	G	A	OR8U1
11	56143108	C	G	OR8U1
11	56143113	A	G	OR8U1
11	56143125	C	T	OR8U1
11	56143158	A	G	OR8U1
11	56143370	G	A	OR8U1
11	56143371	T	G	OR8U1
11	56143394	A	G	OR8U1
11	56143592	C	T	OR8U1
11	56185224	A	G	OR5R1
11	56185689	A	G	OR5R1
11	56237966	T	C	OR5M3
11	56310222	C	T	OR5M11
11	56431216	C	T	OR5AR1
11	56431667	G	A	OR5AR1
11	56468155	T	G	OR9G1
11	56468368	C	T	OR9G1
11	56468416	G	A	OR9G1
11	56468449	A	T	OR9G1
11	56511160	A	G	OR9G4
11	56756398	G	T	OR5AK2
11	56756399	G	T	OR5AK2
11	56756664	G	A	OR5AK2
11	56756915	A	G	OR5AK2

Chr	위치	ref	alt	유전자
11	57114109	G	A	P2RX3
11	5758051	G	A	OR56B1
11	5758270	G	A	OR56B1
11	5776479	A	C	OR52N4
11	5776779	T	C	OR52N4
11	57958497	T	C	OR9Q2
11	57982229	A	G	OR1S1
11	57982763	A	G	OR1S1
11	57982832	T	A	OR1S1
11	57995777	G	A	OR10Q1
11	5809241	T	C	OR52N1
11	5809548	G	A	OR52N1
11	5809746	C	T	OR52N1
11	5809806	GA	G	OR52N1
11	5809811	G	T	OR52N1
11	58125774	A	G	OR5B17
11	58126305	A	T	OR5B17
11	58170342	C	T	OR5B3
11	58170374	T	C	OR5B3
11	5842356	A	G	OR52N2
11	5842384	C	G	OR52N2
11	5862845	A	G	OR52E6
11	58978684	G	A	MPEG1
11	58978940	C	T	MPEG1
11	58979393	G	A	MPEG1
11	5906048	G	A	OR52E4
11	59189912	G	A	OR5A2
11	59211188	G	A	OR5A1
11	59224464	G	C	OR4D6
11	59224720	A	G	OR4D6
11	59225221	T	C	OR4D6
11	59282960	C	G	OR4D9
11	60070176	A	G	MS4A4A
11	6007613	T	G	OR52L1
11	60637164	C	T	ZP1
11	60775227	C	T	CD6
11	60776186	C	T	CD6
11	60776209	C	T	CD6
11	60776306	C	T	CD6
11	60777073	G	A	CD6
11	60886913	C	T	CD5
11	6129837	C	T	OR56B4
11	6221249	A	G	OR52W1
11	62656046	A	C	SLC3A2

도면23aa

Chr	위치	ref	alt	유전자
11	6291120	G	A	CCKBR
11	63057925	G	A	SLC22A10
11	64480930	A	T	NRXN2
11	64820695	T	G	NAALADL1
11	66083129	T	C	CD248
11	6646584	C	T	DCHS1
11	6647461	A	T	DCHS1
11	6648388	G	A	DCHS1
11	6648424	G	A	DCHS1
11	6790106	T	C	OR2AG2
11	68030173	C	A	C11orf24
11	6806827	G	T	OR2AG1
11	68115489	A	G	LRP5
11	6816875	G	A	OR6A2
11	68174189	G	A	LRP5
11	68201295	C	T	LRP5
11	6867167	C	A	OR10A5
11	6867199	C	T	OR10A5
11	68777323	T	C	MRGPRF
11	6891758	A	C	OR10A2
11	6912921	AT T	A	OR2D2
11	6913243	T	C	OR2D2
11	6913244	A	G	OR2D2
11	6913482	G	A	OR2D2
11	74907582	C	T	SLCO2B1
11	75152243	C	T	GDPD5
11	76371418	C	T	LRRC32
11	76371705	C	G	LRRC32
11	76954788	T	TA	GDPD4
11	76954812	T	C	GDPD4
11	76954833	G	A	GDPD4
11	76979550	T	C	GDPD4
11	7818471	C	T	OR5P2
11	78525384	T	G	TENM4
11	78565314	C	G	TENM4
11	7949707	A	G	OR10A6
11	89880604	G	A	NAALAD2
11	89883708	A	G	NAALAD2
11	89883726	C	T	NAALAD2
11	89902154	A	G	NAALAD2
11	92086513	C	T	FAT3
11	92086662	A	G	FAT3
11	92531356	A	G	FAT3

Chr	위치	ref	alt	유전자
11	92533057	A	G	FAT3
11	92534442	A	G	FAT3
11	92702962	G	A	MTNR1B
11	93797619	A	G	HEPHL1
12	10041364	G	A	KLRF2
12	10046052	C	A	KLRF2
12	10069302	C	T	CLEC2A
12	101336201	G	C	ANO4
12	10137557	A	C	CLEC12A
12	101560328	C	A	SLC5A8
12	10279261	G	T	CLEC7A
12	10313448	C	G	OLR1
12	104062457	T	G	STAB2
12	104069795	G	A	STAB2
12	104124018	A	C	STAB2
12	104139034	C	A	STAB2
12	104153004	C	G	STAB2
12	10560957	T	C	KLRC4
12	10571091	T	G	KLRC3
12	10571658	C	T	KLRC3
12	10587111	A	G	KLRC2
12	108985945	A	G	TMEM119
12	108985976	G	A	TMEM119
12	108986017	G	A	TMEM119
12	109017264	T	C	SELPLG
12	109017266	G	A	SELPLG
12	109017411	GA GT GG TC TG TG CC TC CA TG GC TG CT GG TG GA GT GG	G	SELPLG

도면23ab

Chr	위치	ref	alt	유전자
		TC TG TG CT TC CA TG GC TG CT GG TG C		
12	109017650	GG AG TG GT CT GT GC CT CC GT GG GC AC TG GT T	G	SELPLG
12	109017898	C	T	SELPLG
12	10954383	T	A	TAS2R7
12	10954632	C	A	TAS2R7
12	10954916	A	G	TAS2R7
12	10978402	G	A	TAS2R10
12	11061122	T	C	TAS2R13
12	11149711	C	A	TAS2R20
12	11149720	A	G	TAS2R20
12	11150033	G	T	TAS2R20
12	11150240	T	C	TAS2R20
12	11183427	T	G	TAS2R31
12	11183484	C	G	TAS2R31
12	11183642	A	G	TAS2R31
12	11183676	C	T	TAS2R31
12	11183697	C	A	TAS2R31
12	11214437	T	C	TAS2R46

Chr	위치	ref	alt	유전자
12	11244299	A	G	TAS2R43
12	11244303	T	C	TAS2R43
12	11244309	A	G	TAS2R43
12	11244378	C	G	TAS2R43
12	11244603	T	A	TAS2R43
12	11286088	A	C	TAS2R30
12	11338750	T	C	TAS2R42
12	11339020	T	A	TAS2R42
12	113753203	G	A	SLC8B1
12	113758166	G	A	SLC8B1
12	118511726	C	T	VSIG10
12	121592689	T	C	P2RX7
12	121600253	T	C	P2RX7
12	121666646	A	G	P2RX4
12	122079295	A	G	ORAI1
12	12301898	C	T	LRP6
12	12483134	T	A	MANSC1
12	12483764	C	T	MANSC1
12	12496086	C	T	MANSC1
12	125834697	A	T	TMEM132B
12	126137060	C	T	TMEM132B
12	126138520	G	A	TMEM132B
12	128899673	A	G	TMEM132C
12	128899675	G	A	TMEM132C
12	128899748	G	A	TMEM132C
12	128899885	G	A	TMEM132C
12	128900005	G	A	TMEM132C
12	129153986	G	A	TMEM132C
12	129189702	C	G	TMEM132C
12	129189941	G	A	TMEM132C
12	129559086	C	A	TMEM132D
12	129559421	C	T	TMEM132D
12	130185054	A	T	TMEM132D
12	13103266	G	T	GPRC5D
12	131456080	T	G	GPR133
12	131498802	T	G	GPR133
12	1910786	C	T	CACNA2D4
12	21207389	T	C	SLCO1B7
12	21329738	A	G	SLCO1B1
12	21329813	C	A	SLCO1B1
12	26383834	G	A	SSPN
12	27916224	A	G	MANSC4
12	47186770	C	T	SLC38A4
12	48596484	A	T	OR10AD1

도면23ac

Chr	위치	ref	alt	유전자
12	48596546	C	T	OR10AD1
12	48597053	A	G	OR10AD1
12	48919659	T	C	OR8S1
12	51236931	G	A	TMPRSS12
12	51237816	G	A	TMPRSS12
12	53591647	T	A	ITGB7
12	55523586	AT	A	OR9K2
12	55523685	C	T	OR9K2
12	55523860	A	C	OR9K2
12	55524172	G	A	OR9K2
12	55641075	A	G	OR6C74
12	55641328	G	A	OR6C74
12	55688448	G	A	OR6C6
12	55688454	G	C	OR6C6
12	55714876	C	G	OR6C1
12	55725746	A	T	OR6C3
12	55820104	G	A	OR6C76
12	55846538	C	G	OR6C2
12	55945258	T	C	OR6C4
12	55968994	G	C	OR2AP1
12	56030938	C	T	OR10P1
12	56089357	C	T	ITGA7
12	56090126	C	T	ITGA7
12	57578673	G	A	LRP1
12	63544601	C	T	AVPR1A
12	6443001	G	A	TNFRSF1A
12	6464581	C	T	SCNN1A
12	6554628	G	A	CD27
12	6925294	T	C	CD4
12	6925407	C	T	CD4
12	70963619	G	A	PTPRB
12	70970293	T	C	PTPRB
12	70983895	A	C	PTPRB
12	71002893	C	T	PTPRB
12	71016340	C	T	PTPRB
12	71029733	C	T	PTPRB
12	71533622	C	T	TSPAN8
12	7288432	A	G	CLSTN3
12	7527124	A	G	CD163L1
12	7548996	C	G	CD163L1
12	7549009	C	T	CD163L1
12	7586017	C	T	CD163L1
12	7586260	T	C	CD163L1
12	7637769	G	A	CD163

Chr	위치	ref	alt	유전자
12	7640079	A	T	CD163
12	7649484	T	C	CD163
12	7890040	G	T	CLEC4C
12	7894056	G	A	CLEC4C
12	80818876	A	G	PTPRQ
12	80828843	A	G	PTPRQ
12	80855803	G	A	PTPRQ
12	80855825	C	T	PTPRQ
12	80878310	C	G	PTPRQ
12	80878317	G	A	PTPRQ
12	80889829	T	A	PTPRQ
12	80899901	C	A	PTPRQ
12	80933609	A	G	PTPRQ
12	80935345	T	C	PTPRQ
12	80935411	G	C	PTPRQ
12	81007527	T	C	PTPRQ
12	85266484	G	A	SLC6A15
12	9750669	A	G	KLRB1
12	9885578	G	A	CLECL1
12	9985915	G	T	KLRF1
13	114303822	G	A	ATP4B
13	23824818	G	A	SGCG
13	24167505	T	A	TNFRSF19
13	26624789	C	T	SHISA2
13	26624935	C	T	SHISA2
13	28624294	G	A	FLT3
13	33590718	G	A	KL
13	33628138	T	G	KL
13	33628193	G	C	KL
13	33629393	C	T	KL
13	39263646	G	A	FREM2
13	39264083	C	G	FREM2
13	39264597	T	A	FREM2
13	39264690	T	C	FREM2
13	39343822	C	T	FREM2
13	39424253	C	G	FREM2
13	39430314	C	T	FREM2
13	39452993	C	T	FREM2
13	52523808	C	T	ATP7B
13	53420344	A	G	PCDH8
13	53421473	T	C	PCDH8
13	86369403	T	C	SLITRK6
13	99356611	C	T	SLC15A1
13	99358401	C	G	SLC15A1

도면23ad

Chr	위치	ref	alt	유전자
13	99376181	C	T	SLC15A1
14	101195359	A	T	DLK1
14	101200860	G	A	DLK1
14	105609836	G	A	JAG2
14	105614675	T	G	JAG2
14	105614734	C	T	JAG2
14	105617042	C	T	JAG2
14	19377881	G	A	OR11H12
14	19377907	A	C	OR11H12
14	19378189	G	T	OR11H12
14	20295627	C	G	OR4N2
14	20389039	A	G	OR4K5
14	20389541	T	C	OR4K5
14	20389543	T	C	OR4K5
14	20404076	A	T	OR4K1
14	20404091	G	A	OR4K1
14	20404395	G	A	OR4K1
14	20404614	C	A	OR4K1
14	20444012	A	T	OR4K15
14	20444026	T	G	OR4K15
14	20470852	CT	C	OR4Q2
14	20528250	G	T	OR4L1
14	20528448	TC AT AG AT TT GC TC AC TG AC	T	OR4L1
14	20528682	T	C	OR4L1
14	20612465	A	G	OR4N5
14	20612672	T	C	OR4N5
14	20665538	C	T	OR11G2
14	20665627	A	G	OR11G2
14	20665640	G	A	OR11G2
14	20665840	G	A	OR11G2
14	20691888	C	A	OR11H6
14	20691962	C	G	OR11H6
14	20692188	T	C	OR11H6
14	20692453	G	T	OR11H6
14	23312594	G	A	MMP14

Chr	위치	ref	alt	유전자
14	24780016	G	A	LTB4R2
14	38724185	C	T	CLEC14A
14	53019944	A	G	GPR137C
14	53019964	CG CT GC AG CC TC AG GC GC CG CG	C	GPR137C
14	58563694	G	C	C14orf37
14	58605043	G	A	C14orf37
14	58605072	C	G	C14orf37
14	59931931	T	G	GPR135
14	70924955	A	C	ADAM21
14	70925501	G	C	ADAM21
14	74876355	G	C	SYNDIG1L
14	86089315	G	A	FLRT2
14	92958522	A	C	SLC24A4
14	96703484	C	T	BDKRB2
15	100269635	G	C	LYSMD4
15	100269680	G	C	LYSMD4
15	100269737	G	A	LYSMD4
15	102462478	TT AT C	T	OR4F4
15	22368855	T	C	OR4M2
15	22368862	G	A	OR4M2
15	22369132	G	A	OR4M2
15	22382728	C	T	OR4N4
15	22383249	G	A	OR4N4
15	28260053	G	A	OCA2
15	31369123	A	G	TRPM1
15	31453147	G	A	TRPM1
15	32446127	G	A	CHRNA7
15	41803754	G	A	LTK
15	41860490	T	A	TYRO3
15	45392075	G	A	DUOX2
15	45399075	G	A	DUOX2
15	45403967	A	G	DUOX2

도면23ae

Chr	위치	ref	alt	유전자
15	45404066	G	A	DUOX2
15	45427488	C	T	DUOX1
15	48056219	A	G	SEMA6D
15	48058071	G	A	SEMA6D
15	51676020	T	G	GLDN
15	51696856	G	A	GLDN
15	55929515	C	G	PRTG
15	55972797	T	C	PRTG
15	65688138	A	G	IGDCC4
15	65689267	T	C	IGDCC4
15	65916527	A	T	SLC24A1
15	65917355	T	G	SLC24A1
15	66411441	C	T	MEGF11
15	66850362	C	T	LCTL
15	68605169	G	A	ITGA11
15	68609647	G	T	ITGA11
15	68628049	T	G	ITGA11
15	68628163	C	T	ITGA11
15	73994806	C	T	CD276
15	73995173	C	T	CD276
15	73996066	G	A	CD276
15	73996101	G	A	CD276
15	75310766	A	G	SCAMP5
15	75969335	C	T	CSPG4
15	75970070	C	T	CSPG4
15	75981550	C	T	CSPG4
15	75981551	G	A	CSPG4
15	75981803	G	A	CSPG4
15	75981816	C	T	CSPG4
15	75981841	AC CT CC AG CA CC AG	A	CSPG4
15	75981860	C	T	CSPG4
15	75982058	T	A	CSPG4
15	75982072	G	A	CSPG4
15	75982085	C	T	CSPG4
15	75982271	C	T	CSPG4
15	75982492	G	A	CSPG4
15	75982513	A	G	CSPG4
15	75982581	G	C	CSPG4

Chr	위치	ref	alt	유전자
15	75982670	G	A	CSPG4
15	75985464	C	T	CSPG4
15	75985469	A	C	CSPG4
15	76254311	C	T	NRG4
15	78922229	T	C	CHRNB4
15	85448875	C	A	SLC28A1
15	85478696	C	T	SLC28A1
15	85478729	G	A	SLC28A1
15	90039643	T	C	RHCG
15	90335788	C	T	ANPEP
15	90344352	T	C	ANPEP
15	90347814	G	A	ANPEP
15	90349558	C	T	ANPEP
15	90764219	G	A	SEMA4B
15	90768942	C	T	SEMA4B
15	93198678	TT GG AG C	T	FAM174B
15	93198784	A	G	FAM174B
16	1250389	A	G	CACNA1H
16	14956982	G	A	NOMO1
16	14960480	A	G	NOMO1
16	14988868	A	G	NOMO1
16	1584438	G	C	TMEM204
16	1584446	G	C	TMEM204
16	16358944	G	A	NOMO3
16	16367613	G	T	NOMO3
16	19041595	G	A	TMC7
16	19471571	G	A	TMC5
16	19475099	C	A	TMC5
16	2140554	G	A	PKD1
16	2152387	A	G	PKD1
16	2152865	C	G	PKD1
16	2153414	A	T	PKD1
16	2155426	T	C	PKD1
16	2158672	G	A	PKD1
16	2158680	C	T	PKD1
16	2159341	C	T	PKD1
16	2160973	A	G	PKD1
16	2161666	G	A	PKD1
16	2161744	G	A	PKD1
16	2162361	A	G	PKD1
16	2164211	G	A	PKD1

도면23af

Chr	위치	ref	alt	유전자
16	2164808	C	T	PKD1
16	2165395	G	A	PKD1
16	2166538	G	A	PKD1
16	23388540	G	T	SCNN1B
16	24902299	C	G	SLC5A11
16	27356203	A	G	IL4R
16	28944396	C	G	CD19
16	29675114	C	T	SPN
16	29675326	A	G	SPN
16	29899123	G	T	SEZ6L2
16	29979430	T	C	TMEM219
16	30124072	C	G	GDPD3
16	30492823	C	T	ITGAL
16	30516565	C	A	ITGAL
16	30518041	G	C	ITGAL
16	309998	C	T	ITFG3
16	31276811	G	A	ITGAM
16	31336888	C	T	ITGAM
16	31367318	T	C	ITGAX
16	31371674	G	A	ITGAX
16	31374535	C	G	ITGAX
16	31391120	T	C	ITGAX
16	318822	G	T	ITFG3
16	3405986	G	A	OR2C1
16	426329	A	C	TMEM8A
16	426432	T	C	TMEM8A
16	427479	T	C	TMEM8A
16	57689805	A	C	GPR56
16	57710156	C	T	GPR97
16	57718325	G	A	GPR97
16	57935442	G	A	CNGB1
16	57935470	C	T	CNGB1
16	57937788	T	C	CNGB1
16	58079165	G	A	MMP15
16	65022234	C	T	CDH11
16	65025718	G	A	CDH11
16	66432381	T	C	CDH5
16	66432423	T	C	CDH5
16	66944180	C	T	CDH16
16	66945947	C	T	CDH16
16	66948130	G	A	CDH16
16	68325203	T	A	SLC7A6
16	68719113	G	A	CDH3
16	68721533	G	C	CDH3

Chr	위치	ref	alt	유전자
16	76482747	C	G	CNTNAP4
16	76501304	G	C	CNTNAP4
16	76532583	A	G	CNTNAP4
16	76587202	T	G	CNTNAP4
16	81180988	C	G	PKD1L2
16	81180995	T	C	PKD1L2
16	81181097	G	T	PKD1L2
16	81181783	T	C	PKD1L2
16	81181821	T	C	PKD1L2
16	81181869	T	C	PKD1L2
16	81183325	T	A	PKD1L2
16	81185412	C	T	PKD1L2
16	81190598	T	C	PKD1L2
16	81190613	A	G	PKD1L2
16	81190669	T	C	PKD1L2
16	81193358	C	G	PKD1L2
16	81194335	T	C	PKD1L2
16	81199520	T	C	PKD1L2
16	81199538	T	C	PKD1L2
16	81199544	G	A	PKD1L2
16	81208203	G	T	PKD1L2
16	81208348	G	T	PKD1L2
16	81208473	G	T	PKD1L2
16	81208515	G	A	PKD1L2
16	81241100	G	C	PKD1L2
16	81242102	G	A	PKD1L2
16	81242194	T	C	PKD1L2
16	81242198	G	A	PKD1L2
16	81249892	T	C	PKD1L2
16	81249927	C	T	PKD1L2
16	81249954	T	A	PKD1L2
16	81253759	A	G	PKD1L2
16	81253917	A	G	PKD1L2
16	824270	C	A	MSLNL
16	824473	G	A	MSLNL
16	824927	T	C	MSLNL
16	825234	C	T	MSLNL
16	825628	G	A	MSLNL
16	828760	G	C	MSLNL
16	84256103	C	T	KCNG4
16	84256410	C	T	KCNG4
16	84256422	C	T	KCNG4
16	84256619	C	T	KCNG4
16	84474484	G	A	ATP2C2

도면23ag

Chr	위치	ref	alt	유전자
16	84476200	A	T	ATP2C2
16	84485677	T	A	ATP2C2
16	84495704	G	C	ATP2C2
16	89262657	G	A	SLC22A31
17	1183338	C	T	TUSC5
17	1183354	T	C	TUSC5
17	1183464	A	G	TUSC5
17	21319007	G	A	KCNJ12
17	21319121	C	T	KCNJ12
17	27284194	T	C	SEZ6
17	27284443	A	G	SEZ6
17	27286851	T	C	SEZ6
17	27287531	C	T	SEZ6
17	28706114	C	T	CPD
17	28749880	A	G	CPD
17	2996217	C	T	OR1D2
17	3030582	C	G	OR1G1
17	30372739	C	T	LRRC37B
17	3101590	C	T	OR1A2
17	31323899	G	A	SPACA3
17	3181644	G	C	OR3A2
17	3181662	G	C	OR3A2
17	3182172	C	T	OR3A2
17	3195603	T	A	OR3A1
17	32956086	A	C	TMEM132E
17	32957114	G	A	TMEM132E
17	32961994	T	G	TMEM132E
17	3431403	C	G	TRPV3
17	3635740	C	G	ITGAE
17	3657159	C	T	ITGAE
17	3657175	T	C	ITGAE
17	40841001	G	C	CNTNAP1
17	41003859	C	T	AOC3
17	41004637	G	A	AOC3
17	41004681	C	T	AOC3
17	41008373	G	A	AOC3
17	41931375	A	G	CD300LG
17	42437000	G	A	FAM171A2
17	42453065	A	C	ITGA2B
17	44372608	G	A	LRRC37A
17	44405764	A	C	LRRC37A
17	44407828	C	T	LRRC37A
17	44408406	A	G	LRRC37A
17	44409165	G	A	LRRC37A

Chr	위치	ref	alt	유전자
17	44409255	A	G	LRRC37A
17	44590284	G	A	LRRC37A2
17	44623627	A	C	LRRC37A2
17	44625834	C	G	LRRC37A2
17	44625866	A	C	LRRC37A2
17	44625928	C	A	LRRC37A2
17	44626347	T	C	LRRC37A2
17	44626866	T	C	LRRC37A2
17	44627027	G	A	LRRC37A2
17	44627117	A	G	LRRC37A2
17	45360730	T	C	ITGB3
17	4638563	G	A	CXCL16
17	4638737	A	G	CXCL16
17	47587819	C	T	NGFR
17	48149503	A	T	ITGA3
17	48155425	G	A	ITGA3
17	4836381	C	T	GP1BA
17	4837202	AC CA CC CC AG AG CC CA C	A	GP1BA
17	48712329	G	A	ABCC3
17	48712336	G	C	ABCC3
17	56233034	C	A	OR4D1
17	56247575	C	T	OR4D2
17	56492800	T	C	RNF43
17	60741917	G	A	MRC2
17	60744158	G	T	MRC2
17	60758296	A	C	MRC2
17	60767015	G	A	MRC2
17	61584720	A	T	ACE
17	62020348	T	C	SCN4A
17	62856153	G	A	LRRC37A3
17	62856621	T	C	LRRC37A3
17	62890818	C	T	LRRC37A3
17	62890867	C	T	LRRC37A3
17	62891154	G	A	LRRC37A3
17	62892071	G	C	LRRC37A3
17	62892159	G	T	LRRC37A3

도면23ah

Chr	위치	ref	alt	유전자
17	62892181	G	C	LRRC37A3
17	62892442	G	C	LRRC37A3
17	6980273	C	T	CLEC10A
17	7012079	C	T	ASGR2
17	71238433	G	A	C17orf80
17	71380062	G	A	SDK2
17	71380087	G	C	SDK2
17	71384080	G	C	SDK2
17	71426656	G	T	SDK2
17	71434193	C	T	SDK2
17	71452153	A	G	SDK2
17	72233559	G	A	TTYH2
17	72240168	G	A	TTYH2
17	72240177	T	G	TTYH2
17	72363857	GC	G	GPR142
17	72469966	G	A	CD300A
17	72540936	G	A	CD300C
17	72610089	C	T	CD300E
17	72610164	T	C	CD300E
17	7339627	C	T	TMEM102
17	7348625	A	G	CHRNB1
17	7462969	A	G	TNFSF12
17	78215587	C	T	SLC26A11
17	7906519	G	T	GUCY2D
17	79768748	A	C	GCGR
17	80282566	C	T	SECTM1
17	9729445	A	T	GLP2R
18	10471732	G	A	APCDD1
18	10485612	A	C	APCDD1
18	28720072	G	A	DSC1
18	28720147	C	T	DSC1
18	28919779	A	C	DSG1
18	28919794	C	A	DSG1
18	28919884	A	C	DSG1
18	28919911	A	G	DSG1
18	28919913	G	A	DSG1
18	29046606	G	A	DSG3
18	29790520	G	A	MEP1B
18	29795101	T	C	MEP1B
18	334742	C	T	COLEC12
18	334994	A	G	COLEC12
18	335099	T	C	COLEC12
18	43417684	G	A	SIGLEC15
18	43417698	C	G	SIGLEC15

Chr	위치	ref	alt	유전자
18	43417812	C	A	SIGLEC15
18	50432602	C	G	DCC
18	50936935	A	G	DCC
18	52265308	A	C	DYNAP
18	59174759	C	A	CDH20
18	60021761	C	T	TNFRSF11A
18	60027241	C	T	TNFRSF11A
18	60028921	G	A	TNFRSF11A
18	63530016	A	G	CDH7
18	64176319	T	G	CDH19
18	64211251	C	T	CDH19
18	64235877	G	A	CDH19
18	7774190	T	A	PTPRM
19	1000665	G	A	GRIN3B
19	1000717	C	A	GRIN3B
19	1000785	C	T	GRIN3B
19	1003162	C	T	GRIN3B
19	1003172	C	T	GRIN3B
19	1003221	C	A	GRIN3B
19	1003657	G	A	GRIN3B
19	1044712	A	G	ABCA7
19	10449358	T	C	ICAM3
19	1055191	G	A	ABCA7
19	10742170	A	G	SLC44A2
19	10961024	C	G	C19orf38
19	11222300	G	A	LDLR
19	11233909	A	C	LDLR
19	14153293	T	C	IL27RA
19	14269279	T	G	LPHN1
19	14499616	C	T	CD97
19	14507213	A	C	CD97
19	14507228	A	C	CD97
19	14758168	G	A	EMR3
19	14769339	C	G	EMR3
19	14862458	G	A	EMR2
19	14875388	G	A	EMR2
19	14876195	G	T	EMR2
19	14877799	G	C	EMR2
19	14910438	C	T	OR7C1
19	14910654	T	C	OR7C1
19	14951879	C	T	OR7A10
19	14951882	T	A	OR7A10
19	14951884	T	G	OR7A10
19	14952143	G	C	OR7A10

도면23ai

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	15197898	G	A	OR1I1
19	15198363	A	C	OR1I1
19	15290007	C	T	NOTCH3
19	15839365	C	T	OR10H2
19	15852495	G	T	OR10H3
19	15918349	C	T	OR10H1
19	15918802	C	G	OR10H1
19	16060110	G	T	OR10H4
19	17471634	G	A	PLVAP
19	17994836	G	A	SLC5A5
19	18174731	C	T	IL12RB1
19	18180451	A	G	IL12RB1
19	18186618	T	C	IL12RB1
19	18188408	C	T	IL12RB1
19	18193060	G	A	IL12RB1
19	2290499	C	T	LINGO3
19	2396611	C	T	TMPRSS9
19	2405456	C	T	TMPRSS9
19	2408530	G	A	TMPRSS9
19	2416796	A	G	TMPRSS9
19	2425184	A	G	TMPRSS9
19	2425196	G	A	TMPRSS9
19	30021023	G	C	VSTM2B
19	30021131	G	A	VSTM2B
19	33355055	A	G	SLC7A9
19	33696350	C	T	LRP3
19	35524607	G	A	SCN1B
19	35718891	C	T	FAM187B
19	35718938	C	T	FAM187B
19	35719020	C	T	FAM187B
19	35719076	C	T	FAM187B
19	35719106	A	G	FAM187B
19	35719438	G	A	FAM187B
19	35790645	C	A	MAG
19	35850022	A	G	FFAR3
19	35850264	G	A	FFAR3
19	35863028	T	C	GPR42
19	36231288	C	T	IGFLR1
19	36330422	C	G	NPHS1
19	36336437	T	C	NPHS1
19	36339247	C	T	NPHS1
19	36349752	G	A	KIRREL2
19	36350474	G	A	KIRREL2
19	38851193	T	G	CATSPERG

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	38851455	A	C	CATSPERG
19	39993470	T	A	DLL3
19	39993560	T	G	DLL3
19	39994711	T	C	DLL3
19	41884327	T	C	TMEM91
19	42083739	A	AG AC	CEACAM21
19	42083849	C	A	CEACAM21
19	42085873	A	G	CEACAM21
19	42132193	T	C	CEACAM4
19	42301685	A	C	CEACAM3
19	42301689	T	A	CEACAM3
19	42301763	A	C	CEACAM3
19	42301854	A	G	CEACAM3
19	42863035	A	G	MEGF8
19	42874901	G	A	MEGF8
19	43031248	T	G	CEACAM1
19	43031267	G	A	CEACAM1
19	43031369	G	A	CEACAM1
19	43031434	T	A	CEACAM1
19	43031514	G	T	CEACAM1
19	45150614	G	A	PVR
19	45161070	G	A	PVR
19	45179567	C	T	CEACAM19
19	45321841	G	A	BCAM
19	45322744	A	G	BCAM
19	47127439	A	G	PTGIR
19	47823038	G	A	C5AR1
19	47823871	G	T	C5AR1
19	49693558	A	C	TRPM4
19	49699758	TG CT GC GG GG GC C	T	TRPM4
19	49930180	T	C	GFY
19	49930295	C	G	GFY
19	49930352	C	A	GFY
19	49930721	T	C	GFY
19	49930786	C	A	GFY
19	501719	T	C	MADCAM1
19	501767	C	T	MADCAM1

도면23aj

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	501801	A	C	MADCAM1
19	501802	G	C	MADCAM1
19	501900	C	A	MADCAM1
19	50462298	G	C	SIGLEC11
19	50462860	C	T	SIGLEC11
19	50463030	C	A	SIGLEC11
19	50463035	G	T	SIGLEC11
19	50463044	T	C	SIGLEC11
19	50463982	T	G	SIGLEC11
19	50464171	C	G	SIGLEC11
19	50464184	T	C	SIGLEC11
19	51294098	C	T	ACPT
19	51628529	A	G	SIGLEC9
19	51628622	A	C	SIGLEC9
19	51630482	C	A	SIGLEC9
19	51630485	C	A	SIGLEC9
19	51728641	A	G	CD33
19	51728815	T	C	CD33
19	51729594	T	C	CD33
19	51841312	C	T	VSIG10L
19	51841417	C	T	VSIG10L
19	51918360	A	G	SIGLEC10
19	51919263	G	T	SIGLEC10
19	51919302	T	C	SIGLEC10
19	51919949	G	A	SIGLEC10
19	51920103	G	C	SIGLEC10
19	51920112	C	T	SIGLEC10
19	51920115	C	T	SIGLEC10
19	51920196	G	T	SIGLEC10
19	51960940	A	G	SIGLEC8
19	52000672	G	A	SIGLEC12
19	52001485	G	A	SIGLEC12
19	52004743	G	A	SIGLEC12
19	52004747	G	T	SIGLEC12
19	52004903	G	A	SIGLEC12
19	52033038	T	G	SIGLEC6
19	52033158	C	T	SIGLEC6
19	52033206	G	A	SIGLEC6
19	52130925	G	A	SIGLEC5
19	52131119	A	G	SIGLEC5
19	52133292	A	G	SIGLEC5
19	5223018	G	A	PTPRS
19	52249680	T	A	FPR1
19	52250216	A	G	FPR1

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	53518178	C	G	ERVV-1
19	53554075	A	G	ERVV-2
19	53761740	T	C	VN1R2
19	54578105	C	T	TARM1
19	54675643	G	A	TMC4
19	54724061	A	G	LILRB3
19	54724407	C	T	LILRB3
19	54724443	G	A	LILRB3
19	54724458	A	G	LILRB3
19	54724635	C	T	LILRB3
19	54724979	C	T	LILRB3
19	54725798	G	T	LILRB3
19	54725864	C	T	LILRB3
19	54725907	G	C	LILRB3
19	54725913	C	T	LILRB3
19	54725930	C	T	LILRB3
19	54726162	T	G	LILRB3
19	54726241	C	T	LILRB3
19	54726299	A	C	LILRB3
19	54726324	G	C	LILRB3
19	54726347	T	A	LILRB3
19	54743824	T	G	LILRA6
19	54744159	T	C	LILRA6
19	54744195	G	A	LILRA6
19	54744210	A	G	LILRA6
19	54744387	C	T	LILRA6
19	54744794	G	A	LILRA6
19	54744799	G	C	LILRA6
19	54744919	T	A	LILRA6
19	54745497	G	A	LILRA6
19	54745550	G	T	LILRA6
19	54745576	C	G	LILRA6
19	54745907	A	G	LILRA6
19	54745993	C	T	LILRA6
19	54746051	A	C	LILRA6
19	54759361	T	C	LILRB5
19	54782670	T	C	LILRB2
19	54782724	G	A	LILRB2
19	54784122	T	C	LILRB2
19	54848121	C	T	LILRA4
19	54848157	A	G	LILRA4
19	54849399	T	C	LILRA4
19	54849942	G	A	LILRA4
19	54871664	G	C	LAIR1

도면23ak

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	54872594	G	A	LAIR1
19	54872611	A	T	LAIR1
19	54872698	C	G	LAIR1
19	55085770	C	A	LILRA2
19	55086296	G	A	LILRA2
19	55086890	C	T	LILRA2
19	55087313	T	G	LILRA2
19	55087403	G	C	LILRA2
19	55087462	C	T	LILRA2
19	55087490	T	C	LILRA2
19	55098677	G	C	LILRA2
19	55098680	A	C	LILRA2
19	55098686	C	A	LILRA2
19	55098695	A	G	LILRA2
19	55106663	A	G	LILRA1
19	55106778	G	A	LILRA1
19	55106865	T	C	LILRA1
19	55107223	G	T	LILRA1
19	55107227	A	G	LILRA1
19	55107343	T	C	LILRA1
19	55107363	G	T	LILRA1
19	55143083	T	C	LILRB1
19	55143157	G	A	LILRB1
19	55143199	C	T	LILRB1
19	55143208	A	C	LILRB1
19	55143209	G	C	LILRB1
19	55143452	T	C	LILRB1
19	55143491	G	T	LILRB1
19	55144100	A	G	LILRB1
19	55144207	C	G	LILRB1
19	55144208	G	A	LILRB1
19	55144556	G	A	LILRB1
19	55144623	C	T	LILRB1
19	55144710	A	T	LILRB1
19	55144711	G	C	LILRB1
19	55145454	G	A	LILRB1
19	55146106	C	G	LILRB1
19	55176262	A	G	LILRB4
19	55237603	G	A	KIR3DL3
19	55237677	C	T	KIR3DL3
19	55239168	G	T	KIR3DL3
19	55239176	G	A	KIR3DL3
19	55253450	T	G	KIR2DL3
19	55253567	A	G	KIR2DL3

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	55258808	C	T	KIR2DL3
19	55285072	A	G	KIR2DL1
19	55286650	T	C	KIR2DL1
19	55317456	G	A	KIR2DL4
19	55317612	G	A	KIR2DL4
19	55317633	G	A	KIR2DL4
19	55317669	C	G	KIR2DL4
19	55329021	A	G	KIR3DL1
19	55329854	G	A	KIR3DL1
19	55330019	C	T	KIR3DL1
19	55333193	C	A	KIR3DL1
19	55333256	C	T	KIR3DL1
19	55333275	G	T	KIR3DL1
19	55363482	C	T	KIR3DL2
19	55363504	G	A	KIR3DL2
19	55365240	C	A	KIR3DL2
19	55365320	G	T	KIR3DL2
19	55396913	G	A	FCAR
19	55418054	A	C	NCR1
19	55527081	C	T	GP6
19	55536595	G	A	GP6
19	55710074	G	A	PTPRH
19	55713535	G	A	PTPRH
19	55715309	C	T	PTPRH
19	55715359	A	G	PTPRH
19	55716742	C	T	PTPRH
19	55953906	T	G	SHISA7
19	5733874	T	C	CATSPERD
19	5744499	T	C	CATSPERD
19	5749171	A	G	CATSPERD
19	5772897	C	T	CATSPERD
19	5772950	G	A	CATSPERD
19	6531285	G	T	TNFSF9
19	6534841	G	A	TNFSF9
19	6665020	T	C	TNFSF14
19	6901891	G	A	EMR1
19	6903920	A	G	EMR1
19	6904137	C	T	EMR1
19	6913707	C	T	EMR1
19	6913811	A	G	EMR1
19	6919624	A	C	EMR1
19	6919753	A	G	EMR1
19	6921868	G	A	EMR1
19	6926378	T	C	EMR1

도면23a1

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	7743821	A	G	C19orf59
19	7743845	T	G	C19orf59
19	7831061	A	G	CLEC4M
19	7831628	G	A	CLEC4M
19	7981568	C	T	TGFBR3L
19	7982478	C	G	TGFBR3L
19	8367709	C	T	CD320
19	8841461	G	A	OR2Z1
19	8962389	G	A	MUC16
19	8979223	G	C	MUC16
19	8982271	G	A	MUC16
19	8987218	G	T	MUC16
19	8993018	G	A	MUC16
19	8996460	A	C	MUC16
19	8999445	C	T	MUC16
19	8999449	G	T	MUC16
19	9001833	A	G	MUC16
19	9002504	T	C	MUC16
19	9002519	G	C	MUC16
19	9002576	T	C	MUC16
19	9002597	C	T	MUC16
19	9002612	T	G	MUC16
19	9002636	C	T	MUC16
19	9002659	C	T	MUC16
19	9002660	C	T	MUC16
19	9003615	C	T	MUC16
19	9003618	C	T	MUC16
19	9003640	G	T	MUC16
19	9003645	G	A	MUC16
19	9005616	G	T	MUC16
19	9006749	C	T	MUC16
19	9015670	C	T	MUC16
19	9016693	A	AG GT	MUC16
19	9017468	C	T	MUC16
19	9018441	G	C	MUC16
19	9018508	T	G	MUC16
19	9018516	G	T	MUC16
19	9018540	A	G	MUC16
19	9020153	C	T	MUC16
19	9024871	C	T	MUC16
19	9028373	G	A	MUC16
19	9045821	G	A	MUC16
19	9045897	G	T	MUC16

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	9046876	G	T	MUC16
19	9047267	C	T	MUC16
19	9048035	G	C	MUC16
19	9048170	G	A	MUC16
19	9048320	C	T	MUC16
19	9048335	G	T	MUC16
19	9048342	C	T	MUC16
19	9048895	A	C	MUC16
19	9049149	G	A	MUC16
19	9049322	G	A	MUC16
19	9049910	C	T	MUC16
19	9056941	A	G	MUC16
19	9056982	G	A	MUC16
19	9056989	C	G	MUC16
19	9057408	A	G	MUC16
19	9057687	A	G	MUC16
19	9057721	C	T	MUC16
19	9057750	T	A	MUC16
19	9058624	G	A	MUC16
19	9058907	G	C	MUC16
19	9058942	C	T	MUC16
19	9059159	T	G	MUC16
19	9059181	G	A	MUC16
19	9059232	T	C	MUC16
19	9059307	C	T	MUC16
19	9060059	A	C	MUC16
19	9060085	C	T	MUC16
19	9060541	C	T	MUC16
19	9060774	A	G	MUC16
19	9060915	C	T	MUC16
19	9061560	G	A	MUC16
19	9062544	T	G	MUC16
19	9062622	G	A	MUC16
19	9062847	A	G	MUC16
19	9065203	T	C	MUC16
19	9066132	G	A	MUC16
19	9066140	T	G	MUC16
19	9066259	T	C	MUC16
19	9066874	G	T	MUC16
19	9068374	A	G	MUC16
19	9069792	G	A	MUC16
19	9069892	A	C	MUC16
19	9070186	C	T	MUC16
19	9070194	A	G	MUC16

도면23am

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	9070225	G	C	MUC16
19	9070402	G	T	MUC16
19	9070837	G	A	MUC16
19	9071763	T	A	MUC16
19	9072313	A	G	MUC16
19	9072742	T	C	MUC16
19	9072975	G	A	MUC16
19	9074265	G	A	MUC16
19	9074950	G	T	MUC16
19	9075021	G	A	MUC16
19	9075217	T	A	MUC16
19	9075346	T	A	MUC16
19	9075565	C	T	MUC16
19	9075969	C	T	MUC16
19	9076083	G	A	MUC16
19	9076293	T	C	MUC16
19	9076728	C	T	MUC16
19	9076858	C	T	MUC16
19	9076929	T	G	MUC16
19	9076950	C	A	MUC16
19	9077196	C	T	MUC16
19	9077436	G	A	MUC16
19	9077581	G	T	MUC16
19	9077803	T	C	MUC16
19	9080462	C	G	MUC16
19	9080543	G	A	MUC16
19	9082465	GGTGTGAAGGTTAACGTCT	G	MUC16
19	9083143	G	A	MUC16
19	9083174	G	A	MUC16
19	9083314	G	A	MUC16
19	9083457	C	T	MUC16
19	9083576	C	T	MUC16
19	9083791	G	A	MUC16
19	9084197	T	G	MUC16
19	9084233	C	T	MUC16

Chr	위치	ref	alt	유전자
19	9084299	T	C	MUC16
19	9084481	C	T	MUC16
19	9084953	C	A	MUC16
19	9085004	T	C	MUC16
19	9085958	A	G	MUC16
19	9086060	C	T	MUC16
19	9086123	A	C	MUC16
19	9086145	G	C	MUC16
19	9086269	T	C	MUC16
19	9086318	G	A	MUC16
19	9086533	T	C	MUC16
19	9087758	G	A	MUC16
19	9088330	G	A	MUC16
19	9088694	G	A	MUC16
19	9088721	A	T	MUC16
19	9088772	T	C	MUC16
19	9090182	T	C	MUC16
19	9090784	C	T	MUC16
19	9091772	G	A	MUC16
19	919933	G	A	KISS1R
19	9213396	G	A	OR7G2
19	9225940	G	A	OR7G1
19	9225973	G	A	OR7G1
19	9226159	TAA	T	OR7G1
19	9226192	A	G	OR7G1
19	9237622	T	C	OR7G3
19	9325252	G	A	OR7D4
19	9325278	G	A	OR7D4
19	9362297	C	T	OR7E24
20	10622501	G	C	JAG1
20	10626016	T	G	JAG1
20	13830137	A	C	SEL1L2
20	13912309	G	A	SEL1L2
20	14306773	T	G	FLRT3
20	1546911	C	G	SIRPB1
20	1552430	T	C	SIRPB1
20	1559259	C	T	SIRPB1
20	1616137	G	A	SIRPG
20	1616206	A	G	SIRPG
20	1895889	G	C	SIRPA
20	1895949	A	AGT	SIRPA
20	1895963	A	G	SIRPA

도면23an

Chr	위치	ref	alt	유전자
20	1895965	C	A	SIRPA
20	1895990	G	A	SIRPA
20	1896051	CC GA	C	SIRPA
20	1896059	G	A	SIRPA
20	1896060	T	C	SIRPA
20	19261606	T	C	SLC24A3
20	19261623	G	A	SLC24A3
20	23016692	G	C	SSTR4
20	23016970	T	G	SSTR4
20	23028686	C	A	THBD
20	23028724	G	A	THBD
20	23029695	G	C	THBD
20	23065209	G	A	CD93
20	24964558	T	C	APMAP
20	25282967	C	T	ABHD12
20	2945759	C	T	PTPRA
20	33447314	C	T	GGT7
20	3452041	C	T	ATRN
20	3528101	A	C	ATRN
20	3541382	T	C	ATRN
20	3565356	T	G	ATRN
20	3577062	G	A	ATRN
20	3654128	G	A	ADAM33
20	3655219	T	C	ADAM33
20	3675333	G	A	SIGLEC1
20	3675498	T	G	SIGLEC1
20	3682126	C	T	SIGLEC1
20	3684729	T	C	SIGLEC1
20	3686436	C	T	SIGLEC1
20	3686676	C	G	SIGLEC1
20	41818289	C	G	PTPRT
20	4229375	G	T	ADRA1D
20	4229505	CG CC CG CG CT	C	ADRA1D
20	4229514	T	C	ADRA1D
20	44751363	C	T	CD40
20	44869878	C	T	CDH22
20	45174465	C	T	OCSTAMP
20	45354829	C	G	SLC2A10
20	55066633	T	G	GCNT7

Chr	위치	ref	alt	유전자
20	55070268	A	T	GCNT7
20	58558015	T	C	CDH26
20	6031477	C	T	LRRN4
20	6033004	G	A	LRRN4
20	6033033	G	A	LRRN4
20	60503350	A	G	CDH4
20	62737568	T	C	NPBWR2
21	19651307	G	A	TMPRSS15
21	19670118	G	A	TMPRSS15
21	19687517	T	G	TMPRSS15
21	19704422	T	A	TMPRSS15
21	19756040	C	G	TMPRSS15
21	19770562	T	C	TMPRSS15
21	22710849	G	A	NCAM2
21	22746187	T	C	NCAM2
21	31587793	A	G	CLDN8
21	34715699	G	C	IFNAR1
21	34721782	C	T	IFNAR1
21	34787312	A	G	IFNGR2
21	39671476	G	A	KCNJ15
21	41137507	G	C	IGSF5
21	41142892	T	A	IGSF5
21	41142932	C	T	IGSF5
21	41143018	T	A	IGSF5
21	41725625	C	T	DSCAM
21	41725630	G	C	DSCAM
21	42852497	C	T	TMPRSS2
21	43505436	G	A	UMODL1
21	43529749	A	C	UMODL1
21	43531403	C	G	UMODL1
21	43531553	A	C	UMODL1
21	43531632	T	C	UMODL1
21	43531731	C	T	UMODL1
21	43539293	G	A	UMODL1
21	43546509	G	A	UMODL1
21	43803167	T	C	TMPRSS3
21	43808627	C	T	TMPRSS3
21	43809092	C	T	TMPRSS3
21	45656774	C	T	ICOSLG
21	45656920	C	T	ICOSLG
21	45821582	T	G	TRPM2
21	46309312	G	A	ITGB2
22	16449784	C	A	OR11H1
22	19951271	G	A	COMT

도면23ao

Chr	위치	ref	alt	유전자
22	20784050	T	A	SCARF2
22	20785639	G	A	SCARF2
22	21377650	G	A	P2RX6
22	24582041	A	G	SUSD2
22	24622648	T	C	GGT5
22	24628908	G	A	GGT5
22	25019155	T	C	GGT1
22	26688831	G	T	SEZ6L
22	26695077	G	T	SEZ6L
22	26709766	T	G	SEZ6L
22	29469192	G	A	KREMEN1
22	29517463	G	T	KREMEN1
22	29533572	C	G	KREMEN1
22	37319327	A	C	CSF2RB
22	37326443	G	C	CSF2RB
22	37466992	G	A	TMPRSS6
22	37471208	G	A	TMPRSS6
22	37485724	T	C	TMPRSS6
22	37538508	G	A	IL2RB
22	37603745	G	A	SSTR3
22	40066958	C	T	CACNA1I
22	41075543	A	G	MCHR1
22	41076970	G	A	MCHR1
22	42322716	G	C	TNFRSF13C
22	46655948	T	C	PKDREJ
22	46656242	A	G	PKDREJ
22	46656479	A	G	PKDREJ
22	46658438	A	C	PKDREJ
22	46780521	T	C	CELSR1
22	46782382	C	T	CELSR1
22	46786315	T	C	CELSR1
22	46787694	A	G	CELSR1
22	46787697	A	G	CELSR1
22	46793592	A	G	CELSR1
22	46860063	C	T	CELSR1
22	46929692	A	G	CELSR1
22	46930013	C	A	CELSR1

Chr	위치	ref	alt	유전자
22	46931077	G	C	CELSR1
22	46931309	T	C	CELSR1
22	46931402	G	C	CELSR1
22	46932788	C	T	CELSR1
22	46932854	G	A	CELSR1
22	46932946	G	A	CELSR1
22	50721492	C	T	PLXNB2
22	50721497	T	C	PLXNB2
22	50722134	T	C	PLXNB2
22	50722167	T	C	PLXNB2
22	50722408	T	C	PLXNB2
22	50728062	T	C	PLXNB2
X	102979486	T	C	GLRA4
X	108708516	C	T	GUCY2F
X	108708552	A	G	GUCY2F
X	135426693	A	G	GPR112
X	135426968	C	A	GPR112
X	135429503	C	A	GPR112
X	135430483	T	C	GPR112
X	135431236	T	C	GPR112
X	135474444	AG AT	A	GPR112
X	147088249	C	T	FMR1NB
X	153032658	G	A	PLXNB3
X	153035798	G	A	PLXNB3
X	153039502	G	C	PLXNB3
X	153689893	G	A	PLXNA3
X	153694334	C	G	PLXNA3
X	2724760	T	C	XG
X	40450585	C	G	ATP6AP2
X	65244971	C	T	VSIG4
X	65382685	T	C	HEPH
X	65822607	T	C	EDA2R
X	65824986	C	T	EDA2R
X	69478942	T	G	P2RY4
X	77268502	G	C	ATP7A
X	78216024	A	C	P2RY10

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> ImmPACT-Bio Ltd.

Gavish-Galilee Bio Applications, Ltd.

Gross, Gideon

Gibson, Will

Dahary, Dvir

Beiman, Merav

<120> A UNIVERSAL PLATFORM FOR CAR THERAPY TARGETING A NOVEL ANTIGENIC SIGNATURE OF CANCER

<130> 120575-5003-WO

<150> 62/564,454

<151> 2017-09-28

<150> 62/649,429

<151> 2018-03-28

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 3432

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 aCAR_IRES_RFP_P2A_Puro Synthetic DNA

<400> 1

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccggacatcc agatgacaca gactacatcc tccctgtctg cctctctggg agacagagtc 120

accatcagtt gcagggcaag tcaggacatt agtaaatatt taaattggta tcagcagaaa 180

ccagatggaa ctgttaaact cctgatctac catacatcaa gattacactc aggagtccca 240

tcaaggttca gtggcagtgg gtctggaaca gattattctc tcaccattag caacctggag 300

caagaagata ttgccactta cttttgccaa cagggtaata cgcttccgta cacgttcgga 360

gggggggacca agctggagat cacaggtggc ggtggctcgg gcggtggtgg gtcgggtggc 420

ggcggatctg aggtgaaact gcaggagtca ggacctggcc tggtggcgcc ctcacagagc 480

ctgtccgtca catgcactgt ctcaggggtc tcattacccg actatggtgt aagctggatt 540

cgccagcctc cacgaaaggg tctggagtgg ctgggagtaa tatggggtag tgaaaccaca 600

tactataatt cagctctcaa atccagactg accatcatca aggacaactc caagagccaa 660

gttttcttaa aaatgaacag tctgcaaact gatgacacag ccatttacta ctgtgccaaa 720

cattattact acggtggtag ctatgctatg gactactggg gccaaggaac ctcagtcacc 780

gtctcctcaa ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840

cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900

cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960

gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020

tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080

tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140

agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200

ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260

gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320

atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380

gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440

caggccctgc cgcctcggtg agcggccgca aattccgccc ctctccctcc ccccccccta 1500

acgttactgg ccgaagccgc ttggaataag gccggtgtgc gtttgtctat atgttatttt 1560

ccaccatatt gccgtctttt ggcaatgtga gggcccggaa acctggccct gtcttcttga 1620

cgagcattcc taggggtctt tcccctctcg ccaaaggaat gcaaggtctg ttgaatgtcg 1680

tgaaggaagc agttcctctg gaagcttctt gaagacaaac aacgtctgta gcgacccttt 1740

gcaggcagcg gaacccccca cctggcgaca ggtgcctctg cggccaaaag ccacgtgtat 1800

aagatacacc tgcaaaggcg gcacaacccc agtgccacgt tgtgagttgg atagttgtgg 1860

aaagagtcaa atggctctcc tcaagcgtat tcaacaaggg gctgaaggat gcccagaagg 1920

taccccattg tatgggatct gatctggggc ctcggtgcac atgctttaca tgtgtttagt 1980

cgaggttaaa aaaacgtcta ggccccccga accacgggga cgtggttttc ctttgaaaaa 2040

cacgataata ccatggtgtc taagggcgaa gagctgatta aggagaacat gcacatgaag 2100

ctgtacatgg agggcaccgt gaacaaccac cacttcaagt gcacatccga gggcgaaggc 2160

aagccctacg agggcaccca gaccatgaga atcaaggtgg tcgagggcgg ccctctcccc 2220

ttcgccttcg acatcctggc taccagcttc atgtacggca gcagaacctt catcaaccac 2280

acccagggca tccccgactt ctttaagcag tccttccctg agggcttcac atgggagaga 2340

gtcaccacat acgaagacgg gggcgtgctg accgctaccc aggacaccag cctccaggac 2400

ggctgcctca tctacaacgt caagatcaga ggggtgaact tcccatccaa cggccctgtg 2460

atgcagaaga aaacactcgg ctgggaggcc aacaccgaga tgctgtaccc cgctgacggc 2520

ggcctggaag gcagaagcga catggccctg aagctcgtgg gcgggggcca cctgatctgc 2580

aacttcaaga ccacatacag atccaagaaa cccgctaaga acctcaagat gcccggcgtc 2640

tactatgtgg accacagact ggaaagaatc aaggaggccg acaaagagac ctacgtcgag 2700

cagcacgagg tggctgtggc cagatactgc gacctcccta gcaaactggg gcacaaactt 2760

aatggatccg gcgcgacaaa ctttagcttg ctgaagcaag ctggtgacgt ggaggagaat 2820

cccggcccta tggccaccga gtacaagccc acggtgcgcc tcgccacccg cgacgacgtc 2880

ccccgggccg tacgcaccct cgccgccgcg ttcgccgact accccgccac gcgccacacc 2940

gtcgatccgg accgccacat cgagcgggtc accgagctgc aagaactctt cctcacgcgc 3000

gtcgggctcg acatcggcaa ggtgtgggtc gcggacgacg gcgccgcggt ggcggtctgg 3060

accacgccgg agagcgtcga agcgggggcg gtgttcgccg agatcggccc gcgcatggcc 3120

gagttgagcg gttcccggct ggccgcgcag caacagatgg aaggcctcct ggcgccgcac 3180

cggcccaagg agcccgcgtg gttcctggcc accgtcggcg tctcgcccga ccaccagggc 3240

aagggtctgg gcagcgccgt cgtgctcccc ggagtggagg cggccgagcg cgccggggtg 3300

cccgccttcc tggagacctc cgcgccccgc aacctcccct tctacgagcg gctcggcttc 3360

accgtcaccg ccgacgtcga ggtgcccgaa ggaccgcgca cctggtgcat gacccgcaag 3420

cccggtgcct ga 3432

<210> 2

<211> 486

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 aCAR Synthetic protein

<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 Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu

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

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

145 150 155 160

Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys

210 215 220

Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys

225 230 235 240

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

245 250 255

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

<210> 3

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RFP Synthetic Protein

<400> 3

Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met His Met Lys

1 5 10 15

Leu Tyr Met Glu Gly Thr Val Asn Asn His His Phe Lys Cys Thr Ser

20 25 30

Glu Gly Glu Gly Lys Pro Tyr Glu Gly Thr Gln Thr Met Arg Ile Lys

35 40 45

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

50 55 60

Ser Phe Met Tyr Gly Ser Arg Thr Phe Ile Asn His Thr Gln Gly Ile

65 70 75 80

Pro Asp Phe Phe Lys Gln Ser Phe Pro Glu Gly Phe Thr Trp Glu Arg

85 90 95

Val Thr Thr Tyr Glu Asp Gly Gly Val Leu Thr Ala Thr Gln Asp Thr

100 105 110

Ser Leu Gln Asp Gly Cys Leu Ile Tyr Asn Val Lys Ile Arg Gly Val

115 120 125

Asn Phe Pro Ser Asn Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Leu Gly Trp

130 135 140

Glu Ala Asn Thr Glu Met Leu Tyr Pro Ala Asp Gly Gly Leu Glu Gly

145 150 155 160

Arg Ser Asp Met Ala Leu Lys Leu Val Gly Gly Gly His Leu Ile Cys

165 170 175

Asn Phe Lys Thr Thr Tyr Arg Ser Lys Lys Pro Ala Lys Asn Leu Lys

180 185 190

Met Pro Gly Val Tyr Tyr Val Asp His Arg Leu Glu Arg Ile Lys Glu

195 200 205

Ala Asp Lys Glu Thr Tyr Val Glu Gln His Glu Val Ala Val Ala Arg

210 215 220

Tyr Cys Asp Leu Pro Ser Lys Leu Gly His Lys Leu Asn

225 230 235

<210> 4

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Puromycin resistance Synthetic Protein

<400> 4

Met Ala Thr Glu Tyr Lys Pro Thr Val Arg Leu Ala Thr Arg Asp Asp

1 5 10 15

Val Pro Arg Ala Val Arg Thr Leu Ala Ala Ala Phe Ala Asp Tyr Pro

20 25 30

Ala Thr Arg His Thr Val Asp Pro Asp Arg His Ile Glu Arg Val Thr

35 40 45

Glu Leu Gln Glu Leu Phe Leu Thr Arg Val Gly Leu Asp Ile Gly Lys

50 55 60

Val Trp Val Ala Asp Asp Gly Ala Ala Val Ala Val Trp Thr Thr Pro

65 70 75 80

Glu Ser Val Glu Ala Gly Ala Val Phe Ala Glu Ile Gly Pro Arg Met

85 90 95

Ala Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu Ala Ala Gln Gln Gln Met Glu Gly

100 105 110

Leu Leu Ala Pro His Arg Pro Lys Glu Pro Ala Trp Phe Leu Ala Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Phe Thr Val Thr Ala Asp Val Glu Val Pro Glu Gly Pro Arg Thr Trp

180 185 190

Cys Met Thr Arg Lys Pro Gly Ala

195 200

<210> 5

<211> 3669

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD20 iCAR_IRES_GFP_P2A_Hygro Synthetic DNA

<400> 5

atggcactgc ctgtgaccgc cctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgcagccagg 60

cccgacatcg tgctgacaca gagcccagca atcctgtccg cctctcctgg agagaaggtg 120

accatgacat gccgcgccag ctcctctgtg aactacatgg attggtatca gaagaagcct 180

ggcagctccc caaagccctg gatctacgcc accagcaatc tggcctccgg cgtgccagca 240

cggttcagcg gctccggctc tggcaccagc tattccctga caatctccag agtggaggca 300

gaggacgcag caacctacta ttgccagcag tggtctttca acccccctac ctttggcggc 360

ggcacaaagc tggagatcaa gggctctaca agcggaggag gctctggagg aggcagcgga 420

ggcggcggct ctagcgaggt gcagctgcag cagagcggag cagagctggt gaagcctgga 480

gcctccgtga agatgtcttg taaggccagc ggctacacct tcacatccta taatatgcac 540

tgggtgaagc agaccccagg acagggcctg gagtggatcg gagcaatcta cccaggaaac 600

ggcgacacaa gctataatca gaagtttaag ggcaaggcca ccctgacagc cgataagtcc 660

tctagcaccg cctacatgca gctgtcctct ctgacatccg aggactctgc cgattactat 720

tgtgcccggt ccaactacta tggcagctcc tactggttct ttgacgtgtg gggagcaggc 780

accacagtga ccgtgtctag caccgagagg agagcagagg tgcccacagc acacccatct 840

ccaagcccta ggccagcagg acagttccag accctggtgg tgggagtggt gggaggcctg 900

ctgggctctc tggtgctgct ggtgtgggtg ctggccgtga tctgcagcag ggccgcccgc 960

ggcaccatcg gcgccaggcg cacaggccag cctctgaagg aggacccttc cgccgtgcca 1020

gtgttctctg tggactacgg cgagctggat tttcagtggc gggagaaaac cccagagcca 1080

cctgtgccct gcgtgcctga gcagaccgag tatgccacaa tcgtgtttcc atccggaatg 1140

ggcacaagct cccctgcaag gagaggcagc gccgacggac cacggtccgc ccagccactg 1200

cggcccgagg atggccactg ttcttggccc ctgtgacgcc cctctccccc ccccccctct 1260

ccctcccccc cccctaacgt tactggccga agccgcttgg aataaggccg gtgtgcgttt 1320

gtctatatgt tattttccac catattgccg tcttttggca atgtgagggc ccggaaacct 1380

ggccctgtct tcttgacgag cattcctagg ggtctttccc ctctcgccaa aggaatgcaa 1440

ggtctgttga atgtcgtgaa ggaagcagtt cctctggaag cttcttgaag acaaacaacg 1500

tctgtagcga ccctttgcag gcagcggaac cccccacctg gcgacaggtg cctctgcggc 1560

caaaagccac gtgtataaga tacacctgca aaggcggcac aaccccagtg ccacgttgtg 1620

agttggatag ttgtggaaag agtcaaatgg ctctcctcaa gcgtattcaa caaggggctg 1680

aaggatgccc agaaggtacc ccattgtatg ggatctgatc tggggcctcg gtgcacatgc 1740

tttacatgtg tttagtcgag gttaaaaaaa cgtctaggcc ccccgaacca cggggacgtg 1800

gttttccttt gaaaaacacg atgataaggc ttgccacaac ccgtaccaaa gatggtgtcc 1860

aagggagagg agctgttcac cggagtggtg cccatcctgg tggagctgga cggcgatgtg 1920

aatggccaca agtttagcgt gtccggagag ggagagggcg acgcaaccta cggcaagctg 1980

acactgaagt tcatctgcac cacaggcaag ctgcccgtgc cttggccaac cctggtgacc 2040

acactgacat acggcgtgca gtgtttttct cgctatcccg accacatgaa gcagcacgat 2100

ttctttaaga gcgccatgcc tgagggctac gtgcaggagc ggaccatctt ctttaaggac 2160

gatggcaact ataagaccag agccgaggtg aagttcgagg gcgacacact ggtgaacagg 2220

atcgagctga agggcatcga ctttaaggag gatggcaata tcctgggcca caagctggag 2280

tacaactata attcccacaa cgtgtacatc atggccgata agcagaagaa cggcatcaag 2340

gtcaatttca agatcagaca caatatcgag gacggctctg tgcagctggc cgatcactac 2400

cagcagaaca ccccaatcgg cgacggaccc gtgctgctgc ctgataatca ctatctgtct 2460

acacagagcg ccctgtccaa ggaccccaac gagaagaggg atcacatggt gctgctggag 2520

tttgtgaccg cagcaggaat cacactggga atggacgagc tgtataaggg cagcggcgcc 2580

accaacttct ccctgctgaa gcaggcaggc gacgtggagg agaatccagg acctatggat 2640

agaagcggca agccagagct gaccgccaca tccgtggaga agttcctgat cgagaagttt 2700

gactctgtga gcgatctgat gcagctgtcc gagggagagg agtccagggc cttctctttt 2760

gatgtgggcg gcaggggata cgtgctgagg gtgaatagct gcgccgacgg cttctataag 2820

gatagatacg tgtatagaca ctttgcctcc gccgccctgc caatcccaga ggtgctggac 2880

atcggcgagt tttccgagtc tctgacctac tgtatcagcc ggagagccca gggagtgacc 2940

ctgcaggatc tgcctgagac agagctgcca gccgtgctgc agccagtggc agaggctatg 3000

gacgcaatcg ccgccgccga cctgtctcag acaagcggct tcggcccttt tggcccacag 3060

ggcatcggcc agtacaccac atggagggac ttcatctgcg ccatcgccga tcctcacgtg 3120

tatcactggc agaccgtgat ggacgataca gtgagcgcct ccgtggcaca ggccctggac 3180

gagctgatgc tgtgggccga ggattgtcca gaggtgcgcc acctggtgca cgcagacttt 3240

ggcagcaaca atgtgctgac cgataatggc cggatcacag ccgtgatcga ctggtccgag 3300

gccatgttcg gcgattctca gtacgaggtg gccaacatct tcttttggag gccttggctg 3360

gcctgcatgg agcagcagac ccgctatttt gagaggcgcc accctgagct ggccggctct 3420

ccacggctga gagcatacat gctgcgcatc ggcctggacc agctgtatca gagcctggtg 3480

gatggcaatt tcgacgatgc agcatgggca cagggccggt gcgacgcaat cgtgagatcc 3540

ggcgccggca ccgtgggccg gacacagatc gcacggcgga gcgccgccgt gtggaccgac 3600

ggatgcgtgg aggtgctggc cgattctggc aacaggcgcc caagcacaag gccccgcgcc 3660

aaggagtga 3669

<210> 6

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD20 iCAR Synthetic Protein

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

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

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

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

Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Glu Arg Arg Ala
260 265 270

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

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

Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
405 410

<210> 7
<211> 239
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> GFP Synthetic Protein
<400> 7
Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu
1 5 10 15
Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly
20 25 30
Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile

35 40 45

Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr

50 55 60

Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys

65 70 75 80

Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu

85 90 95

Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly

180 185 190

Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu

195 200 205

Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe

210 215 220

Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys

225 230 235

<210> 8

<211> 344

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hygromycin resistance Synthetic Protein

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Gly Glu Glu Ser Arg Ala Phe Ser Phe Asp Val Gly Gly Arg Gly

35 40 45

Tyr Val Leu Arg Val Asn Ser Cys Ala Asp Gly Phe Tyr Lys Asp Arg

50 55 60

Tyr Val Tyr Arg His Phe Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ile Pro Glu Val

65 70 75 80

Leu Asp Ile Gly Glu Phe Ser Glu Ser Leu Thr Tyr Cys Ile Ser Arg

85 90 95

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

100 105 110

Ala Val Leu Gln Pro Val Ala Glu Ala Met Asp Ala Ile Ala Ala Ala

115 120 125

Asp Leu Ser Gln Thr Ser Gly Phe Gly Pro Phe Gly Pro Gln Gly Ile

130 135 140

Gly Gln Tyr Thr Thr Trp Arg Asp Phe Ile Cys Ala Ile Ala Asp Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Ala Gln Ala Leu Asp Glu Leu Met Leu Trp Ala Glu Asp Cys Pro

180 185 190

Glu Val Arg His Leu Val His Ala Asp Phe Gly Ser Asn Asn Val Leu

195 200 205

Thr Asp Asn Gly Arg Ile Thr Ala Val Ile Asp Trp Ser Glu Ala Met

210 215 220

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

225 230 235 240

Trp Leu Ala Cys Met Glu Gln Gln Thr Arg Tyr Phe Glu Arg Arg His

245 250 255

Pro Glu Leu Ala Gly Ser Pro Arg Leu Arg Ala Tyr Met Leu Arg Ile
260 265 270

Gly Leu Asp Gln Leu Tyr Gln Ser Leu Val Asp Gly Asn Phe Asp Asp
275 280 285

Ala Ala Trp Ala Gln Gly Arg Cys Asp Ala Ile Val Arg Ser Gly Ala

290 295 300

Gly Thr Val Gly Arg Thr Gln Ile Ala Arg Arg Ser Ala Ala Val Trp
305 310 315 320

Thr Asp Gly Cys Val Glu Val Leu Ala Asp Ser Gly Asn Arg Arg Pro
325 330 335

Ser Thr Arg Pro Arg Ala Lys Glu
340

<210> 9

<211> 3696

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A2 iCAR_IRES_ GFP_P2A_Hygro Synthetic DNA

<400> 9

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180

acatcttatc acatccagtg ggtgaagcag cggcccggac agggcctgga gtggatcgga 240

tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300

ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420

cagggcacca gcgtgacagt gtctagcgga ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480

ggcggcggca gcgacgtgct gatgacccag acaccactga gcctgcccgt gagcctgggc 540

gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactccaa cggcaatacc 600

tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtccccca agctgctgat ctataaggtg 660

tctaatcggt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720

accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780

tcccacgtgc cacgcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840

gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900

ctggtggtgg gagtggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960

gccgtgatct gcagcagggc cgcccgcggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020

ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatttt 1080

cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgcctgagca gaccgagtat 1140

gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200

gacggaccac ggtccgccca gccactgcgg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260

tgacgcccct ctccccccc cccctctccc tccccccccc ctaacgttac tggccgaagc 1320

cgcttggaat aaggccggtg tgcgtttgtc tatatgttat tttccaccat attgccgtct 1380

tttggcaatg tgagggcccg gaaacctggc cctgtcttct tgacgagcat tcctaggggt 1440

ctttcccctc tcgccaaagg aatgcaaggt ctgttgaatg tcgtgaagga agcagttcct 1500

ctggaagctt cttgaagaca aacaacgtct gtagcgaccc tttgcaggca gcggaacccc 1560

ccacctggcg acaggtgcct ctgcggccaa aagccacgtg tataagatac acctgcaaag 1620

gcggcacaac cccagtgcca cgttgtgagt tggatagttg tggaaagagt caaatggctc 1680

tcctcaagcg tattcaacaa ggggctgaag gatgcccaga aggtacccca ttgtatggga 1740

tctgatctgg ggcctcggtg cacatgcttt acatgtgttt agtcgaggtt aaaaaaacgt 1800

ctaggccccc cgaaccacgg ggacgtggtt ttcctttgaa aaacacgatg ataaggcttg 1860

ccacaacccg taccaaagat ggtgtccaag ggagaggagc tgttcaccgg agtggtgccc 1920

atcctggtgg agctggacgg cgatgtgaat ggccacaagt ttagcgtgtc cggagaggga 1980

gagggcgacg caacctacgg caagctgaca ctgaagttca tctgcaccac aggcaagctg 2040

cccgtgcctt ggccaaccct ggtgaccaca ctgacatacg gcgtgcagtg tttttctcgc 2100

tatcccgacc acatgaagca gcacgatttc tttaagagcg ccatgcctga gggctacgtg 2160

caggagcgga ccatcttctt taaggacgat ggcaactata agaccagagc cgaggtgaag 2220

ttcgagggcg acacactggt gaacaggatc gagctgaagg gcatcgactt taaggaggat 2280

ggcaatatcc tgggccacaa gctggagtac aactataatt cccacaacgt gtacatcatg 2340

gccgataagc agaagaacgg catcaaggtc aatttcaaga tcagacacaa tatcgaggac 2400

ggctctgtgc agctggccga tcactaccag cagaacaccc caatcggcga cggacccgtg 2460

ctgctgcctg ataatcacta tctgtctaca cagagcgccc tgtccaagga ccccaacgag 2520

aagagggatc acatggtgct gctggagttt gtgaccgcag caggaatcac actgggaatg 2580

gacgagctgt ataagggcag cggcgccacc aacttctccc tgctgaagca ggcaggcgac 2640

gtggaggaga atccaggacc tatggataga agcggcaagc cagagctgac cgccacatcc 2700

gtggagaagt tcctgatcga gaagtttgac tctgtgagcg atctgatgca gctgtccgag 2760

ggagaggagt ccagggcctt ctcttttgat gtgggcggca ggggatacgt gctgagggtg 2820

aatagctgcg ccgacggctt ctataaggat agatacgtgt atagacactt tgcctccgcc 2880

gccctgccaa tcccagaggt gctggacatc ggcgagtttt ccgagtctct gacctactgt 2940

atcagccgga gagcccaggg agtgaccctg caggatctgc ctgagacaga gctgccagcc 3000

gtgctgcagc cagtggcaga ggctatggac gcaatcgccg ccgccgacct gtctcagaca 3060

agcggcttcg gccctttgg cccacagggc atcggccagt acaccacatg gagggacttc 3120

atctgcgcca tcgccgatcc tcacgtgtat cactggcaga ccgtgatgga cgatacagtg 3180

agcgcctccg tggcacaggc cctggacgag ctgatgctgt gggccgagga ttgtccagag 3240

gtgcgccacc tggtgcacgc agactttggc agcaacaatg tgctgaccga taatggccgg 3300

atcacagccg tgatcgactg gtccgaggcc atgttcggcg attctcagta cgaggtggcc 3360

aacatcttct tttggaggcc ttggctggcc tgcatggagc agcagacccg ctattttgag 3420

aggcgccacc ctgagctggc cggctctcca cggctgagag catacatgct gcgcatcggc 3480

ctggaccagc tgtatcagag cctggtggat ggcaatttcg acgatgcagc atgggcacag 3540

ggccggtgcg acgcaatcgt gagatccggc gccggcaccg tgggccggac acagatcgca 3600

cggcggagcg ccgccgtgtg gaccgacgga tgcgtggagg tgctggccga ttctggcaac 3660

aggcgcccaa gcacaaggcc ccgcgccaag gagtga 3696

<210> 10

<211> 420

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A2 iCAR Synthetic Protein

<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 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr His

50 55 60

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

65 70 75 80

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

85 90 95

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

100 105 110

Leu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys Ala

115 120 125

Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

130 135 140

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro

165 170 175

Val Ser Leu Gly Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser

180 185 190

Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys

195 200 205

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe

210 215 220

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys

260 265 270

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

275 280 285

Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly

290 295 300

Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu

305 310 315 320

Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val

370 375 380

Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Trp Pro Leu

420