(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0155391
(43) 공개일자 2024년10월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/464468 (2023.05)
A61K 39/4611 (2023.05)
(21) 출원번호 10-2024-7028607
(22) 출원일자(국제) 2023년01월27일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년08월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/011698
(87) 국제공개번호 WO 2023/147019
국제공개일자 2023년08월03일
(30) 우선권주장
63/304,409 2022년01월28일 미국(US)

(71) 출원인
에이투 바이오쎄라퓨틱스, 인크.
미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로드 30301 스위트 210
(72) 발명자
캄브 카를 알렉산더
미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로드 30301 스위트 210 에이투 바이오쎄라퓨틱스, 인크. 내
함부르거 아그네스 이
미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로드 30301 스위트 210 에이투 바이오쎄라퓨틱스, 인크. 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

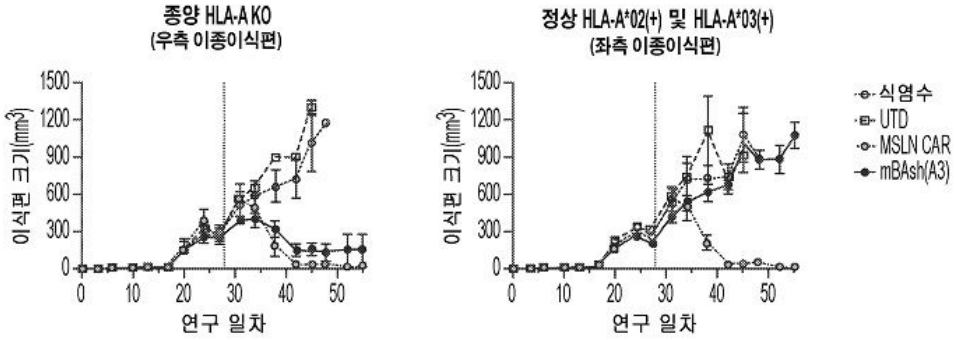
전체 청구항 수 : 총 96 항

(54) 발명의 명칭 **메소텔린 양성 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법**

(57) 요 약

본 개시내용은 메소텔린에 특이적인 제1 활성화제 수용체 및 메소텔린 양성 암 세포에서 소실된 리간드에 특이적인 제2 억제 수용체를 포함하는 면역 세포, 및 암 치료를 위해 이를 제조하고 사용하는 방법을 제공한다.

대 표 도



도 44b

(52) CPC특허분류
A61K 39/4631 (2023.05)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 2239/46 (2023.05)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
C07K 2317/94 (2013.01)
C07K 2319/02 (2013.01)
(72) 발명자
토카트리안 탈라르
미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로드 30301 스위트 210 에이투 바이오쎄라퓨틱스, 인크. 내
아수엘리메 그레이스 이
미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로드 30301 스위트 210 에이투 바이오쎄라퓨틱스, 인크. 내
와르샤비아크 도라 톨레도
미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로드 30301 스위트 210 에이투 바이오쎄라퓨틱스, 인크. 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

면역 세포로서,

a. 메소텔린(MSLN)에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 수용체; 및

b. HLA-A*03에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체

를 포함하며,

상기 제1 수용체는 MSLN에 반응하는 활성화제 수용체이고; 상기 제2 수용체는 HLA-A*03에 반응하는 억제 수용체인, 면역 세포.

청구항 2

제1항에 있어서, HLA-A*03은 이형접합성의 소실을 통해 MSLN+ 암 세포에서 소실된, 면역 세포.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 6에 개시된 바와 같은 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 6 또는 표 7의 CDR에 대해 최대 1, 2, 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1260-1265 또는 표 6에 개시된 서열의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 서열번호: 1260-1265 또는 표 6에 개시된 서열의 CDR에 대해 최대 1, 2, 또는 3개의 치환, 결실, 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1260-1265의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3을 포함하는, 면역 세포.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1259 또는 표 5에 개시된 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열 중 어느 하나를 포함하는, 면역 세포.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1267 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 부분을 포함하고; 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1266 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 부분을 포함하고/하거나; 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1268 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)인, 면역 세포.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 개시된 바와 같은 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 2의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 3에 제시된 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 부분 및 표 4에 제시된 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 부분; 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 233 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 부분, 및 서열번호: 279 또는 이와 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 부분을 포함하는, 면역 세포.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 3-6, 80 및 154-215로 이루어진 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 13

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 171의 scFv 서열; 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체는 힌지 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 15

제14항에 있어서, 힌지 도메인은 CD8α 힌지 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 16

제15항에 있어서, CD8α 힌지 도메인은 서열번호: 7의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 17

제8항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 막횡단 도메인은 CD28 막횡단 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 18

제17항에 있어서, CD28 막관통 도메인은 서열번호: 11의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 19

제8항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 도메인은 CD28 공동 자극 도메인, 4-1BB 공동 자극 도메인, 및 CD3ζ 활성화 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 20

제19항에 있어서, 세포내 도메인은 서열번호: 285의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체는 서열번호: 303의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

청구항 23

제22항에 있어서, LILRB1 세포내 도메인은 서열번호: 70과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 70과 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

청구항 25

제24항에 있어서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 74와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 74와 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

청구항 27

제26항에 있어서, LILRB1 힌지 도메인은 서열번호: 73과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 73과 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 세포내 도메인, LILRB1 막관통 도메인, LILRB1 힌지 도메인, 이들 중 임의의 것의 기능적 변이체, 또는 이들의 조합을 포함하는, 면역 세포.

청구항 29

제28항에 있어서, LILRB1 힌지 도메인, LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인은 서열번호: 71, 또는 서열번호 71과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호 71과 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 수용체는 서열번호: 1268의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, MSLN+ 암 세포는 중피종암 세포, 난소암 세포, 자궁경부암 세포, 결장직장암 세포, 식도암 세포, 두경부암 세포, 신장암 세포, 자궁암 세포, 위암 세포, 췌장암 세포, 폐암 세포, 결장직장암 세포 또는 담관암종 세포인, 면역 세포.

청구항 32

제31항에 있어서, MSLN+ 암 세포는 중피종암 세포, 난소암 세포, 자궁경부 세포, 자궁암 세포, 위암 세포, 췌장암 세포 또는 폐 선암종 세포인, 면역 세포.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, MSLN+ 암 세포는 HLA-A*03을 발현하지 않는 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포인, 면역 세포.

청구항 34

제33항에 있어서, MSLN+/HLA-A*03- 암 세포는 HLA-A*03의 소실을 야기하는 HLA-A에서의 이형접합성의 소실에 의해 MSLN+/HLA-A*03+ 세포로부터 유래되는, 면역 세포.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 이형접합성이 소실된 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키는, 면역 세포.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 이형접합성의 소실에 의해 HLA-A*03을 소실하지 않은 MSLN+ 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키지 않는, 면역 세포.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포는 T 세포인, 면역 세포.

청구항 38

제37항에 있어서, T 세포는 CD8+ CD4- T 세포 또는 CD8- CD4+ T 세포인, 면역 세포.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, MHC 클래스 I 유전자의 발현 및/또는 기능이 감소되거나 제거된, 면역 세포.

청구항 40

제39항에 있어서, MHC 클래스 I 유전자는 베타-2-마이크로글로불린(B2M)인, 면역 세포.

청구항 41

제40항에 있어서, 간섭 RNA를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 추가로 포함하며, 간섭 RNA는 B2M mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 42

제41항에 있어서, 간섭 RNA는 표 13에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열, 또는 이에 대해 최대 1, 2, 3, 또는 4개의 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서, 간섭 RNA는 B2M mRNA의 RNAi-매개 분해를 유도할 수 있는, 면역 세포.

청구항 44

제43항에 있어서, 간섭 RNA는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)인, 면역 세포.

청구항 45

제44항에 있어서, shRNA는

a. 5' 단부에서 3' 단부로 B2M mRNA의 서열에 상보적인 서열을 갖는 제1 서열; 및

b. 5' 단부에서 3' 단부로 제1 서열에 상보적인 서열을 갖는 제2 서열

을 포함하며,

상기 제1 서열 및 제2 서열은 shRNA를 형성하는, 면역 세포.

청구항 46

제44항 또는 제45항에 있어서, shRNA는 GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호: 349) 또는 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350)의 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 서열에 의해 암호화되는, 면역 세포

청구항 47

제40항에 있어서, B2M을 암호화하는 서열에 대해 하나 이상의 변형을 포함하며, 하나 이상의 변형은 B2M의 발현을 감소시키고/시키거나 이의 기능을 제거하는, 면역 세포.

청구항 48

제47항에 있어서, 하나 이상의 변형은 B2M을 암호화하는 내인성 유전자의 하나 이상의 불활성화 돌연변이를 포함하는, 면역 세포.

청구항 49

제48항에 있어서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 결실, 삽입, 치환, 또는 프레임시프트 돌연변이를 포함하는, 면역 세포.

청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 B2M을 암호화하는 내인성 유전자의 서열을 특이적으로 표적화하는 적어도 하나의 가이드 핵산(gNA)과 복합체를 이루는 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제를 사용하여 도입되는, 면역 세포.

청구항 51

제50항에 있어서, gNA는 표 12에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열, 또는 이에 대해 최대 1, 2, 3, 또는 4개의 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 52

제42항에 있어서, MHC 클래스 I 유전자는 HLA-A*03인, 면역 세포.

청구항 53

제52항에 있어서, HLA-A*03 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함하는 간섭 RNA를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 추가로 포함하는, 면역 세포.

청구항 54

제53항에 있어서, 간섭 RNA는 HLA-A*03 mRNA의 RNA 간섭(RNAi)-매개 분해를 유도할 수 있는, 면역 세포.

청구항 55

제54항에 있어서, 간섭 RNA는

a. 5' 단부에서 3' 단부로 HLA-A*03 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 갖는 제1 서열; 및

b. 5' 단부에서 3' 단부로 제1 서열에 상보적인 서열을 갖는 제2 서열

을 포함하는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)이며,

상기 제1 서열 및 제2 서열은 shRNA를 형성하는, 면역 세포.

청구항 56

제52항에 있어서, HLA-A*03을 암호화하는 내인성 유전자의 서열에 대한 하나 이상의 변형을 포함하며, 하나 이상의 변형은 HLA-A*03의 발현을 감소시키고/시키거나 이의 기능을 제거하는, 면역 세포.

청구항 57

제56항에 있어서, 하나 이상의 변형은 HLA-A*3을 암호화하는 내인성 유전자의 하나 이상의 불활성화 돌연변이를 포함하는, 면역 세포.

청구항 58

제56항 또는 제57항에 있어서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 HLA-A*03을 암호화하는 내인성 유전자의 서열을 특이적으로 표적화하는 적어도 하나의 가이드 핵산(gNA)과 복합체를 이루는 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제를 사용하여 도입되는, 면역 세포.

청구항 59

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체는 서열번호: 164의 서열을 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 1259의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 60

제59항에 있어서, GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호: 349) 또는 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350)를 포함하는 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된 shRNA를 포함하는, 면역 세포.

청구항 61

제59항 또는 제60항에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 단일 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되고, 제1 및 제2 수용체를 암호화하는 서열은 자가 절단 폴리펩티드를 암호화하는 서열에 의해 분리되는, 면역 세포.

청구항 62

제61항에 있어서, 자가 절단 폴리펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(서열번호: 351)의 서열을 포함하는 T2A 자가 절단 폴리펩티드를 포함하는, 면역 세포.

청구항 63

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포는 자가유래인, 면역 세포.

청구항 64

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포는 동종이계인, 면역 세포.

청구항 65

치료적 유효량의 제1항 내지 제64항 중 어느 한 항의 면역 세포를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 66

제65항에 있어서, 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, MSLN+ 암 치료에서 약제로서 사용하기 위한, 약제학적 조성물.

청구항 68

폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템으로서,

a. 메소텔린(MSLN)에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 수용체; 및

b. HLA-A*03에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체

를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하며,

상기 제1 수용체는 MSLN+ 암 세포 상의 MSLN에 반응하는 활성화제 수용체이고; 상기 제2 수용체는 HLA-A*03에 반응하는 억제 수용체인,

폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

청구항 69

제1항 내지 제64항 중 어느 한 항의 면역 세포를 생성하는데 사용하기 위한, 제1 수용체 및 제2 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

청구항 70

제68항 또는 제69항에 있어서, B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

청구항 71

제70항에 있어서, 제1 수용체, 제2 수용체 및 B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열은 동일한 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

청구항 72

제70항 또는 제71항에 있어서,

a. B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열은

GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호: 349) 또는 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350) 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

b. 제1 수용체를 암호화하는 서열은 서열번호: 303의 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 서열을 포함하고;

c. 제2 수용체를 암호화하는 서열은 서열번호: 1268의 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 서열을 포함하는,

폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

청구항 73

제68항 내지 제72항 중 어느 한 항의 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 벡터.

청구항 74

HLA-A*03 유전자좌에서 이형접합성이 소실된 MSLN+ 암 세포를 사멸시키는 방법으로서, 대상체에게 유효량의 제1

항 내지 제64항 중 어느 한 항의 면역 세포 또는 제65항 내지 제67항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 75

HLA-A*03 유전자좌에서 이형접합성이 소실된 MSLN+ 종양을 갖는 대상체에서 MSLN+ 암을 치료하는 방법으로서, 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제64항 중 어느 한 항의 면역 세포 또는 제65항 내지 제67항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 76

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서,

a. 대상체의 정상 세포 및 복수의 암세포의 HLA-A 유전자형 또는 발현을 결정하는 단계;

b. 선택적으로, 대상체의 복수의 암세포에서 MSLN의 발현을 결정하는 단계; 및

c. 정상 세포가 HLA-A*03을 발현하고 복수의 암세포가 HLA-A*03을 발현하지 않고, 복수의 암세포가 MSLN-양성인 경우, 대상체에게 유효량의 제1항 내지 제64항 중 어느 한 항의 면역 세포 또는 제65항 내지 제67항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물을 투여하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 77

제75항에 있어서, 대상체는 MSLN(MSLN+)을 발현하고 HLA-A*03 발현을 상실한 악성종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*03 환자인, 방법.

청구항 78

제75항에 있어서, 대상체는 MSLN을 발현하고 HLA-A*03 발현을 상실한 재발성 절제 불가능 또는 전이성 고형 종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*03 환자인, 방법.

청구항 79

제76항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 중피종암, 난소암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 두경부암, 신장암, 자궁암, 위암, 췌장암, 폐암, 결장직장암 또는 담관암종을 포함하는, 방법.

청구항 80

제79항에 있어서, 암은 대상체에서 재발되고/되거나, 암은 이전에 투여된 하나 이상의 항암 요법에 대해 불응성이고/이거나, 암은 전이성인, 방법.

청구항 81

제76항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포는 HLA-A*03을 발현하지 않는 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포를 포함하는, 방법.

청구항 82

제81항에 있어서, MSLN+/HLA-A*03- 암 세포는 HLA-A*03의 소실을 야기하는 HLA-A에서의 이형접합성의 소실에 의해 MSLN+/HLA-A*03+ 세포로부터 유래되는, 방법.

청구항 83

제76항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키는, 방법.

청구항 84

제76항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 HLA-A*03을 소실하지 않은 MSLN+ 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키지 않는, 방법.

청구항 85

제76항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 제1항 내지 제58항 중 어느 한 항의 면역 세포 또는 제59항 내지 제61항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 크기를 감소시키는, 방법.

청구항 86

제85항에 있어서, 종양은 약 5%, 약 10%, 약 15%, 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 100% 감소되는, 방법.

청구항 87

제85항에 있어서, 종양은 제거되는, 방법.

청구항 88

제85항 또는 제86항에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 성장을 정지시키는, 방법.

청구항 89

제75항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 수를 감소시키는, 방법.

청구항 90

제75항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 암 세포를 선택적으로 사멸시키지만 정상 세포는 사멸시키지 않는, 방법.

청구항 91

제88항에 있어서, 사멸된 세포의 적어도 약 60%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 65%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 70%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 75%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 80%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 85%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 90%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 95%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 100%가 암 세포인, 방법.

청구항 92

제90항에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체의 암 세포의 적어도 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90% 또는 전부를 사멸시키는, 방법.

청구항 93

제75항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 제1 활성화제 수용체를 포함하지만 제2 억제 수용체를 포함하지 않는 다른 동등한 면역 세포의 투여보다 대상체에 대해 더 적은 부작용을 유도하는, 방법.

청구항 94

복수의 면역 세포를 제조하는 방법으로서,

a. 복수의 면역 세포를 제공하는 단계, 및

b. 상기 복수의 면역 세포를 제68항 내지 제72항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드 시스템 또는 제73항의 벡터로 형질전환시키는 단계

를 포함하는, 복수의 면역 세포를 제조하는 방법.

청구항 95

제1항 내지 제64항 중 어느 한 항의 면역 세포 또는 제65항 내지 제67항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물을 포함하는, 키트.

청구항 96

제95항에 있어서, 사용 설명서를 추가로 포함하는, 키트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2022년 1월 28일에 출원된 미국 특허 가출원 일련 번호 63/304,409에 대한 우선권을 주장한다. 상기 참조된 출원의 내용은 임의의 도면을 포함하여 그 전체가 참조로 본원에 명시적으로 포함된다.

[0003] **분야**

[0004] 본 개시내용은 입양 세포 요법 및 암 치료제 분야에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] **배경**

[0006] 세포 요법은 다양한 질환, 특히 암 치료를 위한 강력한 도구이다. 기존의 입양 세포 요법에서, 면역 세포는 특정 수용체, 예를 들어 키메라 항원 수용체 (CAR) 또는 T 세포 수용체 (TCR)를 발현하도록 조작되며, 이는 수용체와 표적 세포에 의해 발현되는 리간드의 상호작용을 통해 면역 세포의 활성을 세포 표적으로 유도한다. 많은 표적이 정상 조직에서 발현되기 때문에 적합한 표적 분자를 식별하는 것은 여전히 어려운 일이다. 이 발현은 이식된 세포가 표적 분자를 발현하는 정상 조직을 표적으로 할 때 독성을 유발할 수 있다. 따라서, 입양 세포 요법에 의한 질환, 특히 암의 치료에 유용한 조성물 및 방법이 당업계에 필요하다.

[0007] 메소텔린(MSLN)은 1992년에 암 표적으로 제안되었지만(Chang 등. *Cancer Res* 52:181-86), MSLN을 이용하는 실행 가능한 치료법은 아직 없다. 이는 대부분의 중피종뿐만 아니라 난소, 자궁경부, 자궁, 위, 췌장 및 폐 선암종의 큰 하위 집단에서도 발현된다. (Hassan 등. *J Clin Oncol* 34:4171-79) 정상 성인에서, MSLN은 그 자체가 중요하지 않을 수 있는 조직인 중피에만 존재한다. 예를 들어, 면역독소-접합체, 항체-약물 접합체, 이중특이성 항체, CAR-T 및 하이브리드 TCR-scFv와 같은 MSLN에 대한 여러 시험용 치료제가 테스트되었다.

[0008] 모든 활성 전신 투여 치료제는 독성을 보인다. 따라서, MSLN(+) 암의 치료와 관련된 조성물 및 방법에 대한 요구가 당업계에 존재한다.

발명의 내용

[0009] **요약**

[0010] 본원은 MSLN(+) 암의 치료와 관련된 조성물 및 방법을 제공한다. 유리하게는, 본원에 개시된 조성물 및 방법은 MSLN(+) 암을 치료하기 위해 이형접합성의 소실(LOH)을 이용할 수 있다. 본원에 개시된 조성물 및 방법은 일부 경우에 MSLN-표적 활성화제 수용체를 차단제 수용체와 쌍을 이루어 정상 조직에 대한 전신 독성을 피할 수 있다. 이론에 구애됨이 없이, 차단제 항원을 암호화하는 유전자좌에서 LOH에 의해 유발된 종양 대 정상 조직에서의 차단제 항원 발현의 차이는 종양 사멸에 대한 높은 선택성을 부여할 수 있다.

[0011] 본 개시내용은 (a) 메소텔린(MSLN)에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 수용체; 및 (b) HLA-A*03에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체를 포함하는 면역 세포를 제공하고, 여기서 제1 수용체는 MSLN에 반응하는 활성화제 수용체이고; 여기서 제2 수용체는 HLA-A*03에 반응하는 억제 수용체이다.

[0012] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, HLA-A*03은 이형접합성의 소실을 통해 MSLN+ 암 세포에서 소실된다.

[0013] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 6에 개시된 바와 같은 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 6 또는 표 7의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 (i) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 693; (ii) 서열번호: 638, 645, 650, 658, 677, 및 694; (iii) 서열번호: 638, 645, 650, 659, 678, 및 695; (iv) 서열번호: 638, 645, 650, 660, 678, 및 696; (v) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 697; (vi) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 698; (vii) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 699; (viii) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 700; (ix) 서열번호: 638, 645, 650, 662, 680, 및 701; (x) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 702; (xi) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 703; (xii) 서열번호: 640, 647, 652, 657, 676, 및 704; (xiii) 서열번호: 641, 648, 653, 663, 681, 및 705 (xiv) 서열번호: 638, 645, 650, 664, 682, 및 706; 또는 (xv) 서열번호: 1260-1265의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 (i) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 693; (ii) 서열번호: 638, 645, 650, 658, 677, 및 694; (iii) 서열번호: 638, 645, 650, 659, 678, 및 695; (iv) 서열번호: 638, 645, 650, 660, 678, 및 696; (v) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 697; (vi) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 698; (vii) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 699; (viii) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 700; (ix) 서열번호: 638, 645, 650, 662, 680, 및 701; (x) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 702; (xi) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 703; (xii) 서열번호: 640, 647, 652, 657, 676, 및 704; (xiii) 서열번호: 641, 648, 653, 663, 681, 및 705 (xiv) 서열번호: 638, 645, 650, 664, 682, 및 706; 또는 (xv) 서열번호: 1260-1265의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 (i) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 693; (ii) 서열번호: 638, 645, 650, 658, 677, 및 694; (iii) 서열번호: 638, 645, 650, 659, 678, 및 695; (iv) 서열번호: 638, 645, 650, 660, 678, 및 696; (v) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 697; (vi) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 698; (vii) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 699; (viii) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 700; (ix) 서열번호: 638, 645, 650, 662, 680, 및 701; (x) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 702; (xi) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 703; (xii) 서열번호: 640, 647, 652, 657, 676, 및 704; (xiii) 서열번호: 641, 648, 653, 663, 681, 및 705; 또는 (xiv) 서열번호: 638, 645, 650, 664, 682, 및 706의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1260-1265의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 5에 개시된 폴리펩티드 서열로부터 선택된 폴리펩티드 서열; 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 615-628 또는 서열번호: 1259 중 어느 하나, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 615-628 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1259를 포함한다.

[0014] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 개시된 바와 같은 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 2의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 3에 제시된 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 부분 및 표 4에 제시된 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 부분; 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 233 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 부분, 및 서열번호: 279 또는 이와 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 3-6, 80 및 154-215로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은

서열번호: 171의 scFv 서열; 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0015] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 힌지 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 도메인은 CD8α 힌지 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD8α 힌지 도메인은 서열번호: 7의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 CD28 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD28 막관통 도메인은 서열번호: 11의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 CD28 공동 자극 도메인, 4-1BB 공동 자극 도메인 및 CD3ζ 활성화 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 285의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 서열번호: 303의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0016] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 세포내 도메인은 서열번호: 70과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 70과 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 74와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 74와 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 힌지 도메인은 서열번호: 73과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 73과 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 LILRB1 세포내 도메인, LILRB1 막관통 도메인, LILRB1 힌지 도메인, 이들 중 임의의 것의 기능적 변이체, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 힌지 도메인, LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인은 서열번호: 71 또는 서열번호: 71과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 71과 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 서열번호: 1268의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0017] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, MSLN+ 암 세포는 중피종 암 세포, 난소암 세포, 자궁경부암 세포, 결장직장암 세포, 식도암 세포, 두경부암 세포, 신장암 세포, 자궁암 세포, 위암 세포, 췌장암 세포, 폐암 세포, 결장직장암 세포 또는 담관암종 세포, 또는 MSLN을 발현하는 임의의 암 세포이다. 일부 실시양태에서, MSLN+ 암 세포는 중피종 암 세포, 난소암 세포, 자궁경부 세포, 자궁암 세포, 위암 세포, 췌장암 세포 또는 폐선암종 세포이다.

[0018] 일부 실시양태에서, MSLN+ 암 세포는 상피암 세포이다. 상피암은 상피세포에서 발생하는 암이다. 일부 실시양태에서, MSLN+ 상피암은 암종이다.

[0019] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, MSLN+ 암 세포는 HLA-A*03을 발현하지 않는 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포이다. 일부 실시양태에서, MSLN+/HLA-A*03- 암 세포는 HLA-A*03의 소실을 야기하는 HLA-A에서의 이형접합성의 소실에 의해 MSLN+/HLA-A*03+ 세포로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 이형접합성이 소실된 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시킨다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 이형접합성의 소실에 의해 HLA-A*03을 소실하지 않은 MSLN+ 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키지 않는다.

[0020] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, 면역 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, T 세포는 CD8+ CD4- T 세포 또는 CD8- CD4+ T이다.

[0021] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 유전자의 발현 및/또는 기능이 감소 또는 제거되었다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 유전자는 베타-2-마이크로글로불린(B2M)이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 간섭 RNA, B2M mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함하는 간섭 RNA를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 표 13에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열, 또는 이에 대해 최대 1, 2, 3 또는 4개의 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 B2M mRNA의 RNAi-매개 분해를 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)이다. 일부 실시양태에서, shRNA는 (a)

5' 단부에서 3' 단부로 B2M mRNA의 서열에 상보적인 서열을 갖는 제1 서열; 및 (b) 5' 단부에서 3' 단부로 제1 서열에 상보적인 서열을 갖는 제2 서열을 포함하고, 여기서 제1 서열 및 제2 서열은 shRNA를 형성한다. 일부 실시양태에서, shRNA는 GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호: 349) 또는 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350)의 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 서열에 의해 암호화된다.

[0022] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 유전자의 발현 및/또는 기능이 감소 또는 제거되었다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 유전자는 베타-2-마이크로글로불린(B2M)이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 B2M을 암호화하는 서열에 대한 하나 이상의 변형을 포함하며, 여기서 하나 이상의 변형은 B2M의 발현을 감소시키고/시키거나 기능을 제거한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 변형은 B2M을 암호화하는 내인성 유전자의 하나 이상의 불활성화 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 결실, 삽입, 치환 또는 프레임시프트 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 적어도 하나의 가이드와 복합체를 이루는 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제를 사용하여 도입된다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 가이드는 B2M을 암호화하는 내인성 유전자의 서열을 특이적으로 표적화하는 가이드 핵산(gNA)이다. 일부 실시양태에서, gNA는 표 12에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열, 또는 이에 대해 최대 1, 2, 3 또는 4개의 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 서열을 포함한다.

[0023] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 유전자의 발현 및/또는 기능이 감소 또는 제거되었다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 유전자는 HLA-A*03이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 HLA-A*03 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함하는 간섭 RNA를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 HLA-A*03 mRNA의 RNA 간섭(RNAi)-매개 분해를 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 (a) 5' 단부에서 3' 단부로 HLA-A*03 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 갖는 제1 서열; 및 (b) 5' 단부에서 3' 단부로 제1 서열에 상보적인 서열을 갖는 제2 서열을 포함하는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)이고, 여기서 제1 서열 및 제2 서열은 shRNA를 형성한다. 일부 실시양태에서, shRNA는 14에 제시된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 HLA-A*03을 암호화하는 내인성 유전자의 서열에 대한 하나 이상의 변형을 포함하고, 여기서 하나 또는 변형은 HLA-A*03의 발현을 감소시키고/시키거나 기능을 제거한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 변형은 HLA-A*03을 암호화하는 내인성 유전자의 하나 이상의 불활성화 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 HLA-A*03을 암호화하는 내인성 유전자의 서열을 특이적으로 표적화하는 적어도 하나의 가이드 핵산(gNA)과 복합체를 이루는 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제를 사용하여 도입된다. 일부 실시양태에서, gNA는 표 11에 제시된 서열을 포함한다.

[0024] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 서열번호: 164의 서열을 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 1259의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호: 349) 또는 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350)를 포함하는 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 단일 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되고, 여기서 제1 및 제2 수용체를 암호화하는 서열은 자가 절단 폴리펩티드를 암호화하는 서열에 의해 분리된다. 일부 실시양태에서, 자가 절단 폴리펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(서열번호: 351)의 서열을 포함하는 T2A 자가 절단 폴리펩티드를 포함한다.

[0025] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, 면역 세포는 자가유래 세포이다.

[0026] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시양태에서, 면역 세포는 동종이계이다.

[0027] 본 개시내용은 치료적 유효량의 본 개시내용의 면역 세포를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 추가로 포함한다.

[0028] 본 개시내용은 MSLN+ 암의 치료에서 약제로서 사용하기 위한 치료적 유효량의 본 개시내용의 면역 세포를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0029] 본 개시내용은 (a) 메소텔린(MSLN)에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 수용체; 및 (b) HLA-A*03에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함

하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템을 제공하며, 여기서 제1 수용체는 MSLN+ 암 세포 상의 MSLN에 반응하는 활성화제 수용체이고; 여기서 제2 수용체는 HLA-A*03에 반응하는 억제 수용체이다.

[0030] 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템의 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템은 본 개시내용의 면역 세포를 생성하는데 사용하기 위한 제1 수용체 및 제2 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템은 B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체, 제2 수용체 및 B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열은 동일한 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, (a) B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열은 GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호: 349) 또는 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350) 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하고; (b) 제1 수용체를 암호화하는 서열은 서열번호: 303의 폴리펩티드를 암호화하는 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하고; (c) 제2 수용체를 암호화하는 서열은 서열번호: 1268의 폴리펩티드를 암호화하는 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0031] 본 개시내용은 본 개시내용의 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0032] 본 개시내용은 유효량의 본 개시내용의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, HLA-A*03 유전자좌에서 이형접합성이 소실된 MSLN+ 암 세포를 사멸시키는 방법을 제공한다.

[0033] 본 개시내용은 유효량의 본 개시내용의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, HLA-A*03 유전자좌에서 이형접합성이 소실된 MSLN+ 종양을 갖는 대상체에서 MSLN+ 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0034] 본 개시내용은 (a) 대상체의 HLA-A 유전자형 또는 정상 세포 및 복수의 암세포의 발현을 결정하는 단계; (b) 선택적으로, 대상체의 복수의 암세포에서 MSLN의 발현을 결정하는 단계; 및 (c) 정상 세포가 HLA-A*03을 발현하고 복수의 암세포가 HLA-A*03을 발현하지 않고 복수의 암세포가 MSLN 양성인 경우, 유효량의 본 개시내용의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0035] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 대상체는 MSLN(MSLN+)을 발현하고 HLA-A*03 발현을 상실한 악성종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*03 환자이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 MSLN을 발현하고 HLA-A*03 발현을 상실한 재발성 절제 불가능 또는 전이성 고형 종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*03 환자이다. 일부 실시양태에서, 암은 중피종, 난소암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 두경부암, 신장암, 자궁암, 위암, 췌장암, 폐암, 결장직장암 또는 담관암종을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암은 중피종, 난소암, 자궁경부암, 자궁암, 위암, 췌장암 또는 폐 선암종을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암은 대상체에서 재발하였다. 일부 실시양태에서, 암은 이전에 투여된 하나 이상의 항암 요법에 불응성이다. 일부 실시양태에서, 암은 전이성이다.

[0036] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 암 세포는 HLA-A*03을 발현하지 않는 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, MSLN+/HLA-A*03- 암 세포는 HLA-A*03의 소실을 야기하는 HLA-A에서 이형접합성의 소실에 의해 MSLN+/HLA-A*03+ 세포로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시킨다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 HLA-A*03을 소실하지 않은 MSLN+ 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키지 않는다.

[0037] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 크기를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 5%, 약 10%, 약 15%, 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 100% 감소

된다. 일부 실시양태에서, 종양은 제거된다.

[0038] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 성장을 정지시킨다.

[0039] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 수를 감소시킨다.

[0040] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 암 세포를 선택적으로 사멸시키지만 정상 세포는 사멸시키지 않는다. 일부 실시양태에서, 사멸된 세포의 적어도 약 60%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 65%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 70%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 75%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 80%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 85%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 90%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 95%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 100%가 암 세포이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체의 암 세포의 적어도 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90% 또는 전부를 사멸시킨다.

[0041] 본 개시내용의 방법의 일부 실시양태에서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 제1 활성화제 수용체를 포함하지만 제2 억제 수용체는 포함하지 않는 다른 동등한 면역 세포의 투여보다 대상체에 대해 더 적은 부작용을 초래한다.

[0042] 본 개시내용은 (a) 복수의 면역 세포를 제공하는 단계, 및 (b) 상기 복수의 면역 세포를 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드, 폴리뉴클레오티드 시스템 또는 벡터로 형질전환시키는 단계를 포함하는 복수의 면역 세포를 제조하는 방법을 제공한다.

[0043] 본 개시내용은 본 개시내용의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 포함하는 키트를 제공한다. 일부 실시양태에서, 키트는 사용 설명서를 추가로 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0044] 도 1은 TCGA 데이터베이스로부터 차단제 후보 유전자의 발현을 나타내는 표이다. (*)는 이전에 중피에서 발현되는 것으로 식별된 유전자를 나타낸다.

도 2는 정상 조직에서의 메소텔린(MSLN) 발현을 나타내는 플롯이다.

도 3은 TCGA 암(종양 및 정상 샘플 포함)에 걸친 MSLN의 발현을 보여주는 플롯이다. 약어: BLCA(방광암), BRCA(유방암), CESC(자궁경부 편평 세포 암종 및 자궁경내 선암종), CHOL(담관암종), COAD(결장 선암종), ESCA(식도암종), GBM(다형성 교모세포종), HNSC(두경부 편평 세포 암종), KICH(신장 혐색소(kidney chromophobe)), KIRP(신장 콩팥 유두 세포 암종), LIHC(간 간세포 암종), LUAD(폐 선암종), LUSC(폐 편평 세포 암종), PAAD(췌장 선암종), PRAD(전립선 선암종), PCPG(크롬친화성세포종 및 부신경절종), READ(직장 선암종), SARC(육종), SKCM(피부 피부흑색종), THCA(갑상선 암종), THYM(흉선종), STAD(위 선암종), UCEC(자궁 자궁내막 암종).

도 4는 CCLE 세포주에서 MSLN 발현을 나타내는 플롯이다.

도 5는 정상 조직에서 LRRN4 발현을 나타내는 플롯이다.

도 6은 TCGA 암(종양 및 정상 샘플 포함)에 걸친 LRRN4의 발현을 나타내는 플롯이다.

도 7은 TCGA 종양에 걸친 LRRN4의 발현을 나타내는 플롯이다.

도 8은 CCLE 세포주에서 LRRN4의 발현을 나타내는 플롯이다.

도 9는 LRRN4의 막관통 도메인에 대한 10개의 류신 풍부 반복부(LRR) 및 피브로넥틴 유형 III 도메인의 분포를 나타내는 플롯이다. 이러한 도메인의 대부분은 세포 표면에 위치할 가능성이 높다.

도 10a는 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체가 무세포 비드 기반 검정의 *시스*에서 저캇 세포의 활성화를 억제할 수 있음을 나타낸다.

도 10b는 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체가 백혈병 세포주 K562를 표적 세포로 사용하여 MSLN scFv CAR에 의한 저캇 세포의 활성화를 억제할 수 있음을 나타낸다.

도 11은 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체 및 HLA-A*02+ HeLa 및 SiHa 세포를 표적 세포로 사용하는 MSLN scFv CAR에 의해 IFNɣ의 유도 배수에 의해 측정된 바와 같이 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체가 저캇 세포의 활성화를 억제할 수 있음을 나타내는 도표(좌측) 및 차트(우측)이다.

도 12는 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체가 HLA-A*02+ SiHa 세포를 사용하여 MSLN CAR 활성화제에 의한 사멸을 억제하지만 HLA-A*02- SiHa 세포에서는 억제하지 않음을 나타낸다.

도 13은 이형접합성의 소실로 인해 암 세포에서 소실된 잠재적인 억제 수용체 표적을 식별하기 위해 사용되는 생물정보학 파이프라인의 도표이다.

도 14는 암 세포에서 발현되지 않는 잠재적인 억제 수용체 표적을 식별하기 위해 사용되는 생물정보학 파이프라인이다.

도 15a는 HLA-A*02 차단제가 고밀도 항원인 MSLN에 대한 MSLN CAR 활성화제를 억제함을 나타내는 한 쌍의 플롯이다. MSLN 또는 MSLN & HLA-A*02를 발현하는 K562 세포와 공동 배양된 MSLN LBD1-CAR 또는 MSLN LBD1-CAR & A2-LIR-1로 형질감염된 저캇 세포는 HLA-A*02의 존재 하에서만 A2-LIR-1 차단제로 고밀도 항원에 의한 활성화 차단을 나타낸다.

도 15b는 HLA-A*02 차단제가 고밀도 항원인 MSLN에 대한 MSLN CAR 활성화제를 억제함을 나타내는 한 쌍의 플롯이다. MSLN LBD1-CAR T 세포에 의한 내인성 MSLN+ HeLa 세포의 사멸은 HLA-A*02의 존재 하에서 A2-LIR-1 차단제로 차단된다.

도 15c는 HLA-A*02 차단제가 고밀도 항원인 MSLN에 대한 MSLN CAR 활성화제를 억제함을 나타내는 한 쌍의 플롯이다. MSLN LBD2-CAR T 세포에 의한 내인성 MSLN+ HeLa 세포의 사멸을 나타낸다. T 세포 사멸에 대한 A2-LIR-1 차단제의 효과는 활성화제 LBD에 의해 부분적으로 제어되며, 이는 차단제 모듈 또는 활성화제/차단제 쌍의 추가 최적화가 필요할 수 있음을 시사한다.

도 16은 HLA-A*02 LIR1 억제 수용체(PA2.1, 마우스 및 인간화)가 MSLN 및 HLA-A*02를 발현하는 HeLa 세포의 존재 하의 MSLN 3세대 CAR을 발현하는 T 세포에 의한 사멸을 효과적으로 차단함을 나타내는 일련의 플롯이다. 상단 행: MSLN + HLA-A*02+ HeLa 표적 세포; 하단 행: MSLN+ HLA-A*02- HeLa 세포(대조군). 뮤린 SS1 3세대 CAR(우측 상단, 박스형)는 인간화 M5 및 인간화 SS1 CAR보다 더 나은 창(window)을 제공한다.

도 17은 HLA-A*02 LIR1 억제 수용체(PA2.1, 마우스 및 인간화)가 MSLN+ HLA-A*02+ Capan-2 세포의 존재 하의 MSLN 3세대 CAR을 발현하는 T 세포에 의한 사멸을 효과적으로 차단함을 나타내는 일련의 플롯이다.

도 18은 뮤린 SS1 scFv로 2세대 CAR을 발현하는 T 세포에 의한 천연 MSLN + HLA-A*02+인 HCT116 야생형(WT) 세포 또는 MSLN + HLA-A*02+ HeLa 세포(좌측)의 사멸이 HLA-A*02 scFv LIR1 억제 수용체에 의해 효과적으로 차단됨을 나타내는 한 쌍의 플롯이다.

도 19는 HLA-A*02 scFv LIR-1 차단제의 공동 형질도입이 있거나 없는 T 세포에 의한 뮤린 SS1 2세대 CAR의 발현을 나타내는 일련의 형광 활성화 세포 분류(FACS) 플롯이다.

도 20a는 KRAS TCR에 의한 저캇 세포의 활성화를 차단하는 HLA-A*02 억제 수용체의 능력에 대한 LIR-1 힌지의 효과를 나타내는 플롯이다. H: 힌지, T: 막관통 도메인, ICD: 세포내 도메인, s: 짧음. LIR-1 작제물은 도 20b에 더 상세히 기재되어 있다. 더 짧은 LIR-1 힌지를 갖는 인간화 PA2.1 및 인간화 BB7.2는 원래의 더 긴 힌지와 유사하게 차단한다.

도 20b는 KRAS TCR 활성화제 및 하단 표에 나타낸 HLA-A*02 scFv LIR-1 억제 수용체(서열번호: 352-356)를 발현하는 저캇 세포에 대한 EC50 이동(+/- HLA-A*02 표적 세포)을 나타내는 플롯 및 표이다.

도 21a는 KRAS TCR에 의한 저캇 세포의 활성화를 차단하는 HLA-A*02 억제 수용체의 능력에 대한 LIR-1 힌지의

효과를 나타내는 플롯이다. H: 힌지, TM: 막관통 도메인, ICD: 세포내 도메인, s: 짧음; tr: 절단됨. LIR-1 작제물은 도 21b에 더 상세히 기재되어 있다. 약간 더 긴 힌지를 갖는 마우스 PA2.1은 T2-저캇 검정에서 원래의 LIR-1 힌지와 유사하게 기능한다.

도 21b는 KRAS TCR 활성화제 및 좌측 표에 나타낸 길이를 가지며 하단 표에 나타낸(서열번호: 357-361) HLA-A*02 scFv LIR-1 억제 수용체를 발현하는 저캇 세포에 대한 EC50 이동(+/- HLA-A*02 표적 세포)을 나타내는 플롯 및 한 쌍의 표이다.

도 22a 및 도 22b는 2개의 표적으로 선택적 세포독성을 달성하기 위한 Tmod 접근법을 나타낸다(Tmod는 활성화제 및 억제 수용체의 조합을 발현하는 면역 세포를 지칭함). 도 22a는 폐(및 기타 중요 기관)가 MSLN(+) 중피 내막으로 둘러싸여 있어 MSLN-표적 약물에 대한 온-타겟(on-target), 오프-종양 독성의 높은 위험을 생성함을 나타낸다. 종양이 LOH를 통해 이러한 대립유전자를 소실한 HLA-A*02에 대해 이형접합성인 환자를 선택함으로써, MSLN 활성화 CAR-T 세포를 표적으로 하여 종양 세포를 특이적으로 사멸시키고 정상 중피를 보존할 수 있는 기회가 있다. 도 22b는 MSLN-표적화된 Tmod 작제물의 분자 구성을 나타낸다(Tmod는 활성화제 및 억제 수용체 쌍을 지칭함). 2 수용체는 단일 작제물에서 공동 발현되고 암호화된 융합 단백질은 세포에서 절단되어 활성화제 및 차단제를 생성한다.

도 23a, 도 23b, 도 23c 및 도 23d는 선택적 MSLN 결합제의 단리 및 특징화를 나타낸다. 온-타겟 프로브는 가용성 MSLN(Acro Bio)으로 표지되었고; 역선택에 사용된 오프-타겟(off-target) 프로브는 가용성 CEA와 EGFR 단백질의 혼합물이었다. 도 23a는 IgG 라이브러리의 농축을 나타낸다. 도 23b는 scFv 라이브러리의 농축을 나타낸다. 도 23c는 저캇 세포에서 MSLN CAR(Gen3)의 표면 발현을 나타낸다. 세포를 CAR 작제물로 형질감염시키고 단백질 L 또는 단량체 가용성 MSLN으로 염색하였다(방법 참조). 벤치마크 및 CAR1-6 발현 히스토그램에 표지가 지정되어 있다. PE, 피코에리트린; NA, 뉴트라비딘; SA, 스트렙타비딘. "온-타겟 NGS"는 개별 이디오타입의 농축을 결정하기 위해 수집되어 DNA 시퀀싱을 거치는 세포 집단에 상응한다. 도 23d는 표면에 부착된 MSLN 단백질을 이용한 고체 상태 저캇 세포 검정에서 MSLN 결합제의 특징화를 나타낸다(Hamburger 등, 2020 참조). 상이한 scFv를 보유하는 62개의 CAR 작제물(Gen3)을 저캇 세포에서 일시적으로 형질감염시켜 CAR을 발현시키고 표면-결합된 재조합 인간 sMSLN(Acro Bio)에 대한 기능적 반응을 6시간 후에 평가하였다. 대부분 어느 정도의 반응을 보였다.

도 24a는 MSLN CAR 대 벤치마크 CAR M5, SS1 및 m912의 민감도를 나타낸다. SS1(Gen2)을 제외한 모든 작제물은 Gen3이었다. 저캇 세포 용량 반응(RLU)을 측정하여 6시간 공동 배양 검정에서 민감도를 평가하였다: (1) 적정 MSLN-암호화 mRNA를 사용하여 HEK293 세포를 형질감염시켰고; (2) QIFIKIT(정량 분석 키트, Agilent)를 사용하여 유세포 분석 기반 표면 발현을 MSLN 분자/세포로 전환시켰고; (3) 6개의 신규 및 3개의 벤치마크 CAR의 분자/세포 민감도(EC50)는 용량 반응 곡선을 피팅하여 계산되었다. 검정 검출 한계 미만의 민감도를 갖는 CAR의 경우, EC50은 <3000개의 MSLN 분자/세포로 보고되었다. 각 작제물에 대한 최대 신호(Emax) 또한 기록되었다. 실험은 1-4회 반복되었다.

도 24b는 CAR3 선택성을 나타낸다. M5 CAR에 대해 벤치마킹된 MSLN CAR3 선택성의 예이다. MSLN(+) 또는 MSLN(-) 세포주에 의한 저캇 세포 기능 검정에서 CAR의 활성화를 측정하였다. MSLN(+) 세포주의 경우, 비교를 위해 MSLN 녹아웃에 의해 변이체 MSLN(-) 버전이 생성되었다. 보다 상세한 오프-타겟 특징화에 대해서는 도 32b를 참조한다.

도 25a는 MSLN mAb로 염색하고 유세포 분석으로 평가한 인간 세포주에서 MSLN의 발현을 나타낸다. K562는 CAR3 또는 M5 벤치마크 CAR에 대한 기능적 반응성이 관찰되지 않았지만 항-MSLN 항체에 대해 약간의 교차-반응성을 나타냈다.

도 25b는 MSLN 및 A*02 mRNA(CCLE) 및 단백질(QIFIKIT)의 플롯된 수준이 상관관계를 나타내는 것을 보여준다. 단백질과 mRNA 수준 사이의 전환은 표준 곡선을 사용하여 계산되었다(하기 실시예 8의 방법 참조).

도 26a는 본 연구에 사용된 세포주의 요약을 나타낸다. 다양한 암 세포주에서 MSLN 및 A*02의 표면 밀도 정량화 및 정상 폐 조직에서 보고된 상응하는 mRNA 수준(GTEx). 조작된 그리고 야생형 종양 세포주의 표면 MSLN 및 A*02를 QIFIKIT(정량 분석 키트, Agilent)를 사용하여 정량화하였다. 세포주 HLA-A 일배체형이 A*02에 대해 이형접합성인 경우, TPM 값을 2로 나누었다. 특정 경우에는 HLA-A 대립유전자 복제 수를 알 수 없다는 점을 유의

해야 한다. MS751 + 형질도입된 A*02의 TPM 값(438 TPM)은 표준 곡선을 사용하여 표면 A*02 단백질 수준을 측정하여 추정하였다. HLA-A*02로 형질도입된 세포주는 내인성 수준의 단백질을 발현하는 세포주보다 정상적인 폐 조직의 A*02:MSLN 비율을 더 잘 모방한다(볼드 처리된 검은색 상자). TPM, 백만개당 전사체; na, 해당 없음; A*02: HLA-A*02.

도 26b는 QIFIKIT를 사용한 MSLN 분자/세포의 정량화를 나타낸다. 항-인간 MSLN 마우스 항체 클론 618923(R&D 시스템)을 사용하여 ~100,000개 세포를 염색하였다. 세포를 세척한 후, 항-마우스 IgG F(ab')2 2차 항체(Invitrogen A21237)를 사용하여 세포와 QIFI 비드 둘 모두 염색하였다. QIFI 항원 표준 곡선을 사용하여 표면의 MSLN 분자 수를 정량화하였다.

도 27a는 저캇 세포 기능 검정에서 MSLN CAR Tmod 작제물의 특징화를 나타낸다. 6개의 HuTARG-유래 MSLN 활성화제(CAR1-6) 및 벤치마크 CAR M5 및 SS1 활성화제는 A*02 차단제(폐쇄형 원) 또는 공벡터 대조군(빈 원)와 쌍을 이루었다. CAR +/- 차단제를 발현하는 저캇 NFAT 루시퍼라제 세포는 A*02:01 mRNA의 적정으로 형질감염된 야생형 내인성 MSLN(+) HeLa 세포와 공동 배양되었다. 기능적 반응(RLU)은 6시간 공동 배양 후 평가되었다. 표면 상의 적정 항원 분자는 QIFIKIT를 사용하여 정량화되었다. IC50(분자/세포) 값은 도면에 표시되어 있다. CAR1-6은 Gen3이고; CAR M5 및 SS1은 Gen2이다.

도 27b는 저캇 세포에서 MSLN CAR3 Tmod 작제물에 대한 EC50을 확립하기 위한 MSLN(-) HeLa 표적 세포에서 MSLN 및 A*02 mRNA의 2차원 적정을 나타낸다. MSLN(-) HeLa 표적 세포를 순차적으로 희석된 MSLN mRNA 및 불변 A*02 mRNA로 형질감염시키고 저캇 세포를 일시적으로 형질감염시켜 MSLN CAR3 및 A*02 차단제를 발현시켰다. 기능적 반응(RLU)은 6시간 공동 배양 후 평가되었다.

도 27c는 저캇 세포에서 MSLN CAR3 Tmod 작제물에 대한 IC50을 확립하기 위해 순차적으로 희석된 A*02 mRNA 및 불변 MSLN mRNA로 MSLN(-) HeLa 표적 세포의 형질감염을 나타낸다.

도 28a는 MSLN 및 A*02 mRNA 및 단백질의 플롯된 수준을 나타낸다. 정상(GTEx 데이터베이스) 및 종양 조직 및 세포주(TCGA, CCLE 데이터베이스)에서 MSLN 및 HLA-A 발현 수준과 관련된 작제물의 EC50 및 IC50. 단백질과 mRNA 수준 사이의 전환은 도 25b에 나타낸 표준 곡선을 사용하여 계산하였다(방법 참조). 그래프에 나타낸 HeLa 및 MS751 A*02 트랜스제닉 세포주 변이체는 정상 조직에서 활성화제 및 차단제 표적 비율을 더 잘 모방한다.

도 28b는 1차 T 세포에서 MSLN CAR 및 CAR3 Tmod 세포독성을 나타낸다. CAR 또는 Tmod로 형질도입된 1차 T 세포는 이펙터:표적(E:T) = 1:1에서 48시간 동안 나타낸 바와 같은 종양 또는 정상 표적 세포 중 어느 하나와 공동 배양되었다. A*02:MSLN(B:A) 표적 항원 비율은 2-27:1 범위였다. M5는 Gen2 CAR이었으며; 다른 모든 것들은 Gen3이었다. 종양 = MSLN(+)A*02(-) 표적 세포; 정상 = MSLN(+)A*02(+) 표적 세포.

도 29a는 세포독성 검정에서 A*02 차단제와 쌍을 이룬 리드 CAR3 수용체와 벤치마크 CAR의 비교를 나타낸다. SS1 CAR은 Gen2 작제물이며; 다른 것들은 Gen3이다. 2개의 개별 렌티바이러스 벡터를 사용하여 다양한 CAR +/- A*02 차단제로 형질도입된 1차 T 세포를 내인성 MSLN(+) A*02(-) 종양 또는 MSLN(+)A*02(+) 정상 HeLa 세포와 함께 배양하여 세포독성을 평가하였다. 형질도입된 1차 T 세포는 0.6:1 또는 0.3:1의 최종 효과적인 이펙터:표적 비율(E:T)에 대해 형질도입되지 않은 T 세포로 희석하여 불변 활성화제 또는 활성화제-차단제 이중-양성 집단 백분율 [15% A(+) 또는 A(+)B(+)] 세포로 정규화되었다. E:T 비율 둘 모두 T 세포가 A*02 차단제도 발현할 때 A*02 항원의 존재 하에 선택적 사멸을 초래하였다.

도 29b는 종양 또는 정상 표적 세포와의 공동 배양 48시간 후 분비된 IFN-g를 나타낸다. 다중 비교 검정을 사용한 이원 분산 분석(two-way ANOVA)을 사용하여 유의성을 계산하였다(기술적 반복실험 n = 3).

도 29c는 종양 또는 "정상" 표적 세포와 형질도입된 T 세포의 공동 배양 48시간 후에 측정한 전방 산란 이동으로 평가한 T 세포 활성화를 보여준다.

도 30a는 MSLN CAR3 Tmod 세포가 혼합된 종양 및 정상 세포 공동 배양물에서 RFP(+) 종양 세포를 선택적으로 사

멸시키고 GFP(+) 정상 세포를 살려둔다는 것을 나타낸다. HeLa 세포주의 부착 특성으로 인해 사멸된 표적은 표면 상에 클러스터로 남아 있는 경향이 있다. 흰색 화살표는 사멸된 RFP(+) 종양 세포의 몇몇의 예를 가리킨다. E:T 0.6:1 및 정상:종양 = 1:1의 예.

도 30b는 E:T = 1:1 및 정상:종양 = 9:1의 혼합된 정상 및 종양 공동 배양물에서의 세포독성을 나타낸다(다른 비율에 대해서는 도 31b 참조). CAR3 또는 CAR3 Tmod 작제물로 형질도입된 1차 T 세포를 48시간 동안 HeLa 표적 세포와 공동 배양하고 각각 MSLN(+)A*02(+) 정상 및 MSLN(+)A*02(-) 종양 세포주에서 발현된 GFP 및 RFP를 사용하여 영상화하였다.

도 31a는 MSLN CAR3 Tmod 세포가 혼합된 종양 및 정상 세포 공동 배양물에서 RFP(+) 종양 세포를 선택적으로 사멸시킨다는 것을 나타낸다. CAR3 Tmod 작제물로 형질도입된 1차 T 세포를 48시간 동안 HeLa 세포와 공동 배양하고 각각 MSLN(+)A*02(+) 정상 및 MSLN(+)A*02(-) 종양 세포주에서 발현된 GFP 및 RFP를 사용하여 영상화하였다.

도 31b는 E:T = 0.6:1, 9:1 내지 1:9 범위의 정상:종양을 갖는 혼합된 정상 및 종양 공동 배양물에서의 CAR3 및 CAR3 Tmod의 세포독성을 나타낸다.

도 32a는 MSLN CAR3 Tmod 작제물이 선택적이고, 지속적이며 가역적인 세포독성을 매개함을 나타낸다. CAR3 또는 CAR3 Tmod 형질도입된 1차 T 세포를 E:T = 1.2:1로 48시간 동안 종양 또는 정상 표적 세포와 함께 공동 배양하였다. 그런 다음 T 세포를 수집하고, 사멸 또는 비부착된 표적 세포를 고갈시키고, 추가 48시간 동안 새로운 종양 또는 정상 표적 세포에 재시딩(re-seed)하였다. RACA, 반복-항원 챌린지 검정. R1, 1 라운드; R2, 2 라운드.

도 32b는 MSLN(+) 및 MSLN(-) 대조군 표적 세포의 하위집단에 대한 저캇 세포 기능 검정에서 MSLN CAR3 Tmod 작제물 선택성이 오프-타겟 활성을 나타내지 않았음을 보여준다(하기 실시예 8에 대한 방법 참조). 막대 높이는 기술적 반복실험의 평균에 상응한다.

도 33a는 RACA(반복-항원 챌린지 검정) 및 가역성 검정의 개략도를 나타낸다. CAR3 또는 CAR3 Tmod 형질도입된 1차 T 세포는 E:T = 1.2:1로 48시간 동안 종양 또는 정상 표적과 함께 공동 배양되었다. 그런 다음 T 세포를 수집하고, 사멸 또는 비부착된 임의의 표적 세포를 고갈시키고, 추가 48시간 동안 새로운 종양 또는 정상 표적에 재시딩하였다.

도 33b는 가용성 순환 MSLN(sMSLN)이 CAR-T 활성에 영향을 미치지 않음을 나타낸다. M5 벤치마크 CAR 또는 CAR3에 의한 종양 또는 정상 표적 세포의 급성 세포독성은 500ng/mL sMSLN(Acro Bio)의 존재에 의해 영향을 받지 않았다.

도 33c는 유세포 분석에 의해 분석된 표지된 sMSLN 단량체 또는 사량체로 일시적으로 형질감염된 CAR(+) 저캇 세포의 염색이 sMSLN이 구조적으로 온전하고 수용체에 결합할 수 있음을 나타낸다는 것을 보여준다.

도 34a, 도 34b 및 도 34c는 Tmod 작제물이 이종이식편 모델에서 종양 세포의 선택적인 사멸을 매개함을 나타낸다. 도 34a는 이중 옆구리 종양 및 정상 MS751 이종이식편 모델의 개략도를 나타낸다. 도 34b는 생체발광 값이 광자/초/cm2/sr의 플럭스 단위로 컬러 스케일의 우측에 있음을 나타낸다. 0일차 = T 세포 주사 전; 8일차 및 15일차 = T 세포 주사 후. 도 34c는 캘리퍼 측정에 의해 평가된 이식편 크기를 나타낸다(하기 실시예 8에 대한 결과 참조).

도 35a, 도 35b 및 도 35c는 MSLN CAR Tmod가 이종이식편 모델에서 종양을 선택적으로 사멸시킨다는 것을 나타낸다. 도 35a는 MSLN CAR 또는 CAR3 Tmod로 형질도입된 1차 T 세포가 E:T = 1.4:1로 48시간 동안 시험관 내에서 HLA-A KO 종양 또는 A*02-트랜스제닉 정상 MS751 표적 세포와 공동 배양되었음을 나타낸다. M5는 Gen2 CAR이었으며; 다른 모든 것들은 Gen3이었다. 종양 = MSLN(+)A*02(-) 표적 세포; 정상 = MSLN(+)A*02(+) 표적 세포. 도 35b는 도 34c에 나타낸 데이터에 대한 개별 마우스 이종이식편 성장 곡선을 나타낸다. 도 35c는 T 세포 주사 후 정상 및 종양 세포의 BLI 정량화를 나타낸다.

도 36은 A*02(+) 또는 (-) T 세포에서 A*02 차단제의 시스 결합이 기능을 폐지함을 나타낸다. A*02 사량체에 의한 A*02(+) 저캇 세포 및 1차 T 세포에서 차단제의 결합은 자가유래 A*02의 시스-결합으로 인해 유의하게 감소하였다. 감소된 결합(차단제의 이용가능성 감소로 인해)은 감소된 차단제 활성과 관련이 있었다. E:T = 0.5:1에서 나타낸 세포독성 검정.

도 37a, 도 37b 및 도 37c는 MSLN Tmod 시스템이 자가유래 T 세포로 확장될 수 있음을 나타낸다. 도 37a는

A*02(+) 공여자에서 자가유래 A*02의 시스-결합이 A*02 사량체에 대한 결합을 제거하고 CRISPR에 의한 B2M 녹아웃(KO)이 A*02(-) 공여자에서 관찰된 수준과 유사하게 A*02 사량체에 결합함으로써 입증된 바와 같이 차단제 이용가능성을 회복함을 나타낸다. 도 37b는 종양(솔리드) 또는 정상(오픈) 표적 세포와 함께 배양된 활성화제-단독 및 MSLN SS1 CAR Tmod 1차 T 세포를 나타내는 세포독성 검정을 나타낸다. MSLN SS1 CAR Tmod 작제물은 MSLN(+) A*02(-) 종양 HeLa 표적 세포를 사멸시키지만 시스-결합의 결과로 자가유래 A*02의 존재 하에서는 더 이상 차단하지 않는다. A*02(+) 공여자의 경우, B2M CRISPR KO를 통해서만 차단이 이루어진다. E:T = 1.2:1. 도 37c는 48시간에서의 대표적인 이미지를 나타낸다. 도 37d는 SS1 Tmod와 유사하게 CAR3 Tmod가 A*02(+) T 세포에서 A*02 사량체에 대한 결합을 감소시켰음을 보여준다. shRNA를 이용한 B2M 녹다운(KD)은 차단제 이용가능성을 회복한다. 도 37e는 B2M shRNA가 MSLN(+)A*02(+) "정상" HeLa 세포에서 세포독성 차단도 회복함을 나타낸다. 도 37f는 인간화된 A*02 차단제와 쌍을 이룬 CAR3이 B2M KO 또는 KD가 없는 경우에도 A*02(+) 공여 T 세포에서 "정상" 세포의 사멸을 차단하는 능력을 유지함을 나타낸다.

도 38a는 scFv 라이브러리로부터 세포 분류의 다중 라운드를 통한 항-HLA-A*11 결합제의 농축을 나타낸다. 온-타겟 프로브는 HLA-A*11 사량체로 표지되었고; 오프-타겟 단백질은 관련이 없는 MHC 사량체의 혼합물이었다.

도 38b는 mRNA 적정 검정에서 저캇 세포 활성화를 나타낸다: HeLa 표적 세포를 순차적으로 희석된 HLA-A*11 mRNA로 형질감염시키고 저캇 세포를 일시적으로 형질감염시켜 HLA-A*11 CAR4를 발현시켰다. 기능적 반응(RLU)은 6시간의 공동 배양 후 평가되었다. PE, 피코에리트린.

도 39a는 MSLN CAR3 및 A*03, A*11 또는 B*07 차단제 작제물을 발현하는 저캇 세포가 내인성 MSLN(+) HeLa 표적 세포 상에서 증가하는 차단제 항원의 존재 하에 차단되었음을 나타낸다.

도 39b 및 도 39c는 MSLN CAR3 + A*11 차단제의 1차 T 세포 세포독성 검정을 나타낸다. CAR3 및 A*11:01-지시 차단제로 형질도입된 1차 T 세포는 A*11:01로 HeLa 표적 세포를 효율적으로 차단하고 CAR-단독 세포만큼 야생형 HeLa 세포를 효과적으로 사멸시킨다. 형질도입된 1차 T 세포는 E:T = 0.8:1에서 HLA-A*11:01이 있거나 없는 HeLa 세포와 공동 배양되었다. 본원에서 사용된 종양 및 정상 표적 세포 모두 GFP를 발현하였다는 점에 유의해야 한다. 도 39c는 도 39b에 대한 48시간에서의 대표적인 공동 배양 이미지를 나타낸다.

도 40은 MSLN CAR3 Tmod이 종양 표적 세포를 사멸시키고 "정상" 표적 세포를 차단하는 것이 HeLa 표적 세포를 50 ng/mL IFN-γ로 밤새 처리하여 유도된 PD-L1의 존재에 영향을 받지 않음을 보여준다. 항-PD-1 항체로 차단하는 것도 마찬가지로 CAR3 Tmod에 영향을 미치지 않는다.

도 41은 저캇 세포 기능 검정에서 MSLN CAR A*03 Tmod 작제물의 특징화를 나타낸다. mBA GAP-A3 = 마우스 차단제 및 활성화제가 포함된 작제물(shRNA 없음).

도 42는 MS751 표적 세포 상에서 5명의 상이한 공여자로부터의 1차 T 세포 내 MSLN CAR A*03 Tmod 작제물의 기능적 특징화를 보여준다. mBAsh(GAP-A3) = 마우스 차단제 및 활성화제가 포함된 작제물(β2M shRNA 포함).

도 43은 HeLa 표적 세포 상에서 5명의 상이한 공여자로부터의 1차 T 세포 내 MSLN CAR A*03 Tmod 작제물의 기능적 특징화를 보여준다. mBAsh(GAP-A3) = 마우스 차단제 및 활성화제가 포함된 작제물(β2M shRNA 포함).

도 44a 및 도 44b는 Tmod 작제물이 이종이식편 모델에서 종양 세포의 선택적 사멸을 매개함을 나타낸다. 도 44a는 이중 옆구리 종양 및 정상 MS751 이종이식편 모델의 개략도를 나타낸다. 도 44b는 캘리퍼 측정으로 평가한 이종이식편 크기를 보여준다. 0일차 = 이종이식편 주입. 수평 점선은 T 세포 주사 시간을 나타냈다. mBAsh(A3) = 마우스 차단제 및 활성화제가 포함된 작제물(β2M shRNA 포함).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0045] 암과 정상(즉, 건강한 또는 야생형) 세포 사이의 리간드의 유전자 발현 차이에 반응하는 2 수용체 시스템을 포함하는 면역 세포를 사용하여 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법이 본원에 제공된다. 발현의 이러한 차이는 암

세포의 이형접합성의 소실로 인한 것일 수 있다. 대안적으로, 발현의 차이는 유전자가 암 세포에서 발현되지 않거나 정상 세포보다 낮은 수준으로 암 세포에서 발현되기 때문일 수 있다. 2 수용체 시스템은 면역 세포, 예를 들어 입양 세포 요법에 사용되는 면역 세포에서 발현되며, 이형접합성의 소실 또는 발현 차이를 나타내는 암 세포에 대한 이들 면역 세포의 활성을 표적으로 한다. 이 2 수용체 시스템에서, 제1 수용체(활성화제 수용체, 때때로 본원에서 A 모듈로 언급됨)는 면역 세포를 활성화하거나 면역 세포의 활성화를 촉진하는 반면, 제2 수용체(억제 수용체, 때때로 본원에서 차단제, 억제제 수용체, 또는 B 모듈로 언급됨)는 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제하는 작용을 한다. 각각의 수용체는 특정 리간드에 결합하는 리간드 결합 도메인(LBD)을 함유한다. 리간드 결합 시 두 수용체로부터의 신호는 면역 세포에 의해 통합된다. 예를 들어, 암 세포에서 억제 리간드를 암호화하는 유전자좌의 이형접합성 소실 또는 전사 수준의 차이를 통해, 암 및 정상 세포에서 제1 및 제2 수용체에 대한 리간드의 차등적 발현은 제1 활성화제 리간드를 발현하지만 제2 억제 리간드를 발현하지 않는 표적 암 세포에 의한 면역 세포의 활성화를 매개한다.

[0046] 대규모 염색체 결실로 인한 이형접합성의 소실(LOH)은 종양의 유전적 차이의 원인이다. LOH는 평균 종양에서 LOH를 나타내는 대략 20%의 유전자를 갖는 게놈의 거의 모든 유전자좌에 영향을 미치는 종양 형성의 일반적인 사건이다. LOH는 모든 악성 세포에서 특정 생식계열 대립유전자가 결여된 종양을 발견할 수 있기 때문에 종양을 정상 조직과 확실하게 구별할 수 있는 수단을 제공한다. LOH를 겪는 하나의 유전자좌는 인간 백혈구 항원(HLA) 유전자좌이며, 이는 다형적이고 풍부하며 편재하는 표면 항원을 암호화한다. 본원에 기재된 2 수용체 시스템은 종양-항원-양성 종양 세포에 노출된 T 세포(때때로 "활성화제 모듈"로 지칭됨)를 활성화하기 위한 하나의 수용체 및 HLA-A*02 또는 HLA-A*03 단백질과 같은 표면 차단 항원의 존재 하에 면역 세포의 활성화를 예방하는 제2 수용체를 사용한다. 본원에 기재된 이중 수용체 시스템(때때로 본원에서 "Tmod"로 지칭됨)은 면역 세포의 가역적 활성화/차단 및 종양 및 "정상" 세포의 혼합물에서의 선택성을 포함하지만 이에 제한되지 않는 세포 요법으로서 다른 유리한 특성을 갖는다.

[0047] 본원에 제공된 조성물 및 방법의 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 2 수용체 시스템을 포함하는 면역 세포를 사용하여 메소텔린(MSLN) 양성 암을 치료한다. 여기에는 중피종암, 난소암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 두경부암, 신장암, 자궁암, 위암, 췌장암, 폐암, 결장직장암 또는 담관암종이 포함된다. 일부 실시양태에서, 암은 대상체에서 재발하였다. 일부 실시양태에서, 암은 이전에 투여된 하나 이상의 항암 요법에 불응성이다. 일부 실시양태에서, 암은 전이성이다. MSLN-양성 암의 경우, 활성화제 수용체의 표적 항원은 MSLN 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원이다. MSLN은 특히 정상 지방, 나팔관, 폐 및 침샘 조직에서 발현된다(도 2). 특정 종양에서의 발현 때문에, MSLN은 이들 암 세포가 적절한 치료제로 특이적으로 표적화될 수 있다면 MSLN+ 종양의 선택적인 사멸을 매개할 수 있는 매력적인 종양 특이적 항원이다. 그러나, 비-암(비-표적) 세포에서의 정상 MSLN 발현은 입양 세포 요법과 같은 표적 요법을 위한 MSLN의 효과적인 사용을 방해하였다. MSLN 활성화제 수용체를 억제 수용체와 쌍을 이루게 함으로써, 본원에서 제공되는 방법은 입양 세포 요법의 특이성을 증가시키고 용량 제한 독성과 같은 이러한 요법과 연관된 유해 효과를 감소시킨다.

[0048] 일부 실시양태에서, 활성화제에 대한 리간드는 MHC 클래스 I과 복합체화된 MSLN 펩티드이다. 본원에 기재된 방법에서, 이 MSLN 표적 활성화제 수용체는 억제 수용체와 쌍을 이루며, 정상적인 MSLN 양성 조직에서 세포 용해 효과를 차단함으로써 활성화제의 안전 창을 증가시킨다. 그러나, 활성화제 수용체는 종양 세포가 억제제, 또는 차단제, 수용체에 대한 리간드를 발현하지 않기 때문에, 여전히 2-수용체 시스템을 포함하는 면역 세포에 의한 종양 세포의 표적 사멸을 지시한다. 제2 억제 수용체에 대한 표적은 폐, 중피 및 지방 조직과 같은 MSLN 양성 조직에서 발현되지만, 암 세포에서는 발현되지 않으며, 억제 수용체는 이 "비-표적 항원"을 억제 자극으로 인식한다. 제2 억제 수용체에 대한 예시적인 표적은 폐 조직에 의해 발현되고, 이형접합성의 소실(LOH) 또는 다른 메커니즘으로 인해 MSLN 양성 암 세포로부터 소실되어, 억제 수용체 상의 대립유전자-특이적 리간드 결합 도메인을 통해 다른 대립유전자와 구별될 수 있는 암 세포에서 단일 대립유전자 형태를 남긴다. 억제 수용체의 예시적인 표적은 인간 백혈구 항원 A(HLA-A), HLA-B, HLA-C 및 다른 HLA와 같은 주요 조직 적합성 복합체(MHC) 단백질을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. HLA는 변이 유전자, 예컨대 HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03, HLA-C*07 등에 의해 암호화되며, 이는 이형접합성의 소실을 통해 MSLN 양성 암 세포에서 소실될 수 있다. 대안적으로, 억제 수용체의 추가의 예시적인 표적은 세포간 부착 분자 1(ICAM1), 카테콜-O-메틸트랜스퍼라제(COMT) 및 C-X-C 모티프 케모카인 리간드 16(CXCL16)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이들 각각은 항체에 접근할 수 있는 세포외 도메인의 아미노산 변경을 갖는 일반적인 비동의 변이 형태를 가지고 있으며, 이는 MSLN 양성 암 환자를 MSLN 또는 MSLN pMHC 반응 활성화제 수용체와 같은 활성화제 수용체에 의해 활성화된 조작된 T 세포로 안전하게 치료하도록 설계된 세포 통합체에 대한 억제 수용체 또는 차단제 수용체 표적으로 사용될 수 있다.

[0049] 본 개시내용의 조성물 및 방법은 정상 조직에서 MSLN의 발현에 의해 유발되는 용량 제한 독성(DLT)을 감소시키거나 제거할 수 있다. 본 개시내용은 제2 리간드(MSLN 이외의 리간드, 비-표적 항원 또는 차단제 항원으로 지칭됨)의 존재 하에 입양 면역 세포의 활성화를 차단하는 제2 억제 수용체를 첨가함으로써 입양 세포 요법을 사용하여 MSLN 양성 암을 치료하기 위해 암 세포에서 MSLN을 표적화하는 방법을 제공한다. 본원에 기재된 조성물 및 방법을 사용하여, MSLN을 발현하는 종양 세포는 이들 종양 세포가 활성화제 리간드인 MSLN만을 발현하기 때문에 2 수용체를 발현하는 입양 세포, 예컨대 면역 세포에 의해 공격받는다. 대조적으로, MSLN과 비-표적 항원을 발현하는 정상 세포는 입양 면역 세포로부터 보호된다. 정상 세포의 비-표적 항원에 대한 억제 수용체 반응은 MSLN 표적 활성화제 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 예방한다. 이 이중 표적 접근법은 MSLN 양성 암 환자에서 MSLN 지시 세포 요법을 안전하고 효과적으로 투약할 수 있는 치료 창을 생성한다.

[0050] 본 개시내용은 온-타겟 독성을 유도하는 강력한 MSLN CAR 및 TCR의 사용을 가능하게 하는 방법 및 조성물을 제공하고, 이들 MSLN 표적 수용체를 이들의 독성을 완화함으로써 치료제로서 유용하게 만든다.

[0051] 변형으로, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 표적 세포를 사멸시키고/시키거나 비-표적 항원을 암호화하는 서열에서 부분 유전자 결실, 후생적 침묵 및 점 돌연변이 또는 절단 돌연변이를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 이형접합성의 소실 이외의 원인에 의해 비-표적 항원의 발현이 부분적으로 또는 완전히 감소된 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0052] 미국 특허 출원 공개 번호 2022/0370497에 기술된 방법 및 조성물은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0053] 정의

[0054] 본 개시내용을 보다 상세하게 설명하기 전에, 본원에서 사용되는 특정 용어의 정의를 제공하는 것이 이를 이해하는 데 도움이 될 수 있다.

[0055] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 특정 실시양태의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 조성물, 방법 및 재료의 바람직한 실시양태가 본원에 기술되어 있다. 본 개시내용의 목적을 위해, 다음 용어는 하기에 정의된다. 추가적인 정의는 본 개시내용 전반에 걸쳐 제시된다.

[0056] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약" 또는 "대략"은 기준 수량, 수준, 값, 수, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이에 비해 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1% 만큼 변하는 수량, 수준, 값, 수, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이를 지칭한다. 한 실시양태에서, 용어 "약" 또는 "대략"은 기준 수량, 수준, 값, 수, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이에 대해 ± 15%, ± 10%, ± 9%, ± 8%, ± 7%, ± 6%, ± 5%, ± 4%, ± 3%, ± 2%, 또는 ± 1% 수량, 수준, 값, 수, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이 범위를 지칭한다.

[0057] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단리된"은 본래의 상태에서 일반적으로 동반하는 성분이 실질적으로 또는 본질적으로 없는 물질을 의미한다. 특정 실시양태에서, 용어 "수득된" 또는 "유래된"은 단리된 것과 동의어로 사용된다.

[0058] 용어 "대상체," "환자" 및 "개체"는 본원에서 척추동물, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간을 지칭하기 위해 상호 교환적으로 사용된다. 조직, 세포, 및 생체 내에서 얻거나 시험관 내에서 배양한 생물학적 독립체의 자손도 포함된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "대상체," "환자" 또는 "개체"는 본원에서 고려되는 벡터, 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 통증을 나타내는 임의의 동물을 포함한다. 적합한 대상체(예를 들어, 환자)는 실험동물(예를 들어 마우스, 랫트, 토끼 또는 기니피그), 농장 동물 및 가축 또는 애완동물(예를 들어 고양이 또는 개)을 포함한다. 비인간 영장류 및 바람직하게는 인간 환자가 포함된다.

[0059] 본원에서 사용된 "치료" 또는 "치료하는"은 임의의 유익하거나 바람직한 효과를 포함하며, 심지어 증상의 최소한의 개선도 포함할 수 있다. "치료"는 반드시 질환이나 병태 또는 관련 증상의 완전한 박멸이나 치유를 의미하지는 않는다.

[0060] 본원에서 사용되는 바와 같이, "예방하다," 및 "예방된," "예방하는" 등과 같은 유사한 단어는 질환 증상의 가능성을 예방, 억제 또는 감소시키기 위한 접근법을 나타낸다. 또한, 질환 또는 병태의 발병 또는 재발을 지연시키거나 질환 증상의 발생 또는 재발을 지연시키는 것을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "예방" 및 유사한 단어는 또한 개시 또는 재발 전에 질환의 강도, 영향, 증상 및/또는 부담을 감소시키는 것을 포함한다.

[0061] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "양"은 임상 결과를 포함하여 유익하거나 원하는 예방 또는 치료 결과를 달성하기 위한 바이러스의 "유효한 양" 또는 "유효량"을 지칭한다.

[0062] 바이러스 또는 세포의 "치료적 유효량"은 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 바이러스 또는 세포가 개체에서 원하는 반응을 이끌어내는 능력과 같은 요인에 따라 달라질 수 있다. 치료적 유효량은 또한 바이러스 또는 세포의 임의의 독성 또는 해로운 효과보다 치료적으로 유익한 효과가 더 큰 양이다. 용어 "치료적 유효량"은 대상체 (예를 들어, 환자)를 "치료"하는 데 효과적인 양을 포함한다.

[0063] 예를 들어, 전기생리학적 활성 또는 세포 활성과 같은 생리학적 반응의 "증가된" 또는 "향상된" 양은 전형적으로 "통계적으로 유의한" 양이며, 처리되지 않은 세포의 활성 수준의 1.1, 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30배 이상(예를 들어, 500, 1000배)(1 초과의 모든 정수 및 그 사이의 소수점 포함, 예를 들어, 1.5, 1.6, 1.7. 1.8 등)의 증가를 포함할 수 있다.

[0064] 예를 들어, 전기생리학적 활성 또는 세포 활성과 같은 생리학적 반응의 "감소된(decreased)" 또는 "감소된(reduced)" 양은 전형적으로 "통계적으로 유의한" 양이며, 처리되지 않은 세포의 활성 수준의 1.1, 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30배 이상(예를 들어, 500, 1000배)(1 초과의 모든 정수 및 그 사이의 소수점 포함, 예를 들어, 1.5, 1.6, 1.7. 1.8 등)의 감소를 포함할 수 있다.

[0065] "유지하다," 또는 "보존하다," 또는 "유지," 또는 "변화 없음," 또는 "실질적인 변화 없음," 또는 "실질적인 감소 없음"은 일반적으로 두 비히클 또는 대조군 분자/조성물에 의해 유발된 반응에 비교 가능한 생리학적 반응을 지칭한다. 비교 가능한 반응은 기준 반응과 크게 다르지 않거나 측정 가능한 차이가 없는 반응이다.

[0066] 일반적으로, "서열 동일성" 또는 "서열 상동성"은 각각 2개의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열의 정확한 뉴클레오티드-대-뉴클레오티드 또는 아미노산 대 아미노산 대응을 지칭한다. 전형적으로, 서열 동일성을 결정하기 위한 기술은 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열을 결정하는 단계 및/또는 그에 의해 암호화된 아미노산 서열을 결정하는 단계, 및 이들 서열을 제2 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열과 비교하는 단계를 포함한다. 2개 이상의 서열(폴리뉴클레오티드 또는 아미노산)은 이들의 "퍼센트 동일성"을 결정하여 비교할 수 있다. 핵산이든 아미노산 서열이든, 두 서열의 퍼센트 동일성은 2개의 정렬된 서열 간의 정확한 일치 수를 더 짧은 서열의 길이로 나누고 100을 곱한 것이다. 퍼센트 동일성은 또한, 예를 들어, 국립보건원에서 구할 수 있는 버전 2.2.9를 포함한 고급 BLAST 컴퓨터 프로그램을 사용하여 서열 정보를 비교함으로써 결정할 수 있다. BLAST 프로그램은 Karlin 및 Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268 (1990)의 정렬 방법에 기초하고 Altschul, 등, J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Karlin 및 Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877 (1993); 및 Altschul 등, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)에서 논의된 바와 같다. 간략하게, BLAST 프로그램은 동일하게 정렬된 기호(일반적으로 뉴클레오티드 또는 아미노산)의 수를 두 서열 중 더 짧은 기호의 총수로 나눈 것으로 동일성을 정의한다. 이 프로그램은 비교되는 단백질의 전체 길이에 걸쳐 퍼센트 동일성을 결정하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, blastp 프로그램에서 짧은 쿼리 서열로 검색을 최적화하기 위해 기본 매개변수가 제공된다. 이 프로그램은 또한 Wootton 및 Federhen, Computers and Chemistry 17:149-163 (1993)의 SEG 프로그램에 의해 결정된 바와 같이 쿼리 서열의 세그먼트를 마스크-오프하기 위해 SEG 필터의 사용을 허용한다. 원하는 정도의 서열 동일성의 범위는 약 80% 내지 100%이고 그 사이의 정수 값이다. 전형적으로, 개시된 서열과 청구된 서열 사이의 퍼센트 동일성은 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 98%이다.

[0067] 본원에서 사용되는 바와 같이, "폴리뉴클레오티드 시스템"은 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 하나 이상의 폴리뉴클레오티드는 특정 적용을 위해 협력하여 작동하도록 또는 원하는 형질전환된 세포를 생성하도록 설계될 수 있다.

[0068] 용어 "외인성"은 본원에서 유기체 외부로부터 기원하는 핵산, 단백질 또는 펩티드, 소분자 화합물 등을 포함하는 임의의 분자를 지칭하는 데 사용된다. 대조적으로, 용어 "내인성"은 유기체 내부로부터 기원하는 (즉, 유기체에 의해 자연적으로 생성되는) 임의의 분자를 지칭한다.

[0069] 용어 "MOI"는 본원에서 감염 다중도를 지칭하는 데 사용되고, 이는 감염 표적(예를 들어 세포)에 대한 작용제(예를 들어 바이러스 입자)의 비율이다.

[0070] 본 명세서에서, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는 달리 명시되지 않는 한, 인용된 범위 내의 임의의 정수 값 및 적절한 경우 그의 분수(예컨대 정수의 1/10 및 1/100)를 포함하는 것으로 이해될 것이다. 용어 "약"은 숫자 또는 수사 바로 앞에 오는 경우 해당 숫자 또는 수사 범위가 ±10% 범위임을 의미한다.

[0071] 본원에서 사용되는 바와 같이, "표적 세포"는 입양 세포 요법에 의해 표적화된 세포를 지칭한다. 예를 들어, 표적 세포는 입양 세포 요법의 이식된 T 세포에 의해 사멸될 수 있는 암 세포일 수 있다. 본 개시내용의 표적 세포는 본원에 기재된 바와 같이 표적 항원을 발현하고, 비-표적 항원을 발현하지 않는다.

[0072] 본원에서 사용되는 바와 같이, "비-표적 세포"는 입양 세포 요법에 의해 표적화되지 않는 세포를 지칭한다. 예를 들어, 암 세포를 표적으로 하는 입양 세포에서, 정상, 건강한 비-암성 세포는 비-표적 세포이다. 대상체의 일부 또는 모든 비-표적 세포는 표적 항원과 비-표적 항원을 모두 발현할 수 있다. 대상체의 비-표적 세포는 이러한 세포가 또한 표적 항원을 발현하는지에 관계없이 비-표적 항원을 발현할 수 있다.

[0073] 본원에서 사용되는 바와 같이, "비-표적 대립유전자 변이체"는 이의 생성물이 비-표적 세포에 의해 발현되지만 표적 세포에 의해 발현되지 않는 유전자의 대립유전자를 지칭한다. 예를 들어, 비-표적 대립유전자 변이체는 대상체의 정상적인 비-암 세포에 의해 발현되지만 대상체의 암 세포에 의해 발현되지 않는 유전자의 대립유전자이다. 비-표적 대립유전자 변이체의 발현은 이형접합성의 소실, 돌연변이, 또는 비-표적 대립유전자 변이체를 암 호화하는 유전자의 후성적 변형을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 임의의 메커니즘에 의해 암 세포에서 소실될 수 있다.

[0074] 본원에서 사용되는 바와 같이, 항원 결합 도메인과 같은 리간드 결합 도메인과 관련하여 사용되는 경우 "에 특이적" 또는 "특이적으로 결합하는"은 명명된 표적에 대해 높은 특이성을 갖는 리간드 결합 도메인을 지칭한다. 항체 특이성은 리간드 결합 도메인과 상응하는 리간드 사이의 적합도, 또는 리간드 결합 도메인이 유사하거나 유사하지 않은 리간드를 구별하는 능력의 척도로 볼 수 있다. 특이성과 비교하여, 친화도는 리간드 결합 도메인과 리간드 사이의 결합 강도의 척도로서, 낮은 친화도 리간드 결합 도메인은 약하게 결합하고 높은 친화도 리간드 결합 도메인은 강하게 결합한다. 표적 대립유전자에 특이적인 리간드 결합 도메인은 유전자의 상이한 대립유전자를 구별할 수 있는 것이다. 예를 들어, HLA-A*02에 특이적인 리간드 결합 도메인은 HLA-A*01 또는 HLA-A*03과 같은 다른 HLA-A 대립유전자에 결합하지 않거나 약하게만 결합한다. 당업자는 리간드 결합 도메인이 특정 표적에 특이적이라고 말할 수 있고, 본원에 기재된 수용체 시스템에서 이의 기능에 영향을 미치지 않는 하나 이상의 추가 표적에 여전히 낮은 수준의 결합을 갖는다는 것을 이해할 것이다.

[0075] 본원에서 사용되는 바와 같이, "표적 항원"은 항원이라는 용어를 사용하든 특정 항원의 명칭을 사용하든 간에 암 세포와 같은 표적 세포에 의해 발현되는 항원을 지칭한다. 표적 항원의 발현은 표적 세포에 제한되지 않는다. 표적 항원은 대상체에서 암 세포 및 정상, 비-암 세포 모두에 의해 발현될 수 있다.

[0076] 본원에서 사용되는 바와 같이, "비-표적 항원" (또는 "차단제 항원")은 항원이라는 용어를 사용하든 특정 항원의 이름을 사용하든 정상, 비-암 세포에서 발현되고 암 세포에서 발현되지 않는 항원을 지칭한다. 이러한 발현의 차이는 억제 수용체가 비-표적 세포의 존재 하에서 면역 세포 활성화를 억제하도록 하지만 표적 세포의 존재 하에서는 그렇지 않다.

[0077] 다형성은 모집단에서 뉴클레오티드 서열의 두 개 이상의 변이체의 존재를 지칭한다. 다형성은 하나 이상의 염기 변화, 삽입, 반복 또는 결실을 포함할 수 있다. 다형성은 예를 들어 단순 서열 반복부(SSR) 및 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP)을 포함하고, 이는 아데닌(A), 티민(T), 시토신(C) 또는 구아닌(G)의 단일 뉴클레오티드가 변경될 때 발생하는 변이이다.

[0078] 본원에서 사용되는 바와 같이, "친화도"는 수용체, 예를 들어 본원에 기재된 임의의 수용체의 항원 결합 도메인에 대한 항원 상의 단일 리간드 결합 부위에 대한 리간드의 결합 강도를 지칭한다. 리간드 결합 도메인은 리간드와 더 약한 상호작용(낮은 친화도) 또는 더 강한 상호작용(높은 친화도)을 가질 수 있다.

[0079] Kd, 또는 해리 상수는 예를 들어, 수용체와 동족 리간드를 포함하는 거대분자 복합체가 리간드와 수용체로 분리되는 경우와 같이 더 작은 성분으로 가역적으로 분리되는 더 큰 물체의 성향을 측정하는 평형 상수의 한 유형이다. Kd가 높다는 것은 수용체를 점유하기 위해서는 고농도의 리간드가 필요하고 리간드에 대한 수용체의 친화도가 낮다는 것을 의미한다. 반대로, 낮은 Kd는 리간드가 수용체에 대해 높은 친화도를 갖는다는 것을 의미한다.

[0080] 본원에서 사용되는 바와 같이, "반응성" 또는 "에 반응성인" 수용체는 리간드(즉, 항원)에 의해 결합되는 경우, 세포 내 도메인의 알려진 기능에 해당하는 신호를 생성하는 세포 내 도메인을 포함하는 수용체를 지칭한다. 표적 항원에 결합된 활성화제 수용체는 활성화제 수용체를 발현하는 면역 세포의 활성화를 유발하는 신호를 생성할 수 있다. 비-표적 항원에 결합된 억제 수용체는 활성화제 수용체를 발현하는 면역 세포의 활성화를 방지하거나 감소시키는 억제 신호를 생성할 수 있다. 수용체의 반응성 및 수용체를 발현하는 면역 세포를 활성화 또는

억제하는 능력은 리포터 분석 및 세포독성 분석을 포함하지만 이에 제한되지 않는 당업계에 공지되고 본원에 기재된 임의의 수단에 의해 분석될 수 있다.

[0081] 본원에서 사용되는 바와 같이, 면역 세포의 "활성화" 또는 "활성화된" 면역 세포는 면역 반응의 특징적인 하나 이상의 기능을 수행할 수 있는 면역 세포를 지칭한다. 이러한 기능에는 증식, 사이토카인 방출 및 세포독성, 즉 표적 세포의 사멸이 포함된다. 활성화된 면역 세포는 당업자에게 명백할 마커를 발현한다. 예를 들어, 활성화된 T 세포는 CD69, CD71, CD25 및 HLA-DR 중 하나 이상을 발현할 수 있다. 활성화제 수용체(예를 들어, MSLN CAR)를 발현하는 면역 세포는 이것이 표적 세포에 의해 발현되는 표적 항원(예를 들어, MSLN)에 대한 수용체의 결합에 반응하게 될 때 활성화제 수용체에 의해 활성화될 수 있다. "표적 항원"은 또한 "활성화제 항원"으로 지칭될 수 있고 표적 세포에 의해 단리되거나 발현될 수 있다. 억제 수용체를 발현하는 면역 세포의 활성화는 활성화제 수용체가 표적 활성화제 리간드에 결합된 경우에도 억제 수용체가 비-표적 항원(예를 들어, HLA-A*02)에 반응하게 될 때 예방될 수 있다. "비-표적 항원"은 또한 "억제 리간드" 또는 "차단제"로 지칭될 수 있고, 표적 세포에 의해 단리되거나 발현될 수 있다.

[0082] 면역 세포 상의 수용체 발현은 본원에 기재된 활성화제 수용체 및 억제 수용체의 존재를 보고하는 검정에 의해 확인될 수 있다. 예를 들어, 면역 세포 집단은 표지된 분자(예를 들어, 형광단 표지된 수용체-특이적 항체 또는 형광단 표지된 수용체-특이적 리간드)로 염색될 수 있고, 형광 활성화 세포 분류(FACS) 유세포 분석을 사용하여 정량화될 수 있다. 이 방법은 활성화제 수용체, 억제 수용체, 또는 수용체 모두를 발현하는 것을 특징으로 하는 면역 세포의 집단에서 면역 세포의 백분율을 허용한다. 본원에 기재된 면역 세포에 의해 발현되는 활성화제 수용체 및 억제 수용체의 비율은 예를 들어, 디지털 액적 PCR에 의해 결정될 수 있다. 이들 접근법은 본원에 기재된 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트의 생산 및 제조를 위한 세포 집단을 특징화하는 데 사용될 수 있다. 본원에 기재된 면역 세포, 약제학적 조성물 및 키트의 경우, 활성화제 수용체 및 억제 수용체 둘 모두를 발현하는 면역 세포의 적합한 백분율은 본원에 기재된 방법에 대해 구체적으로 결정되는 것으로 이해된다. 예를 들어, 활성화제 수용체 및 억제 수용체 둘 모두를 발현하는 면역 세포의 적합한 백분율은 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%일 수 있다. 추가적인 예로서, 면역 세포의 50% 내지 99%, 60% 내지 95%, 65% 내지 95%, 65% 내지 90%, 70% 내지 90%, 75% 내지 90%, 75% 내지 85%, 80% 내지 99%, 85% 내지 99%, 90% 내지 99% 또는 95% 내지 99%가 활성화제 수용체 및 억제 수용체 둘 모두를 발현할 수 있다. 예를 들어, 면역 세포에서 활성화제 수용체 및 억제 수용체의 적합한 비율은 약 5:1, 약 4:1, 약 3:1, 약 2:1, 약 1:1, 약 1:2, 약 1:3, 약 1:4, 또는 약 1:5일 수 있다. 본원에 기재된 면역 세포, 약제학적 조성물 및 키트에 대한 적합한 값을 충족시키기 위해 면역 세포 집단에 정제, 농축 및/또는 고갈 단계를 사용할 수 있음을 이해한다.

[0083] 본원에 기재된 면역 세포에 의해 발현되는 반응성 수용체는 수용체의 세포 내 도메인에 의해 생성될 것으로 예상되는 신호의 생성을 측정하는 검정에 의해 검증될 수 있다. 저캇-루시퍼라제 NFAT 세포(저캇 세포)와 같은 리포터 세포주는 반응성 수용체를 특성화하는 데 사용할 수 있다. 저캇 세포는 T 세포로부터 유래되고 활성화된 T의 안정적으로 통합된 핵 인자(NFAT)-유도성 루시퍼라제 리포터 시스템을 포함한다. NFAT는 면역 세포 활성화에 필요한 전사 인자 계열이며, 이의 활성화는 T 세포 활성화에 대한 신호전달 마커로 사용될 수 있다. 저캇 세포는 본원에 기재된 활성화제 수용체 및/또는 억제 수용체로 형질도입되거나 형질감염될 수 있다. 활성화제 수용체는 저캇 세포가 루시퍼라제 리포터 유전자를 발현하는 경우 리간드의 결합에 반응하며, 반응성 수준은 리포터 유전자 발현 수준에 의해 결정될 수 있다. 루시퍼라제의 존재는 루시페린과 같은 임의의 공지된 루시퍼라제 검출 시약을 사용하여 결정할 수 있다. 억제 수용체는 저캇 세포에서 활성화제 수용체와 함께 발현될 때, 정상적으로 반응하는 면역 세포가 활성제 수용체에 대한 반응으로 루시퍼라제를 발현하는 것을 방지하는 경우 리간드의 결합에 반응한다. 예를 들어, 억제 수용체의 반응성은 다음을 관찰함으로써 활성제 및 억제제 둘 모두를 발현하는 저캇 세포에서 결정되고 정량화될 수 있다: 1) 저캇 세포는 활성화제 수용체 리간드의 존재 및 억제 수용체 리간드의 부재 하에 루시퍼라제를 발현한다; 및 2) 저캇 세포에서 루시퍼라제 발현은 활성화제 수용체 리간드 및 억제 수용체 리간드 둘 다의 존재 하에 감소되거나 제거된다. 이 접근법은 활성화제 수용체 및 활성화제 수용체와 억제 수용체의 특정 쌍의 민감도, 효능 및 선택성을 결정하는 데 사용할 수 있다. 민감도, 효능 및 선택성은 활성화제 수용체 리간드 및/또는 억제 수용체 리간드가 활성화제 수용체 또는 활성화제와 억제 수용체의 특정 쌍을 발현하는 저캇 세포의 배양물로 적정되는, 용량 반응 실험을 사용하여 EC50 또는 IC50 값으로 정량화될 수 있다. 대안적으로, EC50 및 IC50 값은 활성화제 수용체 또는 활성화제와 억제 수용체의 특정 쌍을 발현하는 면역 세포 (예를 들어 저캇 세포 또는 1차 면역 세포) 및 증가하는 양의 활성화제 리간드 또는 억제제 리간드를 발현하는 표적 세포의 공동 배양물에서 결정될 수 있다. 증가하는 양의 활성화제 리간드 또는 억제제

리간드는 예를 들어, mRNA를 표적 세포로 암호화하는 활성화제 리간드 또는 억제제 리간드의 적정, 또는 상이한 수준의 표적 리간드를 자연적으로 발현하는 표적 세포의 사용에 의해 표적 세포에서 달성될 수 있다. 다양한 양의 표적 및 비-표적 리간드를 발현하는 표적 세포를 사용하여 결정된 활성화제 및 억제 수용체에 대한 예시적인 적합한 EC50 및 IC50 값은 활성화제 수용체에 대해 10 TPM(백만개당 전사체) 이하의 EC50, 예를 들어 1-10 TPM의 EC50, 및 억제 수용체에 대해 25 TPM 이하의 IC50, 예를 들어 5-21 TPM의 IC50를 포함한다.

[0084] 활성화제 수용체 또는 활성화제와 억제 수용체의 특정 쌍을 발현하는 본원에 기재된 면역 세포의 활성화는 상기 면역 세포와의 공동 인큐베이션 후 표적 세포의 생존력을 측정하는 검정에 의해 추가로 결정될 수 있다. 때때로 이펙터 세포로 지칭되는, 면역 세포는 활성화제 수용체 리간드, 억제 수용체 리간드, 또는 활성화제 및 억제 수용체 리간드를 모두 발현하는 표적 세포와 공동 인큐베이션된다. 공동 인큐베이션 후, 표적 세포의 생존력은 세포 배양물에서 생존력을 측정하기 위한 임의의 방법을 사용하여 측정한다. 예를 들어, 활성 미토콘드리아 효소를 측정하기 위해 테트라졸륨 염 기질을 사용하는 미토콘드리아 기능 분석을 사용하여 생존력을 결정할 수 있다. 생존력은 영상화 기반 방법을 사용하여 결정할 수도 있다. 표적 세포는 녹색 형광 단백질 또는 적색 형광 단백질과 같은 형광 단백질을 발현할 수 있다. 전체 세포 형광의 감소는 표적 세포의 생존력 감소를 나타낸다. 활성화제 수용체 또는 활성화제와 억제 수용체의 특정 쌍을 발현하는 면역 세포와의 배양 후 표적 세포의 생존력 감소는 면역 세포의 표적 세포-매개 활성화로 해석된다. 면역 세포의 선택성의 척도는 또한 이 접근법을 사용하여 결정될 수 있다. 활성화제와 억제 수용체 쌍을 발현하는 면역 세포는 다음이 관찰되는 경우 선택적이다: 1) 활성화제 수용체 리간드를 발현하지만 억제 수용체 리간드를 발현하지 않는 표적 세포에서 생존력이 감소된다; 2) 활성화제 수용체 리간드 및 억제 수용체 리간드를 모두 발현하는 표적 세포에서 생존력이 감소하지 않는다. 이들 측정으로부터, 음성 대조군(활성화제 수용체를 발현하지 않는 면역 세포)의 백분율로서 표적 세포의 생존력 감소에 기반하여 면역 세포 활성화의 백분율을 정량화하는 "특이적 사멸" 값이 도출될 수 있다. 추가로, 이러한 측정으로부터 억제 수용체 리간드의 부재 하에 활성화제 수용체 리간드를 발현하는 표적 세포에서 관찰된 특이적 사멸 대 활성화제 수용체 리간드 및 억제 수용체 리간드를 모두 발현하는 표적 세포에서 관찰된 특이적 사멸의 비율을 나타내는 "선택성 비율" 값이 도출될 수 있다. 이 접근법은 본원에 기재된 면역 세포, 약제학적 조성물 및 키트의 생산 및 제조를 위한 세포 집단을 특징화하는 데 사용될 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물 및 키트에 대한 적합한 특정 사멸 값은 예를 들어 다음 기준일 수 있다: 1) 억제 수용체 리간드의 부재 하에 활성화제 수용체 리간드를 발현하는 표적 세포 및 면역 세포의 48시간 공동 인큐베이션 후 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 특이적 사멸; 및 2) 활성화제 수용체 리간드 및 억제 수용체 리간드 둘 모두를 발현하는 표적 세포의 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 3% 이하 또는 1% 이하의 특이적 사멸.

[0085] 추가 예로서, 면역 세포, 약제학적 조성물 및 키트에 대한 적합한 특이적 사멸 값은 다음 기준일 수 있다: 1) 활성화제 리간드를 발현하지만 억제제 리간드를 발현하지 않는 표적 세포의 30% 내지 99%, 40% 내지 99%, 50% 내지 99%, 55% 내지 95%, 60% 내지 95%, 60% 내지 90%, 50% 내지 80%, 50% 내지 70% 또는 50% 내지 60%가 사멸되고; 2) 활성화제 리간드 및 억제제 리간드를 발현하는 표적 세포의 1% 내지 40%, 3% 내지 40%, 5% 내지 40%, 5% 내지 30%, 10% 내지 30%, 15% 내지 30% 또는 5% 내지 20%가 사멸된다. 추가의 예로서, 면역 세포, 약제학적 조성물 및 키트에 대해 적합한 특이적 사멸 값은 예를 들어 다음 기준일 수 있다: 1) 면역 세포와 억제 수용체 리간드의 부재 하에 활성화제 수용체 리간드를 발현하는 표적 세포의 48시간 공동 인큐베이션 후 적어도 50% 특이적 사멸; 및 2) 활성화제 수용체 리간드 및 억제 수용체 리간드를 모두 발현하는 표적 세포의 20% 이하의 특이적 사멸. 추가 예로서, 면역 세포가 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 30시간, 36시간, 42시간, 48시간, 54시간, 또는 60시간의 기간에 걸쳐 활성화제 리간드를 발현하지만 억제제 리간드를 발현하지 않는 표적 세포의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99%를 사멸시킬 수 있는 동안, 동일한 기간에 걸쳐 활성화제 및 억제제 리간드를 발현하는 표적 세포의 40% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 3% 미만 또는 1% 미만을 사멸시킨다.

[0086] 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대한 억제 리간드 값의 부재 하에 활성화제 리간드를 발현하는 표적 세포의 적합한 특이적 사멸 값은 예를 들어, 적어도 약 50% 내지 적어도 약 95%일 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대한 억제 리간드 값의 부재 하에 활성화제 리간드를 발현하는 표적 세포의 적합한 특이적 사멸 값은 예를 들어, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95%일 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대한 억제 리간드 값의 부재 하에 활성화제 리간드를 발현하는 표적 세포의 적합한 특이적 사멸 값은 예를 들어, 최대 약 50%, 최대 약 55%, 최대 약 60%, 최대 약 65%, 최대 약 70%, 최대 약 75%, 최대 약 80%, 최대 약 85%, 최대 약 90%, 또는 최대 약 95%일 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대한

활성화제 수용체 리간드 및 억제 수용체 리간드를 모두 발현하는 표적 세포의 적합한 특이적 사멸 값은 약 50% 미만, 약 45% 미만, 약 40% 미만, 약 35% 미만, 약 30% 미만, 약 25% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 또는 약 5% 미만일 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대해 적합한 특이적 사멸 값은 표적 세포와 면역 세포의 약 6시간, 약 12시간, 약 18시간, 약 24시간, 약 30시간, 약 36시간, 약 42시간, 약 48시간, 약 54시간, 약 60시간, 약 66시간, 또는 약 72시간 공동 인큐베이션 후 결정될 수 있다.

[0087] 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대한 억제 리간드 값의 부재 하에 활성화제 리간드를 발현하는 표적 세포의 적합한 특이적 사멸 값은 예를 들어, 적어도 약 50% 내지 적어도 약 95%일 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대한 억제 리간드 값의 부재 하에 활성화제 리간드를 발현하는 표적 세포의 적합한 특이적 사멸 값은 예를 들어, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95%일 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대한 억제 리간드 값의 부재 하에 활성화제 리간드를 발현하는 표적 세포의 적합한 특이적 사멸 값은 예를 들어, 최대 약 50%, 최대 약 55%, 최대 약 60%, 최대 약 65%, 최대 약 70%, 최대 약 75%, 최대 약 80%, 최대 약 85%, 최대 약 90%, 또는 최대 약 95%일 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대한 활성화제 수용체 리간드 및 억제 수용체 리간드를 모두 발현하는 표적 세포의 적합한 특이적 사멸 값은 약 50% 미만, 약 45% 미만, 약 40% 미만, 약 35% 미만, 약 30% 미만, 약 25% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 또는 약 5% 미만일 수 있다. 면역 세포, 약제학적 조성물, 및 키트에 대해 적합한 특이적 사멸 값은 표적 세포와 면역 세포의 약 6시간, 약 12시간, 약 18시간, 약 24, 약 30시간, 약 36시간, 약 42시간, 약 48시간, 약 54시간, 약 60시간, 약 66시간, 또는 약 72시간 공동 인큐베이션 후 결정될 수 있다.

[0088] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "기능적 변이체"는 모 단백질과 비교하여 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖고, 모 단백질의 하나 이상의 원하는 활성을 유지하는 단백질을 지칭한다. 기능적 변이체는 모 단백질의 하나 이상의 원하는 활성을 유지하는 단백질의 단편(즉, N- 및/또는 C-말단 결실을 갖는 변이체)일 수 있다.

[0089] 본원에 언급된 모든 간행물 및 특허는 각각의 개별 간행물 또는 특허가 구체적이고 개별적으로 참고로 포함되는 것으로 표시되는 것처럼 전체적으로 참조로 포함된다. 상충하는 경우, 본원의 모든 정의를 포함하여 본 출원이 우선한다. 그러나, 본원에 인용된 모든 참조, 기사, 간행물, 특허, 특허 공개 및 특허 출원에 대한 언급은 그들이 유효한 선행 기술을 구성하거나 세계 어느 국가에서나 일반적인 공통 지식의 일부를 형성한다는 것에 대한 인정 또는 어떤 형태의 제안으로 간주해서는 안 된다.

[0090] ***활성화제 수용체***

[0091] 본 개시내용은 암세포 특이적 항원, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원을 포함하는 표적 항원에 특이적인 제1 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 수용체를 제공한다. 제1 수용체는 활성화제 수용체이고, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인에 의한 표적 항원 결합 시 제1 수용체를 발현하는 면역 세포의 활성화를 매개한다. 제1 수용체는 표적 항원(즉, 활성화제 리간드)에 반응성이다. 예를 들어, 표적 항원이 제1 수용체에 결합하거나 접촉할 때, 제1 수용체는 반응하고 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인에 의한 표적 항원의 결합 시 제1 수용체를 발현하는 면역 세포를 활성화한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 T 세포 수용체(TCR)이다.

[0092] 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 인간화된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "인간화"는 비-인간 종으로부터 단리되거나 유도된 이식유전자 내의 서열 또는 부분서열을 상동적이거나 기능적으로 동등한 인간 서열로 대체하는 것을 지칭한다. 예를 들어, 인간화 항체는 마우스 CDR을 인간 프레임워크 서열에 이식한 다음, 특정 인간 프레임워크 잔기를 공급원 항체의 해당 마우스 잔기로 역치환하여 생성할 수 있다.

[0093] 활성화제 표적

[0094] 일부 실시양태에서, 제1 수용체에 대한 표적 항원은 암세포 특이적 항원이다. 표적 암 세포에 의해 발현되는 임의의 세포 표면 분자는 제1 수용체 리간드 결합 도메인에 대한 적합한 표적 항원일 수 있다. 예를 들어, 세포 부착 분자, 세포-세포 신호전달 분자, 세포외 도메인, 화학 주성에 수반되는 분자, 당단백질, G 단백질-결합 수용체, 막관통, 신경전달물질용 수용체 또는 전압 개폐 이온 채널은 표적 항원으로 사용될 수 있다.

[0095] 일부 실시양태에서, 표적 항원은 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 암세포 특이적 항원의 펩티드 항원이다. 표적 암 세포에 의해 발현되고 암 세포 표면 상에서 주요 조직 적합성 복합체 클래스

I(MHC-I)에 의해 펩티드 항원(pMHC)으로 제시되는 임의의 분자는 제1 수용체 세포외 리간드 결합 도메인에 대한 적합한 표적 항원일 수 있다.

[0096] 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 메소텔린(MSLN), 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)와 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원이다.

[0097] 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)은 면역 체계의 세포에 항원을 표시하여 면역 반응을 유발하는 단백질 복합체이다. MHC-I에 해당하는 인간 백혈구 항원(HLA)은 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C이다.

[0098] HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F 또는 HLA-G 중 어느 하나를 포함하는 암세포 특이적 pMHC 항원은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 HLA-A를 포함한다. HLA-A 수용체는 α 중쇄와 더 작은 β 사슬을 포함하는 이종이량체이다. α 사슬은 HLA-A의 변이체에 의해 암호화되는 반면, β 사슬(β2-마이크로글로불린)은 불변이다. 수천 개의 변이 HLA-A 유전자가 있으며, 이들 모두는 본 개시내용의 범위 내에 속한다. 일부 실시양태에서, MHC-I는 인간 백혈구 항원 A*02 대립유전자(HLA-A*02)를 포함한다.

[0099] 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 HLA-B를 포함한다. HLA-B 유전자의 수백 가지 버전(대립유전자)이 알려져 있으며, 각 버전에는 특정 번호가 부여된다(예를 들어, HLA-B*27).

[0100] 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 HLA-C를 포함한다. HLA-C는 HLA 클래스 I 중쇄 파라로그에 속한다. 이 클래스 I 분자는 중쇄 및 경쇄(베타-2 마이크로글로불린)로 이루어진 이종이량체이다. 100개가 넘는 HLA-C 대립유전자가 당업계에 알려져 있다.

[0101] 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 난소암 항원, 췌장암 항원, 폐암 항원, 결장직장암 항원 또는 중피종 항원이다. 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 결장직장암 항원이다. 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 MSLN 또는 이의 펩티드 항원이다.

[0102] 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 MSLN, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)와 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원이다. MSLN은 중피 세포뿐만 아니라 폐, 나팔관, 침샘 및 지방 조직에서 정상적으로 발현되는 40 KDa 단백질이다(도 2). MSLN은 중피종암, 난소암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 두경부암, 신장암, 자궁암, 위암, 췌장암, 폐암, 결장직장암 또는 담관암종을 포함하는 여러 인간 종양 유형에서 발현된다. 일부 실시양태에서, 암은 대상체에서 재발하였다. 일부 실시양태에서, 암은 이전에 투여된 하나 이상의 항암 요법에 불응성이다. 일부 실시양태에서, 암은 전이성이다.

[0103] MSLN의 모든 이소형(isoform)은 본 개시내용의 암세포 특이적 항원으로 생각된다. MSLN 이소형 1 전구단백질(preprotein)은 NCBI 기록 번호 NP_005814.2에 기재되어 있으며, 그 내용은 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, MSLN은 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0104] 1 MALPTARPLL GSCGTPALGS LLFLLFSLGW VQPSRTLAGE TGQEAAPLDG VLANPPNISS

[0105] 61 LSPRQLLGFP CAEVSGLSTE RVRELAVALA QKNVKLSTEQ LRCLAHRLSE PPEDLDALPL

[0106] 121 DLLLFLNPDA FSGPQACTRF FSRITKANVD LLPRGAPERQ RLLPAALACW GVRGSLLSEA

[0107] 181 DVRALGGLAC DLPGRFVAES AEVLLPRLVS CPGPLDQDQQ EAARAALQGG GPPYGPPSTW

[0108] 241 SVSTMDALRG LLPVLGQPII RSIPQGIVAA WRQRSSRDPS WRQPERTILR PRFRREVEKT

[0109] 301 ACPSGKKARE IDESLIFYKK WELEACVDAA LLATQMDRVN AIPFTYEQLD VLKHKLDELY

[0110] 361 PQGYPESVIQ HLGYLFLKMS PEDIRKWNVT SLETLKALLE VNKGHEMSPQ VATLIDRFVK

[0111] 421 GRGQLDKDTL DTLTAFYPGY LCSLSPEELS SVPPSSIWAV RPQDLDTCDP RQLDVLYPKA

[0112] 481 RLAFQNMNGS EYFVKIQSFL GGAPTEDLKA LSQQNVSMDL ATFMKLRTDA VLPLTVAEVQ

[0113] 541 KLLGPHVEGL KAEERHRPVR DWILRQRQDD LDTLGLGLQG GIPNGYLVLD LSMQEALSGT

[0114] 601 PCLLGPGPVL TVLALLLAST LA (서열번호: 1).

[0115] 일부 실시양태에서, MSLN은 서열번호: 1과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어

도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함한다.

[0116] MSLN 이소형 2 전구단백질은 NCBI 기록 번호 NP_037536.2에 기재되어 있으며, 그 내용은 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, MSLN은 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0117] 1 MALPTARPLL GSCGTPALGS LLFLLFSLGW VQPSRTLAGE TGQEAAPLDG VLANPPNISS

[0118] 61 LSPRQLLGFP CAEVSGLSTE RVRELAVALA QKNVKLSTEQ LRCLAHRLSE PPEDLDALPL

[0119] 121 DLLLFLNPDA FSGPQACTRF FSRITKANVD LLPRGAPERQ RLLPAALACW GVRGSLLSEA

[0120] 181 DVRALGGLAC DLPGRFVAES AEVLLPRLVS CPGPLDQDQQ EAARAALQGG GPPYGPPSTW

[0121] 241 SVSTMDALRG LLPVLGQPII RSIPQGIVAA WRQRSSRDPS WRQPERTILR PRFRREVEKT

[0122] 301 ACPSGKKARE IDESLIFYKK WELEACVDAA LLATQMDRVN AIPFTYEQLD VLKHKLDELY

[0123] 361 PQGYPESVIQ HLGYLFLKMS PEDIRKWNVT SLETLKALLE VNKGHEMSPQ APRRPLPQVA

[0124] 421 TLIDRFVKGR GQLDKDTLDT LTAFYPGYLC SLSPEELSSV PPSSIWAVRP QDLDTCDPRQ

[0125] 481 LDVLYPKARL AFQNMNGSEY FVKIQSFLGG APTEDLKALS QQNVSMDLAT FMKLRTDAVL

[0126] 541 PLTVAEVQKL LGPHVEGLKA EERHRPVRDW ILRQRQDDLD TLGLGLQGGI PNGYLVLDLS

[0127] 601 MQEALSGTPC LLGPGPVLTV LALLLASTLA (서열번호: 2).

[0128] 일부 실시양태에서, MSLN은 서열번호: 2와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함한다.

[0129] 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 MSLN에서 유래된 펩티드 항원이다. 일부 실시양태에서, 펩티드 항원은 서열번호: 1 및/또는 서열번호: 2의 부분서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 항원은 서열번호: 1 및/또는 서열번호: 2의 부분서열과 동일한 서열을 포함한다.

[0130] 세포외 리간드 결합 도메인

[0131] 본 개시내용은 표적 항원에 특이적인 제1 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 수용체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 암세포 특이적 항원을 포함한다.

[0132] 일부 실시양태에서, 암세포 특이적 항원은 MSLN 또는 MHC-I와 복합체화된 MSLN-유래 펩티드 항원이고, 제1 수용체의 리간드 결합 도메인은 MSLN 항원을 인식하고 결합한다.

[0133] 리간드 의존적 방식으로 수용체의 활성을 조절할 수 있는 임의의 유형의 리간드 결합 도메인은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 생각된다. 일부 실시양태에서, 리간드 결합 도메인은 항원 결합 도메인이다. 예시적인 항원 결합 도메인은 특히, scFv, SdAb, Vβ-단독 도메인, 및 TCR α 및 β 사슬 가변 도메인으로부터 유도된 TCR 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0134] 임의의 유형의 항원 결합 도메인은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 생각된다.

[0135] 예를 들어, 제1 세포외 리간드 결합 도메인은 예를 들어, 마우스, 인간화 또는 인간 항체로부터 유래된 Vβ 단독 도메인, 단일 도메인 항체 단편(sdAb) 또는 중쇄 항체 HCAb, 단일 사슬 항체(scFv)를 포함하는 연속 폴리펩티드 사슬의 일부일 수 있다(Harlow 등, 1999, Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y.; Harlow 등, 1989, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, N.Y.; Houston 등, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird 등, 1988, Science 242:423-426). 일부 양태에서, 제1 세포외 리간드 결합 도메인은 항체 단편을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 추가 양태에서, 제1 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv 또는 sdAb를 포함하는 항체 단편을 포함한다.

[0136] 본원에서 사용되는 바와 같이 용어 "항체"는 항원에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자로부터 유래된 단백질 또는 폴리펩티드 서열을 지칭한다. 항체는 폴리클로날 또는 모노클로날 기원의 온전한 면역글로불린, 또는 이의 단편일 수 있고 천연 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다.

[0137] 용어 "항체 단편" 또는 "항체 결합 도메인"은 항원 결합 도메인, 즉, 항원 및 이의 정의된 에피토프와 같은 표적에 대한 항체 단편의 인식 및 특이적 결합을 부여하기에 충분한 온전한 항체의 항원성 결정 가변 영역을 함유

하는 항체, 또는 이의 재조합 변이체의 적어도 하나의 부분을 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')2, 및 Fv 단편, 단일 사슬(sc)Fv("scFv") 항체 단편, 선형 항체, 단일 도메인 항체(약칭 "sdAb")(VL 또는 VH), 낙타류 VHH 도메인, 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0138] 용어 "scFv"는 경쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 하나의 항체 단편 및 중쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 하나의 항체 단편을 포함하는 융합 단백질을 지칭하고, 여기서 경쇄 및 중쇄 가변 영역은 짧고 유연한 폴리펩티드 링커를 통해 연속적으로 연결되고, 단일 폴리펩티드 사슬로 발현될 수 있으며, 여기서 scFv는 그것이 유래된 온전한 항체의 특이성을 유지한다.

[0139] 항체와 관련하여 "중쇄 가변 영역" 또는 "VH"(또는 단일 도메인 항체의 경우, 예를 들어, 나노바디, "VHH")는 프레임워크 영역으로 알려진 측면 스트레치 사이에 개재된 3개의 CDR을 포함하는 중쇄의 단편을 지칭하고, 이러한 프레임워크 영역은 일반적으로 CDR보다 더 많이 보존되며 CDR을 지지하는 스캐폴드를 형성한다.

[0140] 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이 scFv는 예를 들어, 폴리펩티드의 N-말단 및 C-말단 단부와 관련하여, 어느 순서로든 VL 및 VH 가변 영역을 가질 수 있으며, scFv는 VL-링커-VH를 포함하거나 VH-링커-VL을 포함할 수 있다.

[0141] 일부 실시양태에서, 활성화제 및/또는 억제 수용체의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 링커에 의해 연결된 VL 및 VH 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 글리신 세린 링커, 예를 들어 GGGGSGGGGSGGGGSGG(서열번호: 152)를 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 scFv의 N 말단에서 신호 서열을 추가로 포함한다. 예시적인 신호 서열은 MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC(서열번호: 362)를 포함하고, 이는 ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTACTCTGGCTCCGAGGTGCCAGATGT(서열번호: 153)에 의해 암호화된다.

[0142] 용어 "항체 경쇄"는 항체 분자에 자연적으로 발생하는 형태로 존재하는 두 가지 유형의 폴리펩티드 사슬 중 더 작은 것을 지칭한다. 카파("K") 및 람다("λ") 경쇄는 2개의 주요 항체 경쇄 아이소타입을 지칭한다.

[0143] 용어 "재조합 항체"는 예를 들어, 박테리오파지 또는 효모 발현 시스템에 의해 발현된 항체와 같은 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성된 항체를 지칭한다. 용어는 또한, 항체를 암호화하는 DNA 분자의 합성에 의해 생성되고 DNA 분자가 항체 단백질을 발현하는 항체 또는 항체를 지정하는 아미노산 서열을 의미하는 것으로 해석되어야 하며, 여기서 DNA 또는 아미노산 서열은 이용 가능하고 당업계에 잘 알려진 재조합 DNA 또는 아미노산 서열 기술을 사용하여 수득된다.

[0144] 용어 "Vβ 도메인", "Vβ-단독 도메인", "β 사슬 가변 도메인" 또는 "단일 가변 도메인 TCR(svd-TCR)"은 제2 TCR 가변 도메인이 없이 항원에 특이적으로 결합하는 단일 T 세포 수용체(TCR) 베타 가변 도메인으로 본질적으로 이루어진 항원 결합 도메인을 지칭한다. Vβ-단독 도메인은 상보성 결정 영역(CDR)을 사용하여 항원과 결합한다. 각각의 Vβ-단독 도메인은 3개의 상보성 결정 영역(CDR1, CDR2, 및 CDR3)을 함유한다. 추가 요소는 Vβ 도메인이 제2 TCR 가변 도메인 없이 에피토프에 결합하도록 구성된다면 조합될 수 있다.

[0145] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 항체 단편, 단일 사슬 Fv 항체 단편(scFv), 또는 β 사슬 가변 도메인(Vβ)을 포함한다.

[0146] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 TCR α 사슬 가변 도메인 및 TCR β 사슬 가변 도메인을 포함한다.

[0147] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv 항원 결합 도메인을 포함한다. 예시적인 MSLN scFv는 하기 표 1에 나타낸다.

[0148] 표 1 : 예시적인 MSLN scFv 도메인

	단백질 서열	DNA 서열
M5	QVQLVQSGAEV EKPGASVKVSCK ASGYTFTDYYM HWVRQAPGQGL EWMGWINPNSG GTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTA YMELSRLRSDDT AVYYCASGWDF DYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGDIVM TQSSSLSASVGD RVTITCRASQSIR YYLSWYQQKPG KAPKLLIYTASIL QNGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCLQT YTTPDFGPGTKV EIK (서열번호: 3)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGA GAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACCGACTACTATATGCACT GGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGG ATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAAA CTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGA CCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAG CTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTA TTACTGTGCGTCTGGCTGGGACTTTGACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAG GTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGG AAGCGGAGGCGACATCGTGATGACCCAGTCTTCCT CCCTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCCAGTCAGAGCATTAGGTACTATTTAA GTTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATACTGCATCCATTTTACAAAATGGG GTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGAC AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAACCTGA GGATTTTGCAACTTATTACTGCCTCCAGACTTACAC TACTCCGGACTTTGGCCCAGGGACCAAGGTGGAAA TCAAA (서열번호: 363)
M14	QVQLVQSGAEV RAPGASVKISCK ASGFTFRGYYIH WVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSR AYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVY MELSSLRSDDTA MYYCARTASCG GDCYYLDYWGQ GTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPPT LSASVGDRVTIT CRASENVNIWLA WYQQKPGKAPK LLIYKSSSLASGV PSRFSGSGSGAEF TLTISSLQPDDFA TYYCQQYQSYPL TFGGGTKVEIK (서열번호 4)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAG GGCACCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCCTGCAAGG CTTCTGGATTCACCTTCAGAGGCTACTATATCCACT GGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGG ATGGGAATCATCAACCCTAGTGGTGGTAGCAGAGC CTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGGGTCACCATGA CCAGGGACACTTCCACGAGCACAGTCTACATGGAG CTGAGCAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCATGTA TTACTGTGCGAGAACCGCAAGTTGTGGTGGTGACTG CTACTACCTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT CACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATC CAGATGACCCAGTCTCCTCCCACCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAG TGAGAATGTTAATATCTGGTTGGCCTGGTATCAGCA GAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATA AGTCATCCAGTTTAGCAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGGCAGAATTCACTCTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTT ATTACTGCCAACAGTATCAAAGTTACCCCCTCACTT TCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (서열번호: 364)

[0149]

S5H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYTMNWVRQAPGQRLEWMGLITPYNGASSYNQKFRGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMHWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSGYPLTFGQGTKLEIK (서열번호: 5)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCTTCTGGATACTCATTCACCGGCTACACCATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGACAAAGACTTGAGTGGATGGGACTTATCACCCCTTACAATGGTGCTTCTAGCTACAACCAGAAGTTCAGGGGCAGGGTCACAATCACTAGAGACACGTCAGCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCTCCAGCCTGAGATCTGAAGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGGGGGGGGTTACGACGGGAGGGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCACGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCAAGCTTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGGGTCACCATCACTTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTATCAGCAGAAACCAGGCAAGGCCCCTAAGAGATTGATCTATGACACATCCAAATTAGCAAGTGGGGTCCCAAGTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCGAATTCACTCTCACCATCAGCAGCTTGCAGCCTGAGGATTTTGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTGGTTACCCTCTCACGTTCGGTCAGGGGACAAAGTTGGAAATCAAA (서열번호: 365)
S5M	QVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSGYPLTFGAGTKLEIK (서열번호: 6)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCCTGCAAGGCTTCTGGATACTCATTCACCGGCTACACCATGAACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAAAGCCTTGAGTGGATTGGACTTATCACCCCTTACAATGGTGCTTCTAGCTACAACCAGAAGTTCAGGGGCAAGGCCACATTAACTGTAGACAAGTCATCCAGCACAGCCTACATGGACCTCCTCAGCCTGACATCTGAAGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAAGGGGGGGGTTACGACGGGAGGGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCACGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCGAGCTCACCCAGTCTCCTGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGAGAGAAAGGTCACCATGACTTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTATCAGCAGAAATCAGGCACCTCCCCTAAGAGATGGATCTATGACACATCCAAATTGGCAAGTGGGGTCCCAGGTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGAACTCTTACTCTCTCACCATCAGCAGCGTGGAGGCTGAGGATGATGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTGGTTACCCTCTCACGTTCGGTGCTGGGACAAAGTTGGAAATCAAA (서열번호: 366)

[0150]

[0151]

SS1	QVQLQQSGPELE KPGASVKISCKA SGYSFTGYTMN WVKQSHGKSLE WIGLITPYNGAS SYNQKFRGKATL TVDKSSSTAYM DLLSLTSEDSAV YFCARGGYDGR GFDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIELT QSPAIMSASPGE KVTMTCSASSSV SYMHWYQQKSG TSPKRWIYDTSK LASGVPGRFSGS GSGNSYSLTISSV EAEDDATYYCQ QWSGYPLTFGA GTKLEI (서열번호: 80	ND
1	EVQLVESGGGLV KPGGSLRLSCAA SGFTFSNAWMS WVRQAPGKGLE WVGRIKSKTDG GTTDYAAPVKG RFTISRDDSKNTL YLQMNSLKTED TAVYYCTTDLPK LRNFHIWGQGTL VTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSAS VGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYC QQSYSTPLTFGG GTKVEIK (서열번호: 154)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCTCGAACGCCTGGATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTCGGACGGATCAAGAGCAAGACCGACGGCGGCAC CACCGACTACGCTGCCCCCGTGAAGGGCCGGTTCA CCATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACCGC CGTGTATTACTGTACCACAGATCTTCCTAAGCTTAG GAATTTTCATATTTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC CGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAG GATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAG ATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTA GGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGA AACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT GCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTAC TACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTC GGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 367)
2	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLE	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGCACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATAC

[0152]

	YVSAISSNGGST YYANSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQ MGSLRAEDMAV YYCASLEYHGFR QYGLRYWHWG QGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPS SLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPED FATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEI K (서열번호: 155)	GTGTCCGCCATCAGCTCGAACGGCGGCAGCACCTA CTACGCCAACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGGGCAGCCTGCGGGCCGAGGATATGGCCGTGTA TTACTGTGCGAGCCTAGAATACCATGGCTTTCGACA ATATGGGCTTCGTTATTGGCATTGGGGCCAGGGAAC CCTGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCG GAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGG CGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGT ATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTG ATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC ACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTT GCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT CTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAA G (서열번호: 368)
3	QLQLQESGSGLV KPSQTLSLTCAV SGGSISSGGYSW SWIRQPPGKGLE WIGYIYHSGSTY YNPSLKSRVTISV DRSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CASIKFWFAGIN YFFPWGQGTLVT VSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 156)	CAGCTGCAGCTCCAGGAAAGCGGCAGCGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTGCCG TGTCCGGCGGCAGCATCAGCAGCGGCGGCTACAGC TGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTACATCTACCACAGCGGCTCGA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACC ATCAGCGTGGACAGAAGCAAGAACCAGTTCAGCCT GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTG TGTATTACTGTGCCAGCATAAAATTCTGGTTTGCGG GGATTAATTATTTTTTTCCGTGGGGCCAGGGAACCC TGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCG ACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTG CATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGAT CTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC AAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTG CAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTC TCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 369)
4	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYWMH WVRQAPGKGLV WVSRINSDGSST SYADSVKGRFTI SRDNAKNTLYL QMNSLRAEDTA	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGTCTGG GTGTCTCGAATCAACAGCGACGGCAGCAGCACCAG CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA

[0153]

	VYYCASGFLGM GSNFIWGQGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 157)	TTACTGTGCAAGCGGATTTTTGGGAATGGGCTCGAA TTTTATTTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACC CAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC AGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCAT TAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCA GTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGC AGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC AGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGT CAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGC GGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 370)
5	QVQLQESGPGLV KPSQTLSLTCTV SGGSISSGGYYW SWIRQHPGKGLE WIGYIYYSGSTY YNPSLKSLVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CASGDRARYFDL WGRGTLVTVSS GGGGSGGGGSG GGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQSIS SYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 158)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCAGCATCAGCAGCGGCGGCTACTAC TGGTCCTGGATCAGACAGCACCCCGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCCTGGTGACAA TCTCCGTCGATACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGA AGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGTG TATTACTGTGCAAGCGGGGACAGGGCACGGTACTT CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACC CAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC AGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCAT TAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCA GTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGC AGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC AGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGT CAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGC GGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 371)
6	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYWMH WVRQAPGKGLV WVSRINSDGSST SYADSVKGRFTI SRDNAKNTLYL QMNSLRAEDTA VYYCARYPRGY HQMVDAFDIWG QGTMVTVSSGG GGSGGGGSGGG GSGGDIQMTQSP	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGTCTGG GTGTCTCGAATCAACAGCGACGGCAGCAGCACCAG CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA TTACTGTGCAAGATATCCACGTGGATATCATCAGAT GGTTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAG GGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGA CATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGC

	SSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPED FATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEI K (서열번호: 159)	ATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG CAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATC AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATC TATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCA ACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTC ACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 372)
7	QLQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVS GGSISSSSYYWG WIRQPPGKGLE WIGSIYYSGSTY YNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CARVRFLAARTT IPEANFLWGQGT LVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGG DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLT FGGGTKVEIK (서열번호: 160)	CAGCTGCAGCTCCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCACCG TGTCCGGCGGCAGCATCAGCAGCAGCAGCTACTAC TGGGGCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTCGATCTACTACAGCGGCTCCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACC ATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCT GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTG TGTATTACTGTGCGAGAGTACGATTTTTGGCTGCTC GCACTACTATTCCGGAGGCGAATTTTCTTTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGT GGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAA GCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCC TCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATC ACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA GCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTG AAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACA GTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTG GAGATCAAG (서열번호: 373)
8	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEW VSYISSSSSTIYY ADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVY YCARVLSRARFD YWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVG DRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGS	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACAGCATGAACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCAGCTCCACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGTCGATTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGTACTCTCCAGGGCTAGGTTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAG TCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAG CAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGT

[0154]

[0155]

	GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 161)	GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGT CTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAA CAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGA ACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 374)
9	EVQLVESGGGLV KPGGSLRLSCAA SGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEW VSSISSSSSYIYY ADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVY YCARLRGRVFDP WGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSG GGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQSIS SYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 162)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACAGCATGAACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTCGATCAGCAGCAGCAGCTCCTACATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGATTACGAGGGAGGGTGTTCGACCC CTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCTCAG GCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGG CGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGT CTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAG TCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGC AGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTT GCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTG GATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC TGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAC AGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAA CAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 375)
10	QLQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVS GGSISSSSYYWG WIRQPPGKGLE WIGSIYYSGSTY YNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CARIKFTSFLYV HGFLWGQGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 163)	CAGCTGCAGCTCCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCACCG TGTCCGGCGGCAGCATCAGCAGCAGCAGCTACTAC TGGGGCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTCGATCTACTACAGCGGCTCCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACC ATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCT GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTG TGTATTACTGTGCGAGAATAAAATTTACCAGCTTTT TATATGTTCATGGTTTTCTGTGGGGCCAGGGAACCC TGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCG ACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTG CATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGAT CTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC AAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTG CAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTC TCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 376)

[0156]

11	QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KASGYTFTSYA MHWVRQAPGQR LEWMGWINAGN GNTKYSQKFQG RVTITRDTSAST AYMELSSLRSED TAVYYCARGQR WLYLGGIRRHW GQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGG GSGGDIQMTQSP SSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPED FATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEI K (서열번호: 164)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAA GAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGG CCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACGCCATGCACT GGGTTCGACAGGCCCCTGGCCAGAGACTGGAATGG ATGGGCTGGATCAACGCCGGCAACGGCAACACCAA GTACAGCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATCA CCCGGGACACCAGCGCCAGCACCGCCTACATGGAA CTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCTGTGTA TTACTGTGCGAGAGGCCAGAGATGGCTGTACCTCG GGGGGATTCGTCGGCATTGGGGCCAGGGAACCCTG GTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGAC ATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCA TCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCA GCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCA CTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 377)
12	QVQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVS GGSISSYYWSWI RQPPGKGLEWIG YIYYSGSTNYNP SLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVT AADTAVYYCAR EWIPSRPYYFDY WGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSG GGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQSIS SYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 165)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCACCG TGTCCGGCGGCAGCATCAGCAGCTACTACTGGTCCT GGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGG ATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCAACTA CAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGT CGATACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGA GCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACT GTGCGAGAGAATGGATTCCCAGCCGTCCGTACTACT TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGA CCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGC ATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGG CAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTG TCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGG CGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 378)
13	QVQLQESGPGLV KPSQTLSLTCTV SGGSISSGGYYW SWIRQPPGKGLE	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACT GGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTG

[0157]

	WIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CARESTGTGAFD IWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVG DRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 166)	GAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCAC CTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCA TCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTG AAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGT GTATTACTGTGCGAGAGAAAGTACCGGTACAGGAG CTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCG TGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGA TCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGAT GACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGA GCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCAT CCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACT GTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 379)
14	EVQLVESGGGV VRPGGSLRLSCA ASGFTFDDYGMS WVRQAPGKGLE WVSGINWNGGS TGYADSVKGRFT ISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTA LYHCARERYRR VLHWYFDLWGR GTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTIT CRASQSISSYLN WYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPED FATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEI K (서열번호: 167)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGCGGAGTGGT TCGACCTGGCGGAAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGC CAGCGGCTTCACCTTTGACGACTACGGCATGAGCTG GGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGG TGTCCGGCATCAACTGGAACGGCGGCAGCACCGGC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCTTGTAT CACTGTGCGAGAGAGAGGTACAGGCGGGTACTCCA CTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGT CACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATC CAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAG TCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCA GAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATG CTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTT ACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTT TCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 380)
15	QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KASGYTFTSYDI NWVRQATGQGL EWMGWMNPNS GNTGYAQKFQG RVTMTRNTSIST AYMELSSLRSED	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAA GAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGG CCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACGACATCAACT GGGTCCGCCAGGCCACCGGACAGGGCCTGGAATGG ATGGGCTGGATGAACCCCAACAGCGGCAACACCGG CTACGCCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATGA CCCGGAACACCTCGATCAGCACCGCCTACATGGAA CTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCTGTGTA

[0158]

	TAVYYCAREPD AFDIWGQGTMV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 168)	TTACTGTGCGAGAGAACCGGATGCTTTTGATATCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTGTCCTCAGGCG GAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGG AGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTC CATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC CCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCA AAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGC AACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGA GTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAA AGGTGGAGATCAAG (서열번호: 381)
16	QVQLQESGPGLV KPSQTLSLTCTV SGGSISSGGYYW SWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CAREHMGTIPYY FDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 169)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACT GGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTG GAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCAC CTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCA TCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTG AAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGT GTATTACTGTGCGAGAGAACATATGGGGACGATTC CGTACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGG TCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG GGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACA TCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCA AGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAG CAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA TGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAG GTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAAC TTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCAC TTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 382)
17	QVQLQESGPGLV KPSQTLSLTCTV SGGSISSGGYYW SWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CAREEFGYGDVL YWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVG	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACT GGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTG GAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCAC CTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCA TCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTG AAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGT GTATTACTGTGCGAGAGAAGAGTTTGGTTATGGGG ACGTCCTCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGG ATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGA TGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG

[0159]

	DRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 170)	GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAG AGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAA ACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGC ATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAG TGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT CAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTA CTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGG CGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 383)
18	QVQLQESGPGLV KPSQTLSLTCTV SGGSISSGDYYW SWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CAREDVVKGAF DIWGQGTMVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVG DRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 171)	 CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCAGCATCAGCAGCGGCGACTACTAC TGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCTCGAGTGACCA TCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTG AAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGT GTATTACTGTGCCAGAGAGGACGTAGTCAAAGGCG CTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCG TGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGA TCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGAT GACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGA GCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCAT CCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACT GTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 384)
19	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEW VSYISSSSSTIYY ADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVY YCAREDFSHKLG YFQHWGQGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACAGCATGAACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCAGCTCCACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGTCGATTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGAAGACTTCTCGCATAAGCTAGG GTACTTCCAGCACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCA CCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGA GGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCA GATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT AGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTC AGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC

[0160]

	LQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 172)	CATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTA CTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTT CGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 385)
20	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARDYDYVW GQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGG GSGGDIQMTQSP SSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPED FATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEI K (서열번호: 173)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGATTACGATTACGTGTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTG GAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAG CGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTC CCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAC TTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGG GTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGAC AGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGA AGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAG TACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGG AGATCAAG (서열번호: 386)
21	QVQLQESGPGLV KPSQTLSLTCTV SGGSISSGDYYW SWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CARDRRDWDWF DPWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVG DRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 174)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCAGCATCAGCAGCGGCGACTACTAC TGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCTCGAGTGACCA TCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTG AAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGT GTATTACTGTGCCAGAGATCGCCGTGATTGGGACTG GTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCG TGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGA TCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGAT GACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGA GCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCAT CCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACT GTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 387)

[0161]

22	QVQLQESGPGLV KPSGTLSLTCAV SGGSISSSNWWS WVRQPPGKGLE WIGEIYHSGSTN YNPSLKSRVTISV DKSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CARDQQALKYR VDWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVG DRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 175)	 CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCGGCACCCTGAGCCTGACCTGTGCCG TGTCTGGCGGCAGCATCAGCAGCAGCAACTGGTGG TCCTGGGTCCGCCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTCGA ATGGATCGGCGAGATCTACCACAGCGGCAGCACCA ACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATC AGCGTGGACAAGAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAA GCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGTGT ATTACTGTGCGAGAGATCAGCAGGCGTTGAAATAC CGTGTGGATTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT GTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGAT CTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATG ACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAG CATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACC AGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATC CAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACT GTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 388)
23	QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KASGYTFTSYGI SWVRQAPGQGL EWMGWISAYNG NTNYAQKLQGR VTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDT AVYYCARDLTL GCFDYWGQGTL VTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSAS VGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYC QQSYSTPLTFGG GTKVEIK (서열번호: 176)	 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAA GAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGG CCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACGGCATCAGCT GGGTCCGCCAGGCTCCTGGACAGGGACTGGAATGG ATGGGCTGGATCAGCGCCTACAACGGCAACACCAA CTACGCCCAGAAACTGCAGGGCAGAGTGACCATGA CCACCGACACCAGCACCAGCACCGCCTACATGGAA CTTCGAAGCCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTA TTACTGTGCGAGAGATCTTACGCTAGGATGCTTTGA CTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCTC AGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGC GGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCA GTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAG AGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTA GCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGG AAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAG TGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCA ACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGG AACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 389)
24	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTVSSNYMS WVRQAPGKGLE WVSVIYSGGSTY	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCGTGTCCAGCAACTACATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCGTGATCTACAGCGGCGGCAGCACCTACTAC

	YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARDGSNSW YFDLWGRGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 177)	GCCGACAGCGTGAAGGGTCGATTCACCATCAGCCG GGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGA ACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTATTAC TGTGCGAGAGATGGGTCAAACTCTTGGTACTTCGAT CTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAG TCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAG CAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGT CTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAA CAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGA ACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 390)
25	QVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCA ASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLE WVAVIWYDGSN KYYADSVKGRF TISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDT AVYYCARAFLFL SFSVWGQGTLVT VSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 178)	 CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCGTGGT GCAGCCCGGCAGAAGCCTTCGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGGCATGCACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGGCCGTGATTTGGTACGACGGCAGCAACAAGTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA TTACTGTGCGAGGGCATTTTTATTCCTGTCTTTTTCG GTTTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAG TCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAG CAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGT CTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAA CAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGA ACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 391)
26	EVQLVESGGVV VQPGGSLRLSCA ASGFTFDDYTM HWVRQAPGKGL EWVSLISWDGGS TYYADSVKGRFT ISRDNSKNSLYL QMNSLRTEDTAL YYCAKGIFYSSK EDFDYWGQGTL	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGTGGTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACACCATGCACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCCTGATCAGCTGGGACGGCGGCTCTACCTAC TACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACAGCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGACCGAGGACACCGCCTTGTAT TACTGTGCAAAAGGGATATTCTACTCGAGTAAAGA GGATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCA

[0162]

	VTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSAS VGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYC QQSYSTPLTFGG GTKVEIK (서열번호: 179)	CCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGA GGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCA GATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT AGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTC AGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTA CTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTT CGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 392)
27	EVQLVESGGVV VQPGGSLRLSCA ASGFTFDDYTM HWVRQAPGKGL EWVSLISWDGGS TYYADSVKGRFT ISRDNSKNSLYL QMNSLRTEDTAL YYCAKDIWIFYS SNPKPTVYWGQ GTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTIT CRASQSISSYLN WYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPED FATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEI K (서열번호: 180)	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGTGGTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACACCATGCACT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCCTGATCAGCTGGGACGGCGGCTCTACCTAC TACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACAGCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGACCGAGGACACCGCCTTGTAT TACTGTGCAAAAGATATATGGATATTCTACTCGAGT AATCCAAAGCCGACGGTCTACTGGGGCCAGGGAAC CCTGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCG GAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGG CGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTC TGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGT ATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTG ATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC ACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTT GCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT CTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAA G (서열번호: 393)
28	QVQLVQSGSELK KPGASVKVSCK ASGYTFTSYAM NWVRQAPGQGL EWMGWINTNTG NPTYAQGFTGRF VFSFDTSVSTAY LQICSLKAEDTA VYYCARKDQTL TYGNWFDPWGQ GTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTIT	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCAGCGAGCTGAA GAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGG CCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACGCCATGAACT GGGTCCGCCAGGCCCCAGGCCAGGGACTGGAATGG ATGGGCTGGATCAACACCAACACCGGCAACCCCAC CTACGCCCAGGGCTTCACCGGCAGATTCGTGTTCAG CTTCGACACCAGCGTGTCCACCGCCTACCTGCAGAT CTGTAGCCTGAAGGCCGAGGACACCGCCGTGTATT ACTGTGCGAGGAAGGATCAGACGCTGACCTACGGA AACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGT CACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATC CAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAG

[0163]

[0164]

	CRASQSISSYLN WYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPED FATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEI K (서열번호: 181)	TCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCA GAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATG CTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTT ACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTT TCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 394)
29	QVQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVS GGSVSSGSYYWS WIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTN YNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYY CARDHYERGLY WGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSG GGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQSIS SYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 182)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCACCG TGTCCGGCGGCTCTGTGTCCAGCGGCTCCTACTACT GGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTC GAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCAC CAACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCA TCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCTG AAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGT GTATTACTGTGCGAGAGATCATTACGAGCGGGGGC TCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCT CAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGG CGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCC AGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACA GAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATT AGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGG GAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAG TTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCA GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCA GTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTC AACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCG GAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 395)
30	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARYMYNW YFDLWGRGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQ MTQSPSSVSASV GDRVTITCRASQ GISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIS	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGATATATGTATAACTGGTACTTCGAT CTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAG AGCCCCAGCAGCGTGTCCGCCAGCGTGGGCGATCG AGTGACCATCACCTGTCGGGCCTCCCAGGGCATCA GCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAG CCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCT

	SLQPEDFATYYC QQANSFPLTFGG GTKVEIK (서열번호: 183)	CCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC AGCAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGCG GAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 396)
31	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARDRRPAF DIWGQGTMVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQM TQSPSSVSASVG DRVTITCRASQGI SSWLAWYQQKP GKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ ANSFPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 184)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGATCGAAGGCCTGCTTTTGATATC TGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTGTCCTCAGG CGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGC GGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGA GCCCCAGCAGCGTGTCCGCCAGCGTGGGCGATCGA GTGACCATCACCTGTCGGGCCTCCCAGGGCATCAGC AGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAA GGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCT GCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCG GCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCC TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGC AGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAA CAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 397)
32	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCAVHLKRRP YFDYWGQGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 185)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGGTACATTTGAAACGACGTCCCTACTTT GACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA TAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAG CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 398)

[0165]

[0166]

33	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCASVHKKPIF DYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGAIQLT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQGIS SALAWYQQKPG KAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 186)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGCGTACATAAGAAACCCATCTTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAG AGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATAG AGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCATCA GCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTC CCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCA GCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC AGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCG GAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 399)
34	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCASTSRRCTF QHWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGAIQLT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQGIS SALAWYQQKPG KAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 187)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGTACCAGTCGGCGCTGTACCTTCCAG CACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAG AGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATAG AGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCATCA GCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTC CCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCA GCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC AGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCG GAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 400)
35	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC

[0167]

	YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCASTSPRPLF QHWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGAIQLT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQGIS SALAWYQQKPG KAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 188)	TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGTACCAGCCCGCGTCCTCTCTTCCAG CACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAG AGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATAG AGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCATCA GCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTC CCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCA GCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC AGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCG GAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 401)
36	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCASPYQVRG VYFDYWGQGTL VTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGAI QLTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ GISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDA SSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QFNSYPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 189)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGCCCTTACCAAGTCCGAGGAGTCTAC TTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTG TCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGA CCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGC GATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGG CATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCC AGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAG CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCAT CAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCG GCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 402)
37	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCASPYKKRRT VFDYWGQGTLV	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGCCCCTATAAGAAACGACGAACGGT CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT

[0168]

	TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 190)	GTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGAT CTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTG ACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGG CGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGG GCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAG CCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGC CAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCA GCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTT CGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 403)
38	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCASLQRGLAL FQHWGQGTLVT VSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 191)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGTCTTTACAGCGCGGGCTGGCCCTCTTC CAGCACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA TAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAG CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 404)
39	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCASILSVPYF DLWGRGTLVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGAIQLT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQGIS SALAWYQQKPG	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCTAGCATATTGTCAGTTCCGTACTTCGAT CTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAG AGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATAG AGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCATCA GCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC

[0169]

	KAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 192)	AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTC CCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCA GCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC AGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCG GAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 405)
40	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCASGWIRVPL RLPLFQHWGQG TLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLI YDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAT YYCQQFNSYPLT FGGGTKVEIK (서열번호: 193)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGTGGGTGGATTCGTGTACCTTTACGA TTGCCCCTCTTCCAGCACTGGGGCCAGGGCACCCTG GTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCC ATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGC CAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCG CCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGAT CTACGACGCCAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCA GCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC ACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTT CGCCACCTACTACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCC TCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCA AG (서열번호: 406)
41	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARVTIFAIFD IWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGS GGGGSGGAIQLT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQGIS SALAWYQQKPG KAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGTAACCATATTTGCGATATTTGAT ATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTGTCCTC AGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGC GGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACCCA GAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATA GAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCATC AGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG CAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCT CCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGC AGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC AGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGC

[0170]

	KVEIK (서열번호: 194)	CAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGC GGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 407)
42	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARVGRGFV HFDLWGRGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 195)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGTGGGACGTGGATTCGTTCATTTT GATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTCC TCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA TAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAG CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 408)
43	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARTSRGLCV LFDYWGQGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 196)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGGACGTCAAGAGGTTTGTGTGTTTTA TTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTG TCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGA CCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGC GATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGG CATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCC AGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAG CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCAT CAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACT ACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCG GCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 409)
44	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT

[0171]

	WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARSGPSSY WYFDLWGRGTL VTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGAI QLTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ GISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDA SSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QFNSYPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 197)	GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAAGTGGGCCCAGTAGCTACTGGTA CTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGT GTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGAT CTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTG ACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGG CGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGG GCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAG CCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGC CAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCA GCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTT CGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 410)
45	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARNIYMGGI WFDPWGQGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 198)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAAACATTTACATGGGCGGGATCTG GTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCG TGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGA TCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCT GACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG GCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAG GGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACG CCAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTC AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAC CATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTT TCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 411)
46	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT

[0172]

	YYCARLTVRTG AFDIWGQGTMV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 199)	TACTGTGCGAGACTTACAGTCCGCACTGGAGCTTTT GATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA TAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAG CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 412)
47	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARLRTAHL DFDLWGRGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 200)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGACTAAGAACTGCCCACCTGGACTTC GATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTCC TCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA TAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAG CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 413)
48	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARDLIFPVV FDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGATCTCATATTTCCAGTAGTCTTT GACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA

[0173]

	DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 201)	TAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAG CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 414)
49	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARDGYRKY GYVFFDIWGQGT MVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLI YDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAT YYCQQFNSYPLT FGGGTKVEIK (서열번호: 202)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGATGGATATCGCAAATATGGTTA CGTATTTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATC CAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAG CGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCA GCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTA CGACGCCAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCA GATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACC CTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGC CACCTACTACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCT CACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 415)
50	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARDGRYRR FWHAFDIWGQG TMVTVSSGGGG SGGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSL SASVGDRVTITC RASQGISSALAW YQQKPGKAPKL LIYDASSLESGVP SRFSGSGSGTDF	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGATGGGAGGTACAGGCGGTTCTG GCATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATC CAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAG CGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCA GCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTA CGACGCCAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCA GATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACC

	TLTISSLQPEDFA TYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (서열번호: 203)	CTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGC CACCTACTACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCT CACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 416)
51	QVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCA ASGFTFSDYYMS WIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIY YADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARAHIRGYF DLWGRGTLVTV SSGGGGSGGGGS GGGGSGGAIQLT QSPSSLSASVGD RVTITCRASQGIS SALAWYQQKPG KAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNSYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 204)	 CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GAAACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCT GGATCAGACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGG GTGTCCTACATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAT TACTGTGCGAGAGCCCATATACGGGGGTACTTCGAT CTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTCCTCA GGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAG AGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATAG AGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAGGGCATCA GCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTC CCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCA GCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCC AGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCG GAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 417)
52	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCATWMGGG GRWYFDLWGRG TLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLI YDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAT YYCQQFNNYPLT FGGGTKVEIK (서열번호: 205)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA TTACTGTGCGACGTGGATGGGGGGCGGGGGACGAT GGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCA CTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGA GGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCA GCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCG TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGC CAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCA GAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACG ACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGA TTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCAC CTACTACTGCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCAC TTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 418)

[0174]

[0175]

53	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCARTSRTTW YFDLWGRGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNNYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 206)	 GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA TTACTGTGCGAGAACTAGTCGTACAACCTGGTACTT CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA CAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGTC CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 419)
54	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCAKWMGGG GRLYFDLWGRG TLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLI YDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAT YYCQQFNNYPLT FGGGTKVEIK (서열번호: 207)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA TTACTGTGCGAAATGGATGGGGGGCGGGGGACGAT TATACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCA CTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGA GGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCA GCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCG TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGC CAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCA GAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACG ACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGA TTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCAC CTACTACTGCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCAC TTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 420)
55	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA

[0176]

	YADSVKGRFTIS	CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA
	RDNSKNTLYLQ	GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG
	MNSLRAEDTAV	ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA
	YYCAKWGGRLY	TTACTGTGCGAAATGGGGGGGGCGGTTGTACTGGT
	WYFDLWGRGTL	ACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTG
	VTVSSGGGGSGG	TGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGA
	GGSGGGGSGGAI	TCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCT
	QLTQSPSSLSASV	GACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG
	GDRVTITCRASQ	GCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAG
	GISSALAWYQQK	GGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAA
	PGKAPKLLIYDA	GCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACG
	SSLESGVPSRFSG	CGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTC
	SGSGTDFTLTISS	AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAC
	LQPEDFATYYCQ	CATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCT
	QFNNYPLTFGGG	ACTACTGCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTT
	TKVEIK	TCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG
	(서열번호: 208)	(서열번호: 421)
56	EVQLLESGGGLV	
	QPGGSLRLSCAA	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT
	SGFTFSSYAMSW	GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG
	VRQAPGKGLEW	CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT
	VSAISGSGGSTY	GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG
	YADSVKGRFTIS	GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA
	RDNSKNTLYLQ	CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA
	MNSLRAEDTAV	GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG
	YYCAKVIRQLW	ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA
	YFDLWGRGTLV	TTACTGTGCGAAAGTTATTCGGCAACTCTGGTACTT
	TVSSGGGGSGGG	CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTC
	GSGGGGSGGAIQ	CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG
	LTQSPSSLSASVG	GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC
	DRVTITCRASQGI	CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA
	SSALAWYQQKP	CAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCA
	GKAPKLLIYDAS	TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC
	SLESGVPSRFSGS	GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGTC
	GSGTDFTLTISSL	CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG
	QPEDFATYYCQQ	GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA
	FNNYPLTFGGGT	GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT
	KVEIK (서열번호:	GCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCG
	209)	GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 422)
57	EVQLLESGGGLV	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT
	QPGGSLRLSCAA	GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG
	SGFTFSSYAMSW	CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT
	VRQAPGKGLEW	GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG
	VSAISGSGGSTY	GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA
	YADSVKGRFTIS	CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA
	RDNSKNTLYLQ	GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG
	MNSLRAEDTAV	ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA
	YYCAKVFANSW	TTACTGTGCGAAAGTTTTCGCCAACTCCTGGTACTT
	YFDLWGRGTLV	CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTC

[0177]

	TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNNYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 210)	CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA CAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGTC CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 423)
58	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCAKVDRTTW YFDLWGRGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNNYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 211)	 GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA TTACTGTGCGAAAGTAGATAGGACTACCTGGTACTT CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA CAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGTC CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 424)
59	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCAKRWGKDG PYWYFDLWGRG TLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQGISSALAWY	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA TTACTGTGCGAAACGATGGGGTAAGGATGGTCCTT ACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGG TCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG GGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCAT CCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCA GCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCC AGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCA

[0178]

	QQKPGKAPKLLI YDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAT YYCQQFNNYPLT FGGGTKVEIK (서열번호: 212)	GCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT ACGACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGC AGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAC CCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCG CCACCTACTACTGCCAGCAGTTTAATAATTACCCTC TCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 425)
60	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCAKRRDSYG PYWYFDLWGRG TLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLI YDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFAT YYCQQFNNYPLT FGGGTKVEIK (서열번호: 213)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA TTACTGTGCGAAAAGAAGAGACAGTTATGGTCCTT ACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGG TCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG GGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCAT CCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCA GCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCC AGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT ACGACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGC AGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAC CCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCG CCACCTACTACTGCCAGCAGTTTAATAATTACCCTC TCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 426)
61	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCAKNRPPPGY WYFDLWGRGTL VTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGAI QLTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQ GISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDA SSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQ QFNNYPLTFGGG	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA TTACTGTGCGAAGAATCGTCCCCCGCCCGGGTACTG GTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCAC TGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAG GATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAG CTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGT GGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCC AGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGA CGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGAT TCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTG ACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCAC CTACTACTGCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCAC

	TKVEIK (서열번호: 214)	TTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 427)
62	EVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTY YADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAV YYCAKGRRFSW YFDLWGRGTLV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQ LTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQGI SSALAWYQQKP GKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQ FNNYPLTFGGGT KVEIK (서열번호: 215)	 GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGG GTGTCCGCCATCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCA GCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTATA TTACTGTGCGAAGGGAAGACGATTTAGCTGGTACTT CGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTG GCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATCCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGA CAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCA TCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGTC CTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCG GCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 428)

[0179]

[0180] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv이다. 일부 실시양태에서, scFv 도메인은 MSLN에 결합한다. 일부 실시양태에서, scFv는 CAR의 리간드 결합 도메인이다. MSLN에 특이적인 예시적인 scFv 도메인은 상기 표 1에 제시되어 있다. 표 1에서, 밑줄이 그어져 있는 것은 CDR 서열을 나타낸다.

[0181] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 3-6, 80 또는 154-215의 서열, 또는 표 1에 제시된 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 85% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 97% 동일성 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 1에 제시된 바와 같은 서열번호: 3-6, 80 또는 154-215의 서열을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0182] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 171의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 85% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 97% 동일성 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 171의 서열을 포함하는 결합 도메인을 포함한다.

[0183] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 3-6 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성, 적어도 85% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 97% 동일성 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 scFv 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 3-6 또는 80 중 어느 하나의 서열을 포함하는 scFv 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 3-6 또는 80으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열로 본질적으로 이루어진다.

[0184] 표 2: MSLN 상보성 결정 영역(CDR)의 서열

#	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3	LC
1	NAWMS (서열번호: 429)	RIKSKTDGGTTDYAAPVKG (서열번호: 450)	DLPKLRNFHI (서열번호: 471)	A
2	SYAMH (서열번호: 430)	AISSNGGSTYYANSVKG (서열번호: 451)	LEYHGFRQYGLRYWH (서열번호: 472)	A
3	SGGYSWS (서열번호: 431)	YIYHSGSTYYNPSLKS (서열번호: 452)	IKFWFAGINYFFP (서열번호: 473)	A
4	SYWMH (서열번호: 449)	RINSDGSSTSYADSVKG (서열번호: 453)	GFLGMGSNFI (서열번호: 474)	A
5	SGGYYWS (서열번호: 432)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 454)	GDRARYFDL (서열번호: 475)	A
6	SYWMH (서열번호: 449)	RINSDGSSTSYADSVKG (서열번호: 453)	YPRGYHQMVDAFDI (서열번호: 476)	A
7	SSSYYWG (서열번호: 433)	SIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 455)	VRFLAARTTIPEANFL (서열번호: 477)	A
8	SYSMN (서열번호: 434)	YISSSSSTIYYADSVKG (서열번호: 456)	VLSRARFDY (서열번호: 478)	A
9	SYSMN (서열번호: 434)	SISSSSSYIYYADSVKG (서열번호: 457)	LRGRVFDP (서열번호: 479)	A
10	SSSYYWG (서열번호: 433)	SIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 455)	IKFTSFLYVHGFL (서열번호: 480)	A

[0185]

[0186]

11	SYAMH (서열번호: 430)	WINAGNGNTKYSQKFQG (서열번호: 458)	GQRWLYLGGIRRH (서열번호: 481)	A
12	SYYWS (서열번호: 435)	YIYYSGSTNYNPSLKS (서열번호: 459)	EWIPSRPYYFDY (서열번호: 482)	A
13	SGGYYWS (서열번호: 432)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 454)	ESTGTGAFDI (서열번호: 483)	A
14	DYGMS (서열번호: 436)	GINWNGGSTGYADSVKG (서열번호: 460)	ERYRRVLHWYFDL (서열번호: 484)	A
15	SYDIN (서열번호: 437)	WMNPNSGNTGYAQKFQG (서열번호: 461)	EPDAFDI (서열번호: 485)	A
16	SGGYYWS (서열번호: 432)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 454)	EHMGTIPYYFDY (서열번호: 486)	A
17	SGGYYWS (서열번호: 432)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 454)	EEFGYGDVLY (서열번호: 487)	A
18	SGDYYWS (서열번호: 438)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 454)	EDVVKGAFDI (서열번호: 488)	A
19	SYSMN (서열번호: 434)	YISSSSSTIYYADSVKG (서열번호: 456)	EDFSHKLGYFQH (서열번호: 489)	A
20	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	DYDYV (서열번호: 490)	A
21	SGDYYWS (서열번호: 438)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 454)	DRRDWDWFDP (서열번호: 491)	A
22	SSNWWS (서열번호: 440)	EIYHSGSTNYNPSLKS (서열번호: 463)	DQQALKYRVD (서열번호: 492)	A
23	SYGIS (서열번호: 441)	WISAYNGNTNYAQKLQG (서열번호: 464)	DLTLGCFDY (서열번호: 493)	A
24	SNYMS (서열번호: 442)	VIYSGGSTYYADSVKG (서열번호: 465)	DGSNSWYFDL (서열번호: 494)	A
25	SYGMH (서열번호: 443)	VIWYDGSNKYYADSVKG (서열번호: 466)	AFLFLSFSV (서열번호: 495)	A
26	DYTMH (서열번호: 444)	LISWDGGSTYYADSVKG (서열번호: 467)	GIFYSSKEDFDY (서열번호: 496)	A

[0187]

27	DYTMH (서열번호: 444)	LISWDGGSTYYADSVKG (서열번호: 467)	DIWIFYSSNPKPTVY (서열번호: 497)	A
28	SYAMN (서열번호: 445)	WINTNTGNPTYAQGFTG (서열번호: 468)	KDQTLTYGNWFDP (서열번호: 498)	A
29	SGSYYWS (서열번호: 446)	YIYYSGSTNYNPSLKS (서열번호: 459)	DHYERGLY (서열번호: 499)	A
30	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	YMYNWYFDL (서열번호: 500)	B
31	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	DRRPAFDI (서열번호: 501)	B
32	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	HLKRRPYFDY (서열번호: 502)	C
33	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	VHKKPIFDY (서열번호: 503)	C
34	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	TSRRCTFQH (서열번호: 504)	C
35	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	TSPRPLFQH (서열번호: 505)	C
36	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	PYQVRGVYFDY (서열번호: 506)	C
37	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	PYKKRRTVFDY (서열번호: 507)	C
38	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	LQRGLALFQH (서열번호: 508)	C
39	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	ILSVPYFDL (서열번호: 509)	C
40	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	GWIRVPLRLPLFQH (서열번호: 510)	C
41	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	VTIFAIFDI (서열번호: 511)	C
42	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	VGRGFVHFDL (서열번호: 512)	C

[0188]

43	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	TSRGLCVLFDY (서열번호: 513)	C
44	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	SGPSSYWYFDL (서열번호: 514)	C
45	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	NIYMGGIWFDP (서열번호: 515)	C
46	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	LTVRTGAFDI (서열번호: 516)	C
47	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	LRTAHLDFDL (서열번호: 517)	C
48	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	DLIFPVVFDY (서열번호: 518)	C
49	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	DGYRKYGYVFFDI (서열번호: 519)	C
50	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	DGRYRRFWHAFDI (서열번호: 520)	C
51	DYYMS (서열번호: 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (서열번호: 462)	AHIRGYFDL (서열번호: 521)	C
52	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVK G (서열번호: 469)	WMGGGGRWYFDL (서열번호: 522)	C
53	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVK G (서열번호: 469)	TSRTTWYFDL (서열번호: 523)	C
54	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVK G (서열번호: 469)	WMGGGGRLYFDL (서열번호: 524)	C
55	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVK G (서열번호: 469)	WGGRLYWYFDL (서열번호: 525)	C
56	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVK G (서열번호: 469)	VIRQLWYFDL (서열번호: 526)	C
57	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVK G (서열번호: 469)	VFANSWYFDL (서열번호: 527)	C
58	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVK G (서열번호: 469)	VDRTTWYFDL (서열번호: 528)	C

59	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVKG (서열번호: 469)	RWGKDGPYWYFDL (서열번호: 529)	C
60	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVKG (서열번호: 469)	RRDSYGPYWYFDL (서열번호: 530)	C
61	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVKG (서열번호: 469)	NRPPPGYWYFDL (서열번호: 531)	C
62	SYAMS (서열번호: 447)	AISGSGGSTYYADSVKG (서열번호: 469)	GRRFSWYFDL (서열번호: 532)	C
	SGDYYWS (서열번호: 438)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 454)	CAREDVVKGAFDIW (서열번호: 533)	A
	GYTMN (서열번호: 448)	LITPYNGASSYNQKFRG (서열번호: 470)	GGYDGRGFDY (서열번호: 534)	D
경쇄 CDR				
	LC CDR1	**LC CDR2**	**LC CDR3**	
A	RASQSISSYLN (서열번호: 535)	AASSLQS (서열번호: 539)	QQSYSTPLT (서열번호: 542)	
B	RASQGISSWLA (서열번호: 536)	AASSLQS (서열번호: 539)	QQANSFPLT (서열번호: 543)	
C	RASQGISSALA (서열번호: 537)	DASSLES (서열번호: 540)	QQFNSYPLT (서열번호: 544)	
D	SASSSVSYMH (서열번호: 538)	DTSKLAS (서열번호: 541)	QQWSGYPLT (서열번호: 545)	

[0189]

[0190] 표 2에서, 표시된 중쇄(HC) CDR과 쌍을 이룬 경쇄(LC) CDR은 좌측 열에 표시되어 있다.

[0191] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 제시된 HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3(예를 들어, 표 2의 라인 #1, 라인 #2, 라인 #3의 HC CDR 1, HC CDR2 및 HC CDR 3 등) 또는 표 2의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 제시된 LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3(예를 들어, 표 2의 라인 A, 라인 B 또는 라인 C의 LC CDR 1, LC CDR2 및 LC CDR 3) 또는 표 2의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 제시된 HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3(예를 들어, 표 2의 라인 #1, 라인 #2, 라인 #3의 HC CDR 1, HC CDR2 및 HC CDR 3 등)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 제시된 LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3(예를 들어, 표 2의 라인 A, 라인 B 또는 라인 C의 LC CDR 1, LC CDR2 및 LC CDR 3)을 포함한다.

[0192] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 제시된 HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3(예를 들어, 라인 1에 제시된 HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3, 및 라인 A의 LC CDR 1, LC CDR2 및 LC CDR 3)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 제시된 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3(예를 들어, 표 2의 라인 #1, 라인 #2, 라인 #3의 HC CDR 1, HC CDR2 및 HC CDR 3 등) 또는 표 2의 CDR에 대해 최대 1, 2, 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 제시된 LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3(예를 들어, 표 2의 라인 A, 라인 B 또는 라인 C의 LC CDR 1, LC CDR2 및 LC CDR 3) 또는 표 2의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 제시된 하나 이상의 HC CDR 및 표 2에 제시된 하나 이상의 LC CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 (i) 표 2의 한 라인에 제시된 HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3(예를 들어, 표 2의 라인 #1, 라인 #2, 라인 #3의 HC CDR 1, HC CDR2 및 HC CDR 3 등) 및 (ii) 표 2의 한 라인에 제시된 LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3(예를 들어, 표 2의 라인 A, 라인 B 또는 라인 C의 LC CDR 1, LC

CDR2, 및 LC CDR 3)을 포함한다. 각각의 경우에, HC CDR은 중쇄 및 경쇄가 유사성을 공유하기 때문에 원하는 발현 및 결합 활성을 확인하기 위한 일상적인 테스트를 통해 임의의 LC CDR과 쌍을 이룰 수 있지만; 일부 실시양태의 중쇄와 경쇄 사이의 바람직한 페어링은 표 2의 우측 열에 표시되어 있다.

[0193] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 SGDYYWS의 서열(서열번호: 438)을 포함하는 HC CDR1, YIYYSGSTYYNPSLKS의 서열(서열번호: 454)을 포함하는 HC CDR2 및 CAREDVVKGAFDIW의 서열(서열번호: 533)을 포함하는 HC CDR3, 또는 이에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 CDR 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 SGDYYWS의 서열(서열번호: 438)을 포함하는 HC CDR1, YIYYSGSTYYNPSLKS의 서열(서열번호: 454)을 포함하는 HC CDR2 및 CAREDVVKGAFDIW의 서열(서열번호: 533)을 포함하는 HC CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 RASQSISSYLN의 서열(서열번호: 535)을 포함하는 LC CDR1, AASSLQS의 서열(서열번호: 539)을 포함하는 LC CDR2, 및 QQSYSTPLT의 서열(서열번호: 542)을 포함하는 LC CDR3 또는 이에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 CDR 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 RASQSISSYLN의 서열(서열번호: 535)을 포함하는 LC CDR1, AASSLQS의 서열(서열번호: 539)을 포함하는 LC CDR2, 및 QQSYSTPLT의 서열(서열번호: 542)을 포함하는 LC CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 SGDYYWS의 서열(서열번호: 438)을 포함하는 HC CDR1, YIYYSGSTYYNPSLKS의 서열(서열번호: 454)을 포함하는 HC CDR2, CAREDVVKGAFDIW의 서열(서열번호: 533)을 포함하는 HC CDR3, RASQSISSYLN의 서열(서열번호: 535)을 포함하는 LC CDR1, AASSLQS의 서열(서열번호: 539)을 포함하는 LC CDR2, 및 QQSYSTPLT의 서열(서열번호: 542)을 포함하는 LC CDR3 또는 이에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 CDR 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 SGDYYWS의 서열(서열번호: 438)을 포함하는 HC CDR1, YIYYSGSTYYNPSLKS의 서열(서열번호: 454)을 포함하는 HC CDR2, CAREDVVKGAFDIW의 서열(서열번호: 533)을 포함하는 HC CDR3, RASQSISSYLN의 서열(서열번호: 535)을 포함하는 LC CDR1, AASSLQS의 서열(서열번호: 539)을 포함하는 LC CDR2, 및 QQSYSTPLT의 서열(서열번호: 542)을 포함하는 LC CDR2을 포함한다.

[0194] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv를 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 GYTMN(서열번호: 448), LITPYNGASSYNQKFRG(서열번호: 470) 및 GGYDGRGFDY(서열번호: 534)의 서열로부터 선택된 CDR을 포함하는 중쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 중쇄는 GYTMN(서열번호: 448), LITPYNGASSYNQKFRG(서열번호: 470) 및 GGYDGRGFDY(서열번호: 534)의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 SASSSVSYMH(서열번호: 538), DTSKLAS(서열번호: 541) 및 QQWSGYPLT(서열번호: 545)의 서열로부터 선택된 CDR을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 경쇄는 SASSSVSYMH(서열번호: 538), DTSKLAS(서열번호: 541) 및 QQWSGYPLT(서열번호: 545)의 서열을 포함한다.

[0195] MSLN에 특이적인 항원 결합 도메인의 예시적인 중쇄 및 경쇄의 서열은 하기 표 3 및 4에 제시되어 있다. 바람직한 실시양태에서 중쇄와 쌍을 이룬 경쇄는 표 3의 우측에 표시되어 있다.

[0196] 표 3: 중쇄 가변 단편(VH)의 서열

#	서열 번호	중쇄 (VH)	LC
1	216	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDLPKLRNFHIWGQGTLVTVSS	A
2	217	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEYVSAISSNGGSTYYANSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMGSLRAEDMAVYYCASLEYHGFRQYGLRYWHWGQGTLVTVSS	A
3	218	QLQLQESGSGLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGYSWSWIRQPPGKGLEWIGYIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVDRSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIKFWFAGINYFFPWGQGTLVTVSS	A
4	219	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASGFLGMGSNFIWGQGTLVTVSS	A
5	220	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSLVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASGDRARYFDLWGRGTLVTVSS	A
6	221	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYPRGYHQMVDAFDIWGQGTMVTVSS	A

[0197]

[0198]

#	서열 번호	중쇄 (VH)	LC
7	222	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQ PPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARVRFLAARTTIPEANFLWGQGTLVT VSS	A
8	223	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQ APGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYCARVLSRARFDYWGQGTLVTVSS	A
9	224	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQ APGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYCARLRGRVFDPWGQGTLVTVSS	A
10	225	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQ PPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARIKFTSFLYVHGFLWGQGTLVTVSS	A
11	226	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWVR QAPGQRLEWMGWINAGNGNTKYSQKFQGRVTITRDTSAS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARGQRWLYLGGIRRHWGQGT LVTVSS	A
12	227	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCAREWIPSRPYYFDYWGQGTLVTVSS	A
13	228	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARESTGTGAFDIWGQGTMVTVSS	A
14	229	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQ APGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTALYHCARERYRRVLHWYFDLWGRGT LVTVSS	A
15	230	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQ ATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSIS TAYMELSSLRSEDTAVYYCAREPDAFDIWGQGTMVTVSS	A
16	231	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCAREHMGTIPYYFDYWGQGTLVTVS S	A
17	232	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCAREEFGYGDVLYWGQGTLVTVSS	A
18	233	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCAREDVVKGAFDIWGQGTMVTVSS	A
19	234	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQ APGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREDFSHKLGYFQHWGQGTLVT VSS	A

[0199]

#	서열 번호	중쇄 (VH)	LC
20	235	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDYDYVWGQGTLVTVSS	A
21	236	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARDRRDWDWFDPWGQGTLVTVSS	A
22	237	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQ PPGKGLEWIGEIYHSGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARDQQALKYRVDWGQGTLVTVSS	A
23	238	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQ APGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTS TAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLTLGCFDYWGQGTLVTV SS	A
24	239	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQ APGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARDGSNSWYFDLWGRGTLVTVS S	A
25	240	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARAFLFLSFSVWGQGTLVTVS S	A
26	241	EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQ APGKGLEWVSLISWDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNSL YLQMNSLRTEDTALYYCAKGIFYSSKEDFDYWGQGTLVT VSS	A
27	242	EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQ APGKGLEWVSLISWDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNSL YLQMNSLRTEDTALYYCAKDIWIFYSSNPKPTVYWGQGTL VTVSS	A
28	243	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQ APGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSFDTSVST AYLQICSLKAEDTAVYYCARKDQTLTYGNWFDPWGQGTL VTVSS	A
29	244	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGSYYWSWIR QPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARDHYERGLYWGQGTLVTVSS	A
30	245	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARYMYNWYFDLWGRGTLVTVSS	B
31	246	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDRRPAFDIWGQGTMVTVSS	B
32	247	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCAVHLKRRPYFDYWGQGTLVTVSS	C

[0200]

#	서열 번호	중쇄 (VH)	LC
33	248	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCASVHKKPIFDYWGQGTLVTVSS	C
34	249	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCASTSRRCTFQHWGQGTLVTVSS	C
35	250	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCASTSPRPLFQHWGQGTLVTVSS	C
36	251	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCASPYQVRGVYFDYWGQGTLVTVS S	C
37	252	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCASPYKKRRTVFDYWGQGTLVTVSS	C
38	253	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCASLQRGLALFQHWGQGTLVTVSS	C
39	254	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCASILSVPYFDLWGRGTLVTVSS	C
40	255	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCASGWIRVPLRLPLFQHWGQGTLVT VSS	C
41	256	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARVTIFAIFDIWGQGTMVTVSS	C
42	257	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARVGRGFVHFDLWGRGTLVTVSS	C
43	259	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARTSRGLCVLFDYWGQGTLVTVSS	C
44	260	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARSGPSSYWYFDLWGRGTLVTVSS	C
45	261	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARNIYMGGIWFDPWGQGTLVTVSS	C
46	262	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARLTVRTGAFDIWGQGTMVTVSS	C

#	서열 번호	중쇄 (VH)	LC
47	263	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARLRTAHLDFDLWGRGTLVTVSS	C
48	264	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDLIFPVVFDYWGQGTLVTVSS	C
49	265	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDGYRKYGYVFFDIWGQGTMVT VSS	C
50	266	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARDGRYRRFWHAFDIWGQGTMVT VSS	C
51	267	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARAHIRGYFDLWGRGTLVTVSS	C
52	268	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCATWMGGGGRWYFDLWGRGTLV TVSS	C
53	269	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARTSRTTWYFDLWGRGTLVTVSS	C
54	270	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKWMGGGGRLYFDLWGRGTLV TVSS	C
55	271	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKWGGRLYWYFDLWGRGTLVT VSS	C
56	272	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKVIRQLWYFDLWGRGTLVTVSS	C
57	273	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKVFANSWYFDLWGRGTLVTVS S	C
58	274	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKVDRTTWYFDLWGRGTLVTVS S	C
59	275	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY	C

[0201]

#	서열 번호	중쇄 (VH)	LC
		LQMNSLRAEDTAVYYCAKRWGKDGPYWYFDLWGRGTL VTVSS	
60	276	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKRRDSYGPYWYFDLWGRGTLV TVSS	C
61	277	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKNRPPPGYWYFDLWGRGTLVT VSS	C
62	278	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKGRRFSWYFDLWGRGTLVTVSS	C

[0202]

[0203] 표 4: 경쇄 가변 단편(VL)의 서열

#	서열 번호	경쇄 (VL)
A	279	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLT FGGGTKVEIK
B	280	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLT FGGGTKVEIK
C	281	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLI YDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLT FGGGTKVEIK
D	282	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLI YDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLT FGGGTKVEIK

[0204]

[0205] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 3에 제시된 가변 중쇄 영역(VH) 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 3에 제시된 VH와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 4에 제시된 가변 경쇄 영역(VL) 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 4에 제시된 VL과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 서열을 포함한다.

[0206] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 (i) 표 2에 제시된 HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3 서열(예를 들어, 표 2의 라인 #1, 라인 #2, 라인 #3의 HC CDR 1, HC CDR2, 및 HC CDR 3 등)을 포함하고 (ii) 표 3에 제시된 VH 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 (i) 표 2의 한 라인에 제시된 LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3 서열(예를 들어, 표 2의 라인 A, 라인 B 또는 라인 C의 LC CDR 1, LC CDR2, 및 LC CDR 3) 및 표 4에 제시된 VL 서열을 포함하고 (ii) 표 4에 제시된 VL과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다.

[0207] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 (i) 표 3에 제시된 VH 서열 또는 표 3에 제시된 VH와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 서열 및 (ii) 표 4에 제시된 VL 서열 또는 표 4에 제시된 VL 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다. 각각의 경우에, VH는 중쇄 및 경쇄가 유사성을 공유하기 때문에 원하는 발현 및 결합 활성을 확인하기 위한 일상적인 테스트를 통해 임의의 VL과 쌍을 이룰 수 있지만; 표 3과 표 4 사이의 바람직한 페어링은 표 4의 # 열에 상응하는 표 3의 "LC" 열에 표시된다.

[0208] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 233의 VH 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 233의 VH 서열을 포함한다.

[0209] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 279의 VL 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 279의 VL 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 233의 VH 서열 및 서열번호: 279의 VL 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적

어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, VH 및 VL은 링커, 예를 들어 GGGGSGGGGSGGGGSGG(서열번호: 152)의 서열을 포함하는 링커에 대해 분리된다. VH 및 VL은 임의의 배향, 예를 들어 VH, 링커, VL; 또는 대안적으로 VL, 링커 VH일 수 있다.

[0210] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항원 결합 도메인의 CDR에서 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 아미노산 잔기는 또 다른 아미노산으로 치환된다. 치환은 동일한 계열의 아미노산 내의 치환이라는 의미에서 "보존적"일 수 있다. 자연적으로 발생하는 아미노산은 다음 4가지 계열로 나눌 수 있으며 이러한 계열 내에서 보존적 치환이 일어날 것이다: (1) 염기성 측쇄를 갖는 아미노산: 라이신, 아르기닌, 히스티딘; (2) 산성 측쇄를 갖는 아미노산: 아스파르트산, 글루탐산; (3) 하전되지 않은 극성 측쇄를 갖는 아미노산: 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신; 및 (4) 비극성 측쇄를 갖는 아미노산: 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판, 시스테인. 항체의 CDR의 아미노산 서열을 아미노산의 첨가, 결실 또는 치환에 의해 변화시킴으로써, 표적 항원에 대한 결합 친화도 증가와 같은 다양한 효과를 수득할 수 있다.

[0211] 키메라 항원 수용체(CAR)

[0212] 본 개시내용은 제1, 활성화제 수용체 및 이를 포함하는 면역세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 키메라 항원 수용체이다.

[0213] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "키메라 항원 수용체(CAR)"는 T-세포 수용체로부터 유래된 인공 수용체를 지칭할 수 있고 인공 특이성을 특정 면역 이펙터 세포에 이식하는 조작된 수용체를 포함한다. CAR은 모노클로날 항체의 특이성을 T 세포에 부여하여, 예를 들어, 입양 세포 요법에 사용하기 위해 많은 수의 특정 T 세포가 생성되도록 하는 데 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, CAR은 예를 들어 종양 연관 항원에 대한 세포의 특이성을 지시한다. 예시적인 CAR은 세포 내 활성화 도메인, 막관통 도메인, 및 종양 연관 항원 결합 영역을 포함하는 세포외 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR은 힌지 도메인을 추가로 포함한다. 특정 양태에서, CAR은 CD3 막관통 도메인 및 엔도도메인에 융합되는, 모노클로날 항체로부터 유래된 단일 사슬 가변 단편(scFv)의 융합체를 포함한다. 다른 CAR 디자인의 특이성은 수용체의 리간드(예를 들어, 펩티드)로부터 유래될 수 있다. 특정 경우에, CAR은 추가적인 공동 자극 신호전달을 위한 도메인, 예컨대 CD3, 4-1BB, FcR, CD27, CD28, CD137, DAP10, 및/또는 OX40을 포함한다. 일부 경우에, 공동 자극 분자, 영상화를 위한 리포터 유전자, 전구약물 첨가 시 T 세포를 조건부로 제거하는 유전자 생성물, 귀소 수용체, 사이토카인 및 사이토카인 수용체를 포함하는 분자가 CAR과 공동-발현될 수 있다.

[0214] 일부 실시양태에서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 CAR의 세포외 도메인에 융합된다.

[0215] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 CAR은 세포외 힌지 영역을 포함한다. 힌지 영역의 통합은 CAR-T 세포의 사이토카인 생산에 영향을 미치고 생체 내 CAR-T 세포의 확장을 개선시킬 수 있다. 예시적인 힌지는 IgD 및 CD8 도메인, 예를 들어 IgG1로부터 단리되거나 유래될 수 있다. 일부 실시양태에서, 힌지는 CD8α 또는 CD28로부터 단리되거나 유래된다.

[0216] 일부 실시양태에서, 힌지는 CD8α 또는 CD28로부터 단리되거나 유래된다. 일부 실시양태에서, CD8α 힌지는 TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD(서열번호: 7)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD8α 힌지는 서열번호: 7을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD8α 힌지는 서열번호: 7로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, CD8α 힌지는 ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT(서열번호: 8)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, CD8α 힌지는 서열번호: 8에 의해 암호화된다.

[0217] 일부 실시양태에서, CD28 힌지는 CTIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKP(서열번호: 9)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD28 힌지는 서열번호: 9을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, CD28 힌지는 TGTACCATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCC(서열번호: 10)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, CD28 힌지는 서

열번호: 10에 의해 암호화된다.

[0218] 본 개시내용의 CAR은 CAR의 세포외 도메인에 융합되는 막관통 도메인을 포함하도록 설계될 수 있다. 일부 실시양태에서, CAR의 도메인 중 하나와 자연적으로 연관된 막관통 도메인이 사용된다. 예를 들어, CD28 공동 자극 도메인을 포함하는 CAR은 또한 CD28 막관통 도메인을 사용할 수 있다. 일부 경우에, 막관통 도메인은 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하기 위해 동일하거나 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 대한 이러한 도메인의 결합을 피하도록 선택되거나 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다.

[0219] 막관통 도메인은 천연 또는 합성 공급원으로부터 유래될 수 있다. 공급원이 천연인 경우, 도메인은 막 결합 단백질 또는 막관통 단백질에서 유래될 수 있다. 막관통 영역은 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 사슬, CD28, CD3 입실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154로부터 단리되거나 유래될 수 있거나(즉, 이들의 적어도 막관통 영역(들)을 포함할 수 있거나), IgG4와 같은 면역글로불린으로부터 단리되거나 유래될 수 있다. 대안적으로, 막관통 도메인은 합성일 수 있으며, 이 경우 그것은 주로 류신 및 발린과 같은 소수성 잔기를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체는 합성 막관통 도메인의 각 말단에서 발견될 것이다. 임의로, 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커, 바람직하게는 2 내지 10개 아미노산 길이가 CAR의 막관통 도메인과 세포질 신호전달 도메인 사이의 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체는 특히 적합한 링커를 제공한다.

[0220] 본 개시내용의 CAR의 일부 실시양태에서, CAR은 CD28 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD28 막관통 도메인은 FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV(서열번호: 11)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD28 막관통 도메인은 서열번호: 11을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, CD28 막관통 도메인은 TTCTGGGTGCTGGTCGTTGTGGGCGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACAGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG(서열번호: 12)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, CD28 막관통 도메인은 서열번호: 12에 의해 암호화된다.

[0221] 본 개시내용의 CAR의 일부 실시양태에서, CAR은 IL-2R베타 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, IL-2R베타 막관통 도메인은 IPWLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLI(서열번호: 13)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, IL-2R베타 막관통 도메인은 서열번호: 13을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, IL-2R베타 막관통 도메인은 ATTCCGTGGC TCGGCCACCT CCTCGTGGGC CTCAGCGGGG CTTTTGGCTT CATCATCTTA GTGTACTTGC TGATC(서열번호: 14)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, IL-2R베타 막관통 도메인은 서열번호: 14에 의해 암호화된다.

[0222] 본 개시내용의 CAR의 세포질 도메인 또는 그렇지 않으면 세포내 신호전달 도메인은 CAR이 배치된 면역 세포의 정상 이펙터 기능 중 적어도 하나의 활성화를 담당한다. 용어 "이펙터 기능"은 세포의 특화된 기능을 지칭한다. 따라서 용어 "세포내 신호전달 도메인"은 이펙터 기능 신호를 전달하고 세포가 특화된 기능을 수행하도록 지시하는 단백질 부분을 지칭한다. 일반적으로 전체 세포내 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에 전체 도메인을 사용할 필요는 없다. 세포내 신호전달 도메인의 절단된 부분이 사용되는 한, 이러한 절단된 부분은 이펙터 기능 신호를 전달하는 한 온전한 사슬 대신에 사용될 수 있다. 일부 경우에, 다수의 세포내 도메인이 조합되어 본 개시내용의 CAR-T 세포의 원하는 기능을 달성할 수 있다. 용어 세포내 신호전달 도메인은 따라서 이펙터 기능 신호를 전달하기에 충분한 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인의 임의의 절단된 부분을 포함하는 것을 의미한다.

[0223] 본 개시내용의 CAR에 사용하기 위한 세포내 신호전달 도메인의 예는 T 세포 수용체(TCR) 및 항원 수용체 결합 후 신호전달을 개시하기 위해 함께 작용하는 공동-수용체의 세포질 서열, 뿐만 아니라 동일한 기능적 능력을 갖는 이들 서열의 임의의 유도체 또는 변이체 및 임의의 합성 서열을 포함한다.

[0224] 따라서, 본 개시내용의 CAR의 세포내 도메인은 적어도 하나의 세포질 활성화 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포 내 활성화 도메인은 CAR T-세포의 이펙터 기능을 활성화하는 데 필요한 T-세포 수용체(TCR) 신호전달이 있음을 보장한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 세포질 활성화는 CD247 분자(CD3ζ) 활성화 도메인, 자극 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체(KIR) KIR2DS2 활성화 도메인, 또는 12 kDa의 DNAX-활성화 단백질(DAP12) 활성화 도메인이다.

[0225] 일부 실시양태에서, CD3ζ 활성화 도메인은 RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR(서열번호: 15)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0226] 일부 실시양태에서, CD3ζ 활성화 도메인은 서열번호: 15를 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, CD3ζ 활성화 도메인은 AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTT TTGGACAAGCGTAGAGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCG GAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGACTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGAC GCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC(서열번호: 16)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, CD3ζ 활성화 도메인은 서열번호: 16에 의해 암호화된다.

[0227] TCR 단독으로 생성된 신호는 종종 T 세포의 완전한 활성화에 불충분하며 2차 또는 공동 자극 신호도 필요하다는 것이 알려져 있다. 따라서, T 세포 활성화는 세포질 신호 서열의 2가지 별개 부류에 의해 매개된다고 말할 수 있다: TCR을 통해 항원-의존성 1차 활성화를 개시하는 서열(1차 세포질 신호전달 서열) 및 항원-비의존적 방식으로 작용하여 2차 또는 공동 자극 신호를 제공하는 서열(2차 세포질 신호전달 서열).

[0228] 1차 세포질 신호전달 서열은 자극 방식 또는 억제 방식으로 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절한다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포질 신호전달 서열은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 알려진, 신호전달 모티프를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, ITAM은 류신 또는 이소류신으로부터 임의의 2개의 다른 아미노산(YxxL/I(서열번호: 546))에 의해 분리된 티로신을 함유한다. 일부 실시양태에서, 세포질 도메인은 1, 2, 3, 4 또는 5개의 ITAM을 함유한다. 세포질 도메인을 함유하는 예시적인 ITAM은 CD3ζ 활성화 도메인이다. 본 개시내용의 CAR에 사용될 수 있는 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 추가 예는 TCRζ, FcRγ, FcRβ, CD3γ, CD3δ, CD3ε, CD3ζ, CD5, CD22, CD79a, CD79b, 및 CD66d로부터 유래된 것들을 포함한다.

[0229] 일부 실시양태에서, 단일 ITAM을 포함하는 CD3ζ 활성화 도메인은 RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLHMQALPPR(서열번호: 17)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD3ζ 활성화 도메인은 서열번호: 17을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단일 ITAM을 포함하는 CD3ζ 활성화 도메인은 RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLHMQALPPR(서열번호: 17)의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 단일 ITAM을 포함하는 CD3ζ 활성화 도메인은 AGAGTGAAGT TCAGCAGGAG CGCAGACGCC CCCGCGTACC AGCAGGGCCA GAACCAGCTC TATAACGAGC TCAATCTAGG ACGAAGAGAG GAGTACGATG TTTTGCACAT GCAGGCCCTG CCCCCTCGC(서열번호: 18)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, CD3ζ 활성화 도메인은 서열번호: 18에 의해 암호화된다.

[0230] 일부 실시양태에서, CAR의 세포질 도메인은 CD3ζ 신호전달 도메인을 그 자체로 또는 본 개시내용의 CAR의 맥락에서 유용한 임의의 다른 원하는 세포질 도메인(들)과 조합하여 포함하도록 설계될 수 있다. 예를 들어, CAR의 세포질 도메인은 CD3ζ 사슬 부분 및 공동 자극 도메인을 포함할 수 있다. 공동 자극 도메인은 공동자극 분자의 세포 내 도메인을 포함하는 CAR의 일부를 지칭한다. 공동자극 분자는 항원에 대한 림프구의 효율적인 반응에 필요한 항원 수용체 또는 그 리간드 이외의 세포 표면 분자이다. 이러한 분자의 예는 IL-2Rβ, Fc 수용체 감마(FcRγ), Fc 수용체 베타(FcRβ), CD3g 분자 감마(CD3γ), CD3δ, CD3ε, CD5 분자(CD5), CD22 분자(CD22), CD79a 분자(CD79a), CD79b 분자(CD79b), 암 배아 항원 관련 세포 부착 분자 3(CD66d), CD27 분자(CD27), CD28 분자(CD28), TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원 9(4-1BB), TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원 4(OX40), TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원 8(CD30), CD40 분자(CD40), 프로그래밍된 세포 사멸 1(PD-1), 유도성 T 세포 공동자극(ICOS), 림프구 기능 연관 항원-1(LFA-1), CD2 분자(CD2), CD7 분자(CD7), TNF 수퍼패밀리 구성원 14(LIGHT), 살해 세포 렉틴 유사 수용체 C2(NKG2C) 및 CD276 분자(B7-H3) c-자극 도메인, 또는 이의 기능적 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된 공동 자극 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 CAR의 세포내 도메인은 적어도 하나의 공동 자극 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 공동 자극 도메인은 CD28로부터 단리되거나 유래된다.

[0231] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 CAR의 세포내 도메인은 적어도 하나의 공동 자극 도메인을 포함한다. 일부

실시양태에서, 공동 자극 도메인은 CD28로부터 단리되거나 유래된다. 일부 실시양태에서, CD28 공동 자극 도메인은 RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS(서열번호: 19)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, CD28 공동 자극 도메인은 서열번호: 19을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, CD28 공동 자극 도메인은 AGGAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACATGAACATGACCCCCCGGAGGCCTGGCCCCACCCGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCTCCCAGG GATTTCGCCGCCTACCGGAGC(서열번호: 20)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, CD28 공동 자극 도메인은 서열번호: 20에 의해 암호화된다.

[0232] 일부 실시양태에서, 공동 자극 도메인은 4-1BB로부터 단리되거나 유래된다. 일부 실시양태에서, 4-1BB 공동 자극 도메인은 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(서열번호: 283)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 4-1BB 공동 자극 도메인은 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(서열번호: 283)을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 4-1BB 공동 자극 도메인은 AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGGCCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAA GAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG(서열번호: 284)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다.

[0233] 일부 실시양태에서, CAR의 세포 내 도메인은 CD28 공동 자극 도메인, 4-1BB 공동자극 도메인, 및 CD3ζ 활성화 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서 CAR의 세포내 도메인은 RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR(서열번호: 285)의 서열, 또는 이와 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0234] 본 개시내용의 CAR의 세포질 신호전달 부분 내 세포질 도메인은 무작위 또는 지정된 순서로 서로 연결될 수 있다. 임의로, 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커, 예를 들어 2 내지 10개 아미노산 길이는 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체는 적합한 예시를 제공한다. 예시적인 링커는 GGGGSGGGGSGGGGSGG(서열번호: 152)의 서열을 포함한다.

[0235] 본 개시내용의 CAR의 세포질 신호전달 부분 내 세포질 도메인은 무작위 또는 지정된 순서로 서로 연결될 수 있다. 임의로, 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커, 예를 들어 2 내지 10개 아미노산 길이는 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체는 적합한 예시를 제공한다. 본 개시내용의 예시적인 전장 활성화제 수용체는 표 20에 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 표 20에 제시된 바와 같은 서열번호: 286-347의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 표 20에 제시된 바와 같은 서열번호: 286-347의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 288의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 297의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 301의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 302의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 303의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 314의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 335의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 340의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 활성화제 수용체는 서열번호: 344의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0236] 본 개시내용의 CAR의 세포질 신호전달 부분 내 세포질 도메인은 무작위 또는 지정된 순서로 서로 연결될 수 있다. 선택적으로, 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커, 예를 들어 2 내지 10개 아미노산 길이는 연결을 형성할

수 있다. 글리신-세린 이중체는 적합한 링커의 예시를 제공한다.

[0237] T 세포 수용체(TCR)

[0238] 본 개시내용은 제1, 활성화제 수용체 및 이를 포함하는 면역 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 T 세포 수용체 (TCR)이다.

[0239] 본원에서 사용되는 바와 같이, 때때로 "TCR 복합체" 또는 "TCR/CD3 복합체"라고도 하는 "TCR"은 TCR 알파 사슬, TCR 베타 사슬, 및 때때로 서브유닛으로 지칭되는, 불변 CD3 사슬(제타, 감마, 델타 및 입실론) 중 하나 이상을 포함하는 단백질 복합체를 지칭한다. TCR 알파 및 베타 사슬은 펩티드-MHC 복합체에 결합하는 이종이량체로서 기능하도록 이황화 연결될 수 있다. TCR 알파/베타 이종이량체가 펩티드-MHC와 결합하면, 연관 불변 CD3 서브유닛에서 TCR 복합체의 구조적 변화가 유도되어, 인산화 및 다운스트림 단백질과의 회합을 유도하여 1차 자극 신호를 전달한다. 예시적인 TCR 복합체에서, TCR 알파 및 TCR 베타 폴리펩티드는 이종이량체를 형성하고, CD3 입실론 및 CD3 델타는 이종이량체를 형성하고, CD3 입실론 및 CD3 감마는 이종이량체를 형성하고, 2개의 CD3 제타는 동종이량체를 형성한다.

[0240] 임의의 적합한 리간드 결합 도메인은 본원에 기재된 TCR의 세포외 도메인, 힌지 도메인 또는 막관통에 융합될 수 있다. 예를 들어, 리간드 결합 도메인은 항체 또는 TCR의 항원 결합 도메인이거나, 항체 단편, Vβ 단독 도메인, 선형 항체, 단일 사슬 가변 단편(scFv), 또는 단일 도메인 항체(sdAb)를 포함할 수 있다.

[0241] 일부 실시양태에서, 리간드 결합 도메인은 하나 이상의 TCR 서브유닛의 하나 이상의 세포외 도메인 또는 막관통 도메인에 융합된다. TCR 서브유닛은 TCR 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 입실론, CD3 감마 또는 CD3 제타일 수 있다. 예를 들어, 리간드 결합 도메인은 TCR 알파, 또는 TCR 베타에 융합될 수 있거나, 리간드 결합 도메인의 일부는 2개의 서브유닛에 융합될 수 있으며, 예를 들어 리간드 결합 도메인의 일부는 TCR 알파 및 TCR 베타 모두에 융합될 수 있다.

[0242] TCR 서브유닛은 TCR 알파, TCR 베타, CD3 제타, CD3 델타, CD3 감마 및 CD3 입실론을 포함한다. TCR 알파, TCR 베타 사슬, CD3 감마, CD3 델타, CD3 입실론, 또는 CD3 제타, 또는 이의 단편 또는 유도체 중 임의의 하나 이상은 본 개시내용의 자극 신호를 제공할 수 있는 하나 이상의 도메인에 융합될 수 있으며, 이로써 TCR 기능 및 활성을 향상시킨다.

[0243] 임의의 공급원으로부터 단리되거나 유래된 TCR 막관통 도메인은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 막관통 도메인은 천연 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 공급원이 천연인 경우, 도메인은 임의의 막 결합 단백질 또는 막관통 단백질로부터 유래될 수 있다.

[0244] 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 TCR 복합체가 표적에 결합할 때마다 세포내 도메인(들)에 신호 전달할 수 있다. 본 개시내용의 특정 용도의 막관통 도메인은 적어도 예를 들어, TCR의 알파, 베타 또는 제타 사슬, CD3 델타, CD3 입실론 또는 CD3 감마, CD28, CD3 입실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154의 막관통 영역(들)을 포함할 수 있다.

[0245] 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 힌지, 예를 들어, 인간 단백질로부터의 힌지를 통해 TCR의 폴리펩티드의 세포외 영역, 예를 들어, TCR 알파 또는 베타 사슬의 항원 결합 도메인에 부착될 수 있다. 예를 들어, 힌지는 인간 면역글로불린(Ig) 힌지, 예를 들어, IgG4 힌지, 또는 CD8a 힌지일 수 있다. 일부 실시양태에서, 힌지는 CD8α 또는 CD28로부터 단리되거나 유래된다.

[0246] 일부 실시양태에서, 세포외 리간드 결합 도메인은 TCR의 하나 이상의 막관통 도메인에 부착된다. 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 TCR 알파 막관통 도메인, TCR 베타 막관통 도메인, 또는 둘 모두를 포함한다. 일부 실시양태에서, 막관통은 CD3 제타 막관통 도메인을 포함한다.

[0247] 막관통 도메인 막관통 영역에 인접한 하나 이상의 추가 아미노산, 예를 들어, 막관통이 유래된 단백질의 세포외 영역과 관련된 하나 이상의 아미노산(예를 들어, 세포외 영역의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 최대 15개 아미노산) 및/또는 막관통이 유래된 단백질의 세포내 영역과 관련된 하나 이상의 추가 아미노산(세포내 영역의 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 최대 15개 아미노산)을 포함할 수 있다.

[0248] 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 예를 들어, 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하기 위해, 동일하거나 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 대한 이러한 도메인의 결합을 피하도록 선택되거나 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다.

[0249] 존재하는 경우, 막관통 도메인은 천연 TCR 막관통 도메인, 이종 막 단백질로부터의 천연 막관통 도메인, 또는 인공 막관통 도메인일 수 있다. 막관통 도메인은 막 앵커 도메인일 수 있다. 제한 없이, 천연 또는 인공 막관통 도메인은 약 20개 아미노산의 소수성 α-나선을 포함할 수 있으며, 종종 막관통 세그먼트의 측면에 양전하를 가진다. 막관통 도메인은 하나의 막관통 세그먼트 또는 하나 초과의 막관통 세그먼트를 가질 수 있다. 막관통 도메인/세그먼트의 예측은 공개적으로 이용 가능한 예측 도구를 사용하여 이루어질 수 있다(예를 들어, TMHMM, Krogh 등. Journal of Molecular Biology 2001; 305(3):567-580; 또는 TMpred, Hofmann & Stoffel Biol. Chem. Hoppe-Seyler 1993; 347: 166). 막 앵커 시스템의 비제한적 예는 혈소판 유래 성장 인자 수용체(PDGFR) 막관통 도메인, 글리코실포스파티딜이노시톨(GPI) 앵커(신호 서열에 번역 후 첨가됨) 등을 포함한다.

[0250] 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 TCR 알파 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 알파 막관통 도메인은 VIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLW(서열번호: 21)의 서열과 적어도 85% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 알파 막관통 도메인은 서열번호: 21을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, TCR 알파 막관통 도메인은 GTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGG(서열번호: 22)의 서열에 의해 암호화된다.

[0251] 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 TCR 베타 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 베타 막관통 도메인은 TILYEILLGKATLYAVLVSALVL(서열번호: 23)의 서열과 적어도 85% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 베타 막관통 도메인은 서열번호: 23를 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, TCR 베타 막관통 도메인은 ACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTG(서열번호: 24)의 서열에 의해 암호화된다.

[0252] 본 발명의 TCR은 하나 이상의 세포내 도메인을 포함할 수 있다. 본 개시내용에서 사용하기 위한 세포내 도메인을 포함하는 예시적인 TCR은 2020년 9월 6일에 출원된 PCT/US2020/045250에 기재되어 있으며, 그 내용은 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 막관통 도메인에 자극 신호를 제공할 수 있는 하나 이상의 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 자극 신호를 제공할 수 있는 제1 세포내 도메인 및 자극 신호를 제공할 수 있는 제2 세포내 도메인을 포함한다. 다른 실시양태에서, 세포내 도메인은 자극 신호를 제공할 수 있는 제1, 제2 및 제3 세포내 도메인을 포함한다. 자극 신호를 제공할 수 있는 세포내 도메인은 CD28 분자(CD28) 도메인, LCK 원발암유전자, Src 계열 티로신 키나제(Lck) 도메인, TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원 9(4-1BB) 도메인, TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원 18(GITR) 도메인, CD4 분자(CD4) 도메인, CD8a 분자(CD8a) 도메인, FYN 원발암유전자, Src 계열 티로신 키나제(Fyn) 도메인, T 세포 수용체 연관 단백질 키나제 70의 제타 사슬(ZAP70) 도메인, T 세포의 활성화를 위한 링커(LAT) 도메인, 림프구 시토졸 단백질 2(SLP76) 도메인, (TCR) 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 감마 및 CD3 입실론 세포내 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0253] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 신호전달 도메인은 세포의 기능, 예를 들어 TCR 함유 세포, 예를 들어, TCR-발현 T-세포의 면역 이펙터 기능을 촉진하는 신호를 생성한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 제1 수용체의 세포내 도메인은 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 예를 들어, CD3 감마, 델타 또는 입실론의 세포내 도메인은 신호전달 도메인을 포함한다.

[0254] 일부 실시양태에서, 세포외 도메인, 막관통 도메인 및 세포 내 도메인은 동일한 단백질, 예를 들어 T-세포 수용체(TCR) 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 감마, CD3 입실론 또는 CD3 제타로부터 단리되거나 유래된다.

[0255] 본 개시내용의 활성화제 수용체에서 사용하기 위한 세포내 도메인의 예는 TCR 알파, TCR 베타, CD3 제타, 및 4-1BB의 세포질 서열, 및 항원 수용체 결합 후 신호전달을 개시하기 위해 함께 작용하는 세포내 신호전달 공동-수용체, 뿐만 아니라 동일한 기능적 능력을 갖는 이들 서열의 임의의 유도체 또는 변이체 및 임의의 재조합 서열을 포함한다.

[0256] 일부 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 예시적인 1차 세포내 신호전달 도메인은 1차 자극, 또는 항원 의존적 자극을 담당하는 단백질로부터 유도된 것들을 포함한다.

[0257] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 CD3 델타 세포내 도메인, CD3 입실론 세포내 도메인, CD3 감마 세포내 도메인, CD3 제타 세포내 도메인, TCR 알파 세포내 도메인 또는 TCR 베타 세포내 도메인을 포함한다.

[0258] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 TCR 알파 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 알파 세포내 도메인은 Ser-Ser를 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 알파 세포내 도메인은 TCCAGC의 서열에 의해 암호화된다.

[0259] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 TCR 베타 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 베타 세포내 도메인은 MAMVKRKDSR(서열번호: 25)의 서열과 적어도 80% 동일성, 적어도 90% 동일성을 갖거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 베타 세포내 도메인은 서열번호: 25를 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시양태에서, TCR 베타 세포내 도메인은 ATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGA(서열번호: 26)의 서열에 의해 암호화된다.

[0260] 일부 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 적어도 하나의 자극 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3 델타, CD3 감마 및 CD3 입실론 세포내 도메인, 및 하나의 추가 자극 세포내 도메인, 예를 들어 공동 자극 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3 델타, CD3 감마 및 CD3 입실론 세포내 도메인, 및 2개의 추가 자극 세포내 도메인을 포함한다.

[0261] 예시적인 공동 자극 세포내 신호전달 도메인은 공동 자극 신호, 또는 항원 독립적 자극을 담당하는 단백질로부터 유래된 것들을 포함한다. 공동 자극 분자는 MHC 클래스 I 분자, BTLA, Toll 리간드 수용체뿐만 아니라 DAP10, DAP12, CD30, LIGHT, OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1(CD11a/CD18) 4-1BB(CD137, TNF 수용체 수퍼패밀리 구성원 9) 및 CD28 분자(CD28)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 공동 자극 단백질은 다음 단백질 계열로 나타낼 수 있다: TNF 수용체 단백질, 면역글로불린 유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM 단백질) 및 활성화 NK 세포 수용체. 이러한 분자의 예는 CD27, CD28, 4-1BB(CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFFR, HVEM, 림프구 기능 연관 항원-1(LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3, CD4, CD83과 특이적으로 결합하는 리간드 등을 포함한다. 공동 자극 도메인은 이것이 유래된 분자, 또는 이의 기능적 변이체의 전체 세포내 부분, 또는 전체 천연 세포내 신호전달 도메인을 포함할 수 있다.

[0262] 일부 실시양태에서, 자극 도메인은 공동 자극 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 공동 자극 도메인은 CD28 또는 4-1BB 공동 자극 도메인을 포함한다. CD28 및 4-1BB 완전한 T 세포 활성화에 필요하고 T 세포 이펙터 기능을 향상시키는 것으로 알려진 잘 특징화된 공동 자극 분자이다. 예를 들어, CD28 및 4-1BB는 CD3 제타 신호전달 도메인만 함유하는 1세대 CAR에 비해 사이토카인 방출, 세포 용해 기능 및 지속성을 높이기 위해 키메라 항원 수용체에 활용되었다. 마찬가지로, TCR에 공동 자극 도메인, 예를 들어 CD28 및 4-1BB 도메인의 포함은 T 세포 이펙터 기능을 증가시킬 수 있으며 일반적으로 표면에서 하향 조절되는 공동 자극 리간드가 부재한 경우 공동 자극을 특이적으로 허용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 자극 도메인은 CD28 세포내 도메인 또는 4-1BB 세포내 도메인을 포함한다.

[0263] ***억제 수용체***

[0264] 본 개시내용은 암 세포에서 소실된 비-표적 항원, 예를 들어 유전자의 대립유전자 변이체에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체를 제공한다. 비-표적 대립유전자 변이체는 제한 없이 비-표적 대립유전자 변이체 발현에 영향을 미치는 후생유전학적 변화, 비-표적 대립유전자 변이체를 암호화하는 유전자에 대한 돌연변이, 비-표적 대립유전자 변이체의 발현을 조절하는 세포 신호전달의 파괴, 염색체 소실, 게놈 유전자좌의 부분적 또는 완전한 결실, 핵산 또는 이질염색질의 변형을 통한 유전자 침묵, 또는 다른 메커니즘을 통한 발현 상실과 같은 임의의 메커니즘을 통해 암 세포에서 소실될 수 있다. 본원에 개시된 조성물 및 방법의 변형에서, 치료된 세포 또는 대상체는 비-유전적 변화로 인해 비-표적 대립유전자 변이체의 발현 상실을 나타낼 수 있다. 따라서, 본 개시내용은 세포를 사멸시키고/시키거나 이형접합성의 소실을 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 원인으로부터 비-표적 항원의 발현이 결여된 대상체를 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0265] 비-표적 항원은 단백질, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드일 수 있고, 여기서 비-표적 항원은 다형성을 포함한다. 비-표적 항원은 다형성이기 때문에, 암 세포에서 이형접합성의 소실을 통해 발생할 수 있는, 비-표적 항원을 암호화하는 유전자의 단일 복제본의 소실은 유전자의 다른 다형성 변이체를 유지하는 암 세포를 산출하지만, 비-표적 항원을 소실한다. 예를 들어, HLA 유전자좌에서 HLA-A*02 및 HLA-A*01 대립유전자를 갖는 대상체는 HLA-A*02 대립유전자만이 소실되는 암에 걸릴 수 있다. 또 다른 예로, HLA 유전자좌에서 HLA-A*03 및 HLA-A*01 대립유전자를 갖는 대상체는 HLA-A*03 대립유전자만이 손실된 암

에 걸릴 수 있다. 그러한 대상체에서, 억제제 수용체가 HLA-A*02, HLA-A*03, 또는 다른 비-표적 항원에 특이적인 것으로 설계되기 때문에 HLA-A*01 단백질은 존재하지만, 암 세포와 마주치는 면역 세포의 억제 수용체에 의해 인식되지 않는다. 정상 비-악성 세포에서, HLA-A*02, HLA-A*03, 또는 다른 비-표적 항원이 존재하고 조작된 면역 세포의 활성화를 억제한다. 이형접합성이 소실된 암 세포에서는, HLA-A*02, HLA-A*03, 또는 다른 대립유전자 변이체가 소실된다. 억제 수용체를 발현하도록 조작된 면역 세포는 억제 수용체가 암 세포에 없는 HLA-A*02, HLA-A*03, 또는 다른 비-표적 항원에만 반응하기 때문에, 억제 수용체로부터 억제 신호를 받지 않는다. 이 메커니즘에 의해, 면역 세포는 선택적으로 활성화되어, MSLN을 발현하지만 이형접합성의 소실로 인해 HLA-A*02(또는 또 다른 비-표적 항원)를 소실한 암 세포를 선택적으로 사멸시킨다. HLA-A를 여기서 예로 사용한다. 유사한 다형성 변이가 다른 MHC 유전자 및 다른 비-MHC 유전자 집단에서도 발생한다. 따라서, 본 개시내용은 세포간 접착 분자 1(ICAM1), 카테콜-O-메틸트랜스퍼라제(COMT), C-X-C 모티프 케모카인 리간드 16(CXCL16), 류신 풍부 반복 뉴런 4(LRRN4) 및 유로플라킨 3B(UPK3B)로부터 선택된 비-표적 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드를 포함하는 제2 수용체로 비-표적 항원은 비동의, 세포외-도메인 다형성(예를 들어, ICAM1, COMT, CXCL16의 세포외 도메인에서)을 포함할 수 있는 것인 제2 수용체 및 이를 포함하는 면역 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 억제성 키메라 항원 수용체이다. 대안적으로, 비-표적 항원은 발현이 종양에서 소실되지만, 주요 MSLN-발현 정상 조직에 존재하는 단백질(예를 들어, LRRN4, UPK3B)을 포함할 수 있다.

[0266] 예시적인 억제 수용체는 2020년 9월 6일에 출원된 PCT/US2020/045228, 2020년 12월 11일에 출원된 PCT/US2020/064607, 2021년 4월 29일에 출원된 PCT/US2021/029907 및 2020년 11월 10일에 출원된 PCT/US2020/059856에 기재되어 있으며, 각 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0267] 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 인간화된다.

[0268] 본 개시내용은 비-표적 항원의 단일 아미노산 변이 대립유전자를 구별할 수 있는 세포외 리간드 결합을 포함하는 억제 수용체인, 제2 수용체를 제공한다. 비-표적 항원의 대립유전자 변이체를 구별하는 이러한 능력은 제2 수용체가 리간드 결합 도메인에 의해 인식되는 대립유전자를 발현하는 비-표적 세포의 존재 하에 제2 수용체를 포함하는 면역 세포의 활성화를 억제할 수 있게 한다. 그러나, 면역 세포의 활성화는 대립유전자를 소실한 표적 세포, 예를 들어 이형접합성의 소실을 통해 유전자의 하나의 대립유전자를 소실한 암 세포의 존재 하에서 억제되지 않는다.

[0269] 본 개시내용은 비-표적 항원의 상이한 발현 수준을 구별할 수 있는 세포외 리간드 결합을 포함하는 억제 수용체인, 제2 수용체를 제공한다. 이는 제2 수용체가 제2 수용체에 대한 리간드를 발현하는 비-표적 세포의 존재 하에 제2 수용체를 포함하는 면역 세포의 활성화를 억제할 수 있게 하지만, 제2 수용체에 대한 리간드를 낮은 수준으로 발현하거나, 발현하지 않는 암 세포의 존재 하에 면역 세포의 활성화를 허용한다.

[0270] 억제제 리간드

[0271] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 표적 세포에 의해 발현되지 않고, 비-표적 세포에 의해 발현된다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 건강한 세포, 즉 암 세포가 아닌 세포에 의해 발현된다. 일부 실시양태에서, 표적 세포는 이형접합성의 소실(LOH)을 통해 비-표적 항원의 발현을 상실한 복수의 암세포이다. 일부 실시양태에서, 비-표적 세포는 표적 및 비-표적 항원 모두를 발현하는 복수의 건강한 세포(즉, 비-암 세포)이다.

[0272] 표적 세포에 의해 발현되지 않는 비-표적 세포에 의해 발현되는 임의의 세포 표면 분자는 제2 수용체 세포외 리간드 결합 도메인에 대한 적합한 비-표적 항원일 수 있다. 예를 들어, 세포 부착 분자, 세포-세포 신호전달 분자, 세포외 도메인, 화학 주성에 수반되는 분자, 당단백질, G 단백질 결합 수용체, 막관통, 신경전달물질 수용체 또는 전압 개폐 이온 채널은 비-표적 항원으로 사용할 수 있다.

[0273] 일부 실시양태에서, 표적 항원은 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 암세포 특이적 항원의 펩티드 항원이다.

[0274] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 이형접합성의 소실로 인해 암 세포에서 소실된다. 이형접합성의 소실로 인해 암 세포에서 소실된 예시적인 비-표적 항원은 ICAM1, COMT 및 CXCL16을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 ICAM1, COMT 및 CXCL16의 다형성 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 비-표

적 항원은 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 ICAM1, COMT 또는 CXCL16의 다형성 잔기를 포함하는 항원 펩티드이다.

[0275] 임의의 HLA-A, HLA-B, HLA-C 또는 HLA-E를 포함하는 비-표적 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I MHC-I(또는 pMHC-I) 항원은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 주요 조직 적합성 복합체(MHC) 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, MHC는 MHC 클래스 I이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 인간 백혈구 항원(HLA) 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, 또는 HLA-E로 이루어진 군으로부터 선택되는 HLA 클래스 I 단백질의 대립유전자를 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A 대립유전자는 HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03 또는 HLA-A*11을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-B 대립유전자는 HLA-B*07을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*07을 포함한다.

[0276] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A의 대립유전자를 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A의 대립유전자는 HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03 또는 HLA-A*11을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*69를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 인간 백혈구 항원 A*02 대립유전자(HLA-A*02)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 인간 백혈구 항원 A*03 대립유전자(HLA-A*03)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 인간 백혈구 항원 A*11 대립유전자(HLA-A*11)를 포함한다.

[0277] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-B의 대립유전자를 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-B의 대립유전자는 HLA-B*07을 포함한다.

[0278] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-C를 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*07을 포함한다.

[0279] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 ICAM1 또는 MHC-I과 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드를 포함한다. 인간 ICAM1은 암 세포에서 LOH를 통해 자주 소실된다.

[0280] 야생형 인간 ICAM1은 NCBI 기록 번호 NP_000192.2에 기재되어 있으며, 그 내용은 이의 전체가 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, ICAM1은 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0281] 1 MAPSSPRPAL PALLVLLGAL FPGPGNAQTS VSPSKVILPR GGSVLVTCST SCDQPKLLGI

[0282] 61 ETPLPKKELL LPGNNRKVYE LSNVQEDSQP MCYSNCPDGQ STAKTFLTVY WTPERVELAP

[0283] 121 LPSWQPVGKN LTLRCQVEGG APRANLTVVL LRGEKELKRE PAVGEPAEVT TTVLVRRDHH

[0284] 181 GANFSCRTEL DLRPQGLELF ENTSAPYQLQ TFVLPATPPQ LVSPRVLEVD TQGTVVCSLD

[0285] 241 GLFPVSEAQV HLALGDQRLN PTVTYGNDSF SAKASVSVTA EDEGTQRLTC AVILGNQSQE

[0286] 301 TLQTVTIYSF PAPNVILTKP EVSEGTEVTV KCEAHPRAKV TLNGVPAQPL GPRAQLLLKA

[0287] 361 TPEDNGRSFS CSATLEVAGQ LIHKNQTREL RVLYGPRLDE RDCPGNWTWP ENSQQTPMCQ

[0288] 421 AWGNPLPELK CLKDGTFPLP IGESVTVTRD LEGTYLCRAR STQGEVTR**K**V TVNVLSPRYE

[0289] 481 IVIITVVAAA VIMGTAGLST YLYNRQRKIK KYRLQQAQKG TPMKPNTQAT PP(서열번호: 27).

[0290] 일부 실시양태에서, ICAM1은 서열번호: 27과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함한다. ICAM1의 다형성 잔기는 서열번호: 27에서 볼드체로 표시되고 밑줄이 그어져 있다. 예를 들어, rs5498은 서열번호: 27의 위치 469에서 다형성이며, 이는 K 또는 E일 수 있다.

[0291] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 ICAM1의 다형성을 포함한다. 예를 들어, 비-표적 항원은 ICAM1의 다형성 잔기를 포함하는 ICAM1로부터 유래된 펩티드를 포함한다. ICAM1의 다형성 잔기는 서열번호: 27의 아미노산 잔기 469를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 27의 아미노산 469를 포함하는 ICAM1의 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 27의 위치 469에 K를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 27의 위치 469에 E를 포함한다.

[0292] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 27의 위치 469에 K를 갖는 ICAM1 다형성을 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 27의 위치 469에 E를 갖는 ICAM1 리간드에 대한 것보다 서열번호: 27의 위치 469에 K를 갖는 ICAM1 리간드에 대해 더 높은 친화도를 갖는 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 27의 위치 469에 E를 갖는 ICAM1 다형성을 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 27의 위치 469에 K를 갖는 ICAM1 리간드에 대한 것보다 서열번호: 27의 위치 469에 E를 갖는 ICAM1 리간드에 대해 더 높은 친화도를 갖는 리간드 결합 도메인을 포함한다.

[0293] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 COMT 또는 MHC-I와 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드를 포함한다. 인간 COMT는 암 세포에서 LOH를 통해 자주 소실된다.

[0294] 야생형 인간 COMT는 NCBI 기록 번호 NP_000192.2에 기재되어 있으며, 그 내용은 이의 전체가 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, COMT는 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0295] 1 MPEAPPLLLA AVLLGLVLLV VLLLLLRHWG WGLCLIGWNE FILQPIHNLL MGDTKEQRIL

[0296] 61 NHVLQHAEPG NAQSVLEAID TYCEQKEWAM NVGDKKGKIV DAVIQEHQPS VLLELGAYCG

[0297] 121 YSAVRMARLL SPGARLITIE INPDCAAITQ RMVDFAG**V**KD KVTLVVGASQ DIIPQLKKKY

[0298] 181 DVDTLDMVFL DHWKDRYLPD TLLLEECGLL RKGTVLLADN VICPGAPDFL AHVRGSSCFE

[0299] 241 CTHYQSFLEY REVVDGLEKA IYKGPGSEAG P(서열번호: 28).

[0300] 일부 실시양태에서, COMT는 서열번호: 28과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함한다. COMT의 다형성 잔기는 서열번호: 28에서 볼드체로 표시되고 밑줄이 그어져 있다. 예를 들어, V158M은 서열번호: 28의 위치 158에서 다형성이며, 이는 V 또는 M일 수 있다.

[0301] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 COMT의 다형성을 포함한다. 예를 들어, 비-표적 항원은 COMT의 다형성 잔기를 포함하는 COMT로부터 유래된 펩티드를 포함한다. COMT 1의 다형성 잔기는 서열번호: 28의 아미노산 잔기 158을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 28의 아미노산 158을 포함하는 COMT의 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 28의 위치 158에 V를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 28의 위치 158에 M을 포함한다.

[0302] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 28의 위치 158에 V를 갖는 COMT 다형성을 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 28의 위치 158에 M을 갖는 COMT 리간드에 대한 것보다 서열번호: 28의 위치 158에 V를 갖는 COMT 리간드에 대해 더 높은 친화도를 갖는 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 28의 위치 158에 M을 갖는 COMT 다형성을 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 28의 위치 158에 V를 갖는 COMT 리간드에 대한 것보다 서열번호: 28의 위치 158에 M을 갖는 COMT 리간드에 대해 더 높은 친화도를 갖는 리간드 결합 도메인을 포함한다.

[0303] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 C-X-C 모티프 케모카인 리간드 16(CXCL16) 또는 MHC-I과 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드를 포함한다. 인간 CXCL16 전구체는 NCBI 기록 번호 NP_001094282.1에 기재되어 있으며, 그 내용은 이의 전체가 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, CXCL16은 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0304] 1 MSGSQSEVAP SPQSPRSPEM GRDLRPGSRV LLLLLLLLLV YLTQPGNGNE GSVTGSCYCG

[0305] 61 KRISSDSPPS VQFMNRLRKH LRAYHRCLYY TRFQLLSWSV CGGNKDPWVQ ELMSCLDLKE

[0306] 121 CGHAYSGIVA HQKHLLPTSP P**I**SQASEGAS SDIHTPAQML LSTLQSTQRP TLPVGSLSSD

[0307] 181 KELTRPNETT IHTAGHSLA**A** GPEAGENQKQ PEKNAGPTAR TSATVPVLCL LAIIFILTAA

[0308] 241 LSYVLCKRRR GQSPQSSPDL PVHYIPVAPD SNT(서열번호: 29).

[0309] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 CXCL16의 다형성을 포함한다. 예를 들어, 비-표적 항원은 CXCL16의 다형성 잔기를 포함하는 CXCL16으로부터 유래된 펩티드를 포함한다. CXCL16의 다형성 잔기는 서열번호: 29의 위치 142 및 200을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 142 또는 200을 포함하는 CXCL16의 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 200에서 A를 포함하는 CXCL16의 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 200에서 V를 포

함하는 CXCL16의 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 142에서 I를 포함하는 CXCL16의 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 142에서 T를 포함하는 CXCL16의 펩티드를 포함한다.

[0310] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 CXCL16의 다형성을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 200에서 A를 포함하는 CXCL16의 펩티드를 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 29의 위치 200에서 V를 갖는 CXCL16 리간드에 대한 것보다 서열번호: 29의 위치 200에서 A를 갖는 CXCL16 리간드에 대해 더 높은 친화도를 갖는 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 200에서 V를 포함하는 CXCL16의 펩티드를 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 29의 위치 200에서 A를 갖는 CXCL16 리간드에 대한 것보다 서열번호: 29의 위치 200에서 V를 갖는 CXCL16 리간드에 대해 더 높은 친화도를 갖는 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 142에서 I를 포함하는 CXCL16의 펩티드를 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 29의 위치 142에서 T를 갖는 CXCL16 리간드에 대한 것보다 서열번호: 29의 위치 142에서 I를 갖는 CXCL16 리간드에 대해 더 높은 친화도를 갖는 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 서열번호: 29의 아미노산 142에서 T를 포함하는 CXCL16의 펩티드를 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 29의 위치 142에서 I를 갖는 CXCL16 리간드에 대한 것보다 서열번호: 29의 위치 142에서 T를 갖는 CXCL16 리간드에 대해 더 높은 친화도를 갖는 리간드 결합 도메인을 포함한다.

[0311] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03, HLA-A*11, HLA-B*07 또는 HLA-C*07을 포함한다. 본원에 기재된 실시양태에서 사용하기 위한 특정 HLA 대립유전자에 결합하거나 이를 인식하는 다양한 단일 가변 도메인이 표 5에 기재되어 있다. (밑줄 그어진 상보성 결정 영역):

[0312] 표 5: HLA scFv 결합 도메인

HLA-A*02 항원 결합 도메인	
DVLMTQTPLSLPVSL GDQASISCRSSQSIVH SNGNTYLEWYLQKP GQSPKLLIYKVSNRF SGVPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHVPRTSGG GTKLEIKGGGGSGGG GSGGGGSGGQVQLQ QSGPELVKPGASVRI SCKASGYTFTSYHIH WVKQRPGQGLEWIG WIYPGNVNTEYNEK FKGKATLTADKSSST AYMHLSSLTSEDSAV YFCAREEITYAMDY WGQGTSVTVSS (서열번호: 30)	GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCT GTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAG ATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAAACA CCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAG TCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCG ATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTG GATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGTAGA GTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTT TCAAGGTTCACATGTTCCTCGGACGTCCGGTGGAG GCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGAGGTGGAAG CGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGA GGCCAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCT GGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAGGATATCCTGCA AGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGTTACCATATA CATTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTTG AGTGGATTGGATGGATTTATCCTGGAAATGTTAAT ACTGAGTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCA CACTGACTGCAGACAAATCGTCCAGCACAGCCTAC ATGCACCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGC GGTCTATTTCTGTGCCAGAGAGGAGATTACCTATG CTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACC GTGTCCTCA (서열번호: 548)
QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTF TSYHIHWVRQAPGQ GLEWMGWIYPGNVN TEYNEKFKGKATITA DKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREEIT YAMDYWGQGTTVT	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAA GAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACTAGCTATCATATACATT GGGTGCGCCAGGCCCCCGGACAAGGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCTACCCTGGCAATGTTAACACAG AATATAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGCCACCATT ACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGG AGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACACGGCTGTG

[0313]

VSSGGGGSGGGGSG GGGSGGEIVLTQSPG TLSLSPGERATLSCRS SQSIVHSNGNTYLEW YQQKPGQAPRLLIYK VSNRFSGIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPED FAVYYCFQGSHVPRT FGGGTKVEIK (서열번호: 31)	TATTACTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACGCTAT GGACTACTGGGGCCAGGGAACCACAGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGAGATTGTATTG ACCCAGAGCCCAGGCACCCTGAGCCTCTCTCCAGG AGAGCGGGCCACCCTCAGTTGTAGATCCAGTCAGA GTATTGTACACAGTAATGGGAACACCTATTTGGAA TGGTATCAGCAGAAACCAGGTCAAGCCCCAAGATT GCTCATCTACAAAGTCTCTAACAGATTTAGTGGTA TTCCAGACAGGTTCAGCGGTTCCGGAAGTGGTACT GATTTCACCCTCACGATCTCCAGGCTCGAGCCAGA AGATTTCGCCGTTTATTACTGTTTTCAAGGTTCACA TGTGCCGCGCACATTCGGTGGGGGTACTAAAGTAG AAATCAAA (서열번호: 549)
QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTF TSYHIHWVRQAPGQ GLEWMGWIYPGNVN TEYNEKFKGKATITA DKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREEIT YAMDYWGQGTTVT VSSGGGGSGGGGSG GGGSGGDIVMTQTPL SLPVTPGEPASISCRS SQSIVHSNGNTYLEW YLQKPGQSPQLLIYK VSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCFQGSHV PRTFGGGTKVEIK (서열번호: 32)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAA GAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACTAGCTATCATATACATT GGGTGCGCCAGGCCCCCGGACAAGGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCTACCCTGGCAATGTTAACACAG AATATAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGCCACCATT ACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGG AGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACACGGCTGTG TATTACTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACGCTAT GGACTACTGGGGCCAGGGAACCACAGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATTGTAATG ACCCAGACCCCACTCAGCCTGCCCGTCACTCCAGG AGAGCCGGCCAGCATCAGTTGTAGATCCAGTCAGA GTATTGTACACAGTAATGGGAACACCTATTTGGAA TGGTATCTGCAGAAACCAGGTCAATCCCCACAATT GCTCATCTACAAAGTCTCTAACAGATTTAGTGGTG TACCAGACAGGTTCAGCGGTTCCGGAAGTGGTACT GATTTCACCCTCAAGATCTCCAGGGTCGAGGCAGA AGATGTCGGCGTTTATTACTGTTTTCAAGGTTCACA TGTGCCGCGCACATTCGGTGGGGGTACTAAAGTAG AAATCAAA (서열번호: 550)
EVQLVESGGGLVKP GGSLRLSCAASGYTF TSYHIHWVRQAPGK GLEWVGWIYPGNVN TEYNEKFKGRFTISR DDSKNTLYLQMNSL KTEDTAVYYCAREEI TYAMDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITC RSSQSIVHSNGNTYL EWYQQKPGKAPKLL	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGGTGGGCTGGT GAAGCCTGGGGGCTCACTGAGGCTTTCCTGCGCGG CTTCTGGATACACCTTCACTAGCTATCATATACATT GGGTGCGCCAGGCCCCCGGAAAAGGGCTTGAGTG GGTGGGATGGATCTACCCTGGCAATGTTAACACAG AATATAATGAGAAGTTCAAGGGCAGATTCACCATT AGCAGGGACGATTCCAAGAACACACTCTACCTGCA GATGAACAGCCTGAAAACTGAAGACACGGCTGTGT ATTACTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACGCTATG GACTACTGGGGCCAGGGAACCACAGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATTCAAATGA CCCAGAGCCCATCCAGCCTGAGCGCATCTGTAGGT

[0314]

[0315]

IYKVSNRFSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCFQGSHV PRTFGGGTKVEIK (서열번호: 33)	GACCGGGTCACCATCACTTGTAGATCCAGTCAGAG TATTGTACACAGTAATGGGAACACCTATTTGGAAT GGTATCAGCAGAAACCAGGTAAAGCCCCAAAATT GCTCATCTACAAAGTCTCTAACAGATTTAGTGGTG TACCAAGCAGGTTCAGCGGTTCCGGAAGTGGTACT GATTTCACCCTCACGATCTCCTCTCTCCAGCCAGAA GATTTCGCCACTTATTACTGTTTTCAAGGTTCACAT GTGCCGCGCACATTCGGTGGGGGTACTAAAGTAGA AATCAAA (서열번호: 551)
QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTF TSYHIHWVRQAPGQ GLEWIGWIYPGNVN TEYNEKFKGKATITA DESTNTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREEIT YAMDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSG GGGSGGDIQMTQSPS TLSASVGDRVTITCR SSQSIVHSNGNTYLE WYQQKPGKAPKLLI YKVSNRFSGVPARFS GSGSGTEFTLTISSLQ PDDFATYYCFQGSH VPRTFGQGTKVEVK (서열번호: 34)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAA GAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACTAGCTATCATATACATT GGGTGCGCCAGGCCCCCGGACAAGGGCTTGAGTG GATCGGATGGATCTACCCTGGCAATGTTAACACAG AATATAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGCCACCATT ACCGCGGACGAATCCACGAACACAGCCTACATGG AGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACACGGCTGTG TATTACTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACGCTAT GGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATTCAAATG ACCCAGAGCCCATCCACCCTGAGCGCATCTGTAGG TGACCGGGTCACCATCACTTGTAGATCCAGTCAGA GTATTGTACACAGTAATGGGAACACCTATTTGGAA TGGTATCAGCAGAAACCAGGTAAAGCCCCAAAATT GCTCATCTACAAAGTCTCTAACAGATTTAGTGGTG TACCAGCCAGGTTCAGCGGTTCCGGAAGTGGTACT GAATTCACCCTCACGATCTCCTCTCTCCAGCCAGAT GATTTCGCCACTTATTACTGTTTTCAAGGTTCACAT GTGCCGCGCACATTCGGTCAGGGTACTAAAGTAGA AGTCAAA (서열번호: 552)
QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTF TSYHMHWVRQAPG QGLEWIGYIYPGNVN TEYNEKFKGKATLT ADKSTNTAYMELSSL RSEDTAVYFCAREEI TYAMDYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGDVQMTQS PSTLSASVGDRVTITC SSSQSIVHSNGNTYM EWYQQKPGKAPKLL IYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCHQGS HVPRTFGQGTKVEV K (서열번호: 35)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAA GAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACTAGCTATCATATGCATT GGGTGCGCCAGGCCCCCGGACAAGGGCTTGAGTG GATCGGATACATCTACCCTGGCAATGTTAACACAG AATATAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGCCACCCTT ACCGCGGACAAATCCACGAACACAGCCTACATGG AGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACACGGCTGTG TATTTCTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACGCTAT GGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACGTTCAAATG ACCCAGAGCCCATCCACCCTGAGCGCATCTGTAGG TGACCGGGTCACCATCACTTGTAGCTCCAGTCAGA GTATTGTACACAGTAATGGGAACACCTATATGGAA TGGTATCAGCAGAAACCAGGTAAAGCCCCAAAATT GCTCATCTACAAAGTCTCTAACAGATTTAGTGGTG TACCAGACAGGTTCAGCGGTTCCGGAAGTGGTACT

	GAATTCACCCTCACGATCTCCTCTCTCCAGCCAGAT GATTTCGCCACTTATTACTGTCATCAAGGTTCACAT GTGCCGCGCACATTCGGTCAGGGTACTAAAGTAGA AGTCAAA (서열번호: 553)
QVQLQQSGPELVKP GASVKMSCKASGYT FTSYHIQWVKQRPG QGLEWIGWIYPGDGS TQYNEKFKGKTTLT ADKSSSTAYMLLSSL TSEDSAIYFCAREGT YYAMDYWGQGTSV TVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGDVLMTQT PLSLPVSLGDQVSISC RSSQSIVHSNGNTYL EWYLQKPGQSPKLLI YKVSNRFSGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRV EAEDLGVYYCFQGS HVPRTFGGGTKLEIK (서열번호: 36)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGT GAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACTAGCTATCATATCCAGT GGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GATCGGATGGATCTACCCTGGCGATGGTAGTACAC AGTATAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAACCACCCTT ACCGCGGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGTT GCTGAGCAGCCTGACCTCTGAAGACTCTGCTATCT ATTTCTGTGCGAGGGAGGGGACCTACTACGCTATG GACTACTGGGGCCAGGGAACCTCAGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGATGTTTTGATGA CCCAGACTCCACTCTCCCTGCCTGTCTCTCTTGGAG ACCAAGTCTCCATCTCTTGTAGATCCAGTCAGAGT ATTGTACACAGTAATGGGAACACCTATTTAGAATG GTATCTGCAGAAACCAGGTCAGTCTCCAAAGTTGC TCATCTACAAAGTCTCTAACAGATTTAGTGGTGTA CCAGACAGGTTCAGCGGTTCCGGAAGTGGTACTGA TTTCACCCTCAAGATCTCGAGAGTGGAGGCTGAGG ATCTGGGAGTTTATTACTGTTTTCAAGGTTCACATG TGCCGCGCACATTCGGTGGAGGTACTAAACTGGAA ATCAAA (서열번호: 554)
QLQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGYTFTS YHIQWIRQPPGKGLE WIGWIYPGDGSTQY NEKFKGRATISVDTS KNQFSLNLDSVSAAD TAIYYCAREGTYYA MDYWGKGSTVTVSS GGGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRSSQ SIVHSNGNTYLEWY QQKPGKAPKLLIYKV SNRFSGVPSRFSGSGS GTDFTFTISSLQPEDI ATYYCFQGSHVPRTF GPGTKVDIK (서열번호: 37)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGCCCGGGCTGGT GAAGCCTTCGGAAACGCTGAGCCTCACCTGCACGG TTTCTGGATACACCTTCACCAGCTATCATATCCAGT GGATCCGACAGCCCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGG ATCGGATGGATCTACCCTGGCGATGGTTCAACACA GTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACGATT AGCGTGGACACATCCAAGAACCAATTCTCCCTGAA CCTGGACAGCGTGAGTGCTGCGGACACGGCCATTT ATTACTGTGCGAGAGAGGGAACTTACTACGCTATG GACTACTGGGGCAAAGGGAGCACGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGA CCCAGAGCCCAAGCTCCCTGAGTGCGTCCGTGGGC GACCGCGTGACCATCACTTGCAGATCCTCTCAGTC CATCGTGCACTCCAACGGCAACACGTACCTCGAGT GGTACCAGCAGAAGCCCGGGAAGGCCCCGAAACT GCTCATCTACAAGGTGAGCAACCGGTTCTCCGGCG TCCCCAGCCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGGGGACG GATTTCACCTTCACGATTAGCAGCTTGCAGCCCGA AGACATCGCCACGTACTACTGCTTTCAGGGAAGTC ACGTGCCGCGTACCTTCGGGCCGGGCACGAAAGTG GATATTAAG (서열번호: 555)

[0316]

[0317]

EVQLVQSGAELKKP GSSVKVSCKASGYTF TSYHIQWVKQAPGQ GLEWIGWIYPGDGST QYNEKFKGKATLTV DKSTNTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREGT YYAMDYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGDIQMTQS PSTLSASVGDRVTITC RSSQSIVHSNGNTYL EWYQQKPGKAPKLL IYKVSNRFSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQ PDDFATYYCFQGSH VPRTFGQGTKVEVK (서열번호: 38)	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCCGAGCTGAA GAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTGTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACCAGCTATCATATCCAGT GGGTAAAACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GATCGGATGGATCTACCCTGGCGATGGTTCAACAC AGTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGCCACGCTT ACCGTGGACAAATCCACGAACACAGCCTACATGGA GCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTAT ATTACTGTGCGAGAGAGGGAACTTACTACGCTATG GACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGA CCCAGAGCCCATCCACCCTGAGTGCGTCCGTGGGC GACCGCGTGACCATCACTTGCAGATCCTCTCAGTC CATCGTGCACTCCAACGGCAACACGTACCTCGAGT GGTACCAGCAGAAGCCCGGGAAGGCCCCGAAACT GCTCATCTACAAGGTGAGCAACCGGTTCTCCGGCG TCCCCAGCCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGGGGACG GATTTCACCCTCACGATTAGCAGCTTGCAGCCCGA TGACTTCGCCACGTACTACTGCTTTCAGGGAAGTC ACGTGCCGCGTACCTTCGGGCAGGGCACGAAAGTG GAAGTTAAG (서열번호: 556)
QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTF TSYHIQWVRQAPGQ GLEWMGWIYPGDGS TQYNEKFKGRVTITA DKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREGT YYAMDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGEIVLTQSP GTLSLSPGERATLSC RSSQSIVHSNGNTYL EWYQQKPGQAPRLLI YKVSNRFSGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCFQGSH VPRTFGGGTKVEIK (서열번호: 39)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCCGAGGTGAA GAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTGTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACCAGCTATCATATCCAGT GGGTACGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCTACCCTGGCGATGGTTCAACAC AGTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAGAGTCACGATT ACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGG AGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTA TATTACTGTGCGAGAGAGGGAACTTACTACGCTAT GGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGAGATCGTCCTG ACCCAGAGCCCAGGGACCCTGAGTTTGTCCCCGGG CGAGCGCGCGACCCTCAGTTGCAGATCCTCTCAGT CCATCGTGCACTCCAACGGCAACACGTACCTCGAG TGGTACCAGCAGAAGCCCGGGCAGGCCCCGCGACT GCTCATCTACAAGGTGAGCAACCGGTTCTCCGGCA TCCCCGACCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGGGGACG GATTTCACCCTCACGATTAGCCGCTTGGAGCCCGA AGACTTCGCCGTGTACTACTGCTTTCAGGGAAGTC ACGTGCCGCGTACCTTCGGGGGGGGCACGAAAGTG GAAATTAAG (서열번호: 557)
QVTLKQSGAEVKKP GSSVKVSCTASGYTF TSYHVSWVRQAPGQ GLEWLGRIYPGDGST QYNEKFKGKVTITAD	CAGGTGACCCTGAAGCAGTCTGGGGCCGAGGTGA AGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTGTCCTGCACG GCTTCTGGATACACCTTCACCAGCTATCATGTCAGC TGGGTACGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTG GTTGGGAAGGATCTACCCTGGCGATGGTTCAACAC

[0318]

KSMDTSFMELTSLTS EDTAVYYCAREGTY YAMDLWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSG GGGSGGEIVLTQSPG TLSLSPGERATLSCRS SQSIVHSNGNTYLAW YQQKPGQAPRLLISK VSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQGSHVP RTFGGGTKVEIK (서열번호: 40)	AGTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGTCACGATT ACCGCGGACAAATCCATGGACACATCCTTCATGGA GCTGACCAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTAT ATTACTGTGCGAGAGAGGGAACTTACTACGCTATG GACCTCTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGAGATCGTCCTGA CCCAGAGCCCAGGGACCCTGAGTTTGTCCCCGGGC GAGCGCGCGACCCTCAGTTGCAGATCCTCTCAGTC CATCGTGCACTCCAACGGCAACACGTACCTCGCGT GGTACCAGCAGAAGCCCGGGCAGGCCCCGCGACT GCTCATCTCCAAGGTGAGCAACCGGTTCTCCGGCG TCCCCGACCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGGGGACG GATTTCACCCTCACGATTAGCCGCTTGGAGCCCGA AGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAACAGGGAAGTC ACGTGCCGCGTACCTTCGGGGGGGGCACGAAAGTG GAAATTAAG (서열번호: 558)
QVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYT FTSYHMHWVRQAPG QRLEWMGWIYPGDG STQYNEKFKGKVTIT RDTSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCAREG TYYAMDYWGQGTL VTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGDIVMTQ TPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSIVHSNGNTY LDWYLQKPGQSPQL LIYKVSNRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCMQ GSHVPRTFGGGTKVE IK (서열번호: 41)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCCGAGGTGAA GAAGCCTGGGGCCTCGGTGAAGGTGTCCTGCAAGG CTTCTGGATACACCTTCACCAGCTATCATATGCACT GGGTACGACAGGCCCCTGGACAAAGGCTTGAGTG GATGGGATGGATCTACCCTGGCGATGGTTCAACAC AGTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGTCACGATT ACCCGGGACACATCCGCGAGCACAGCCTACATGGA GCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTAT ATTACTGTGCGAGAGAGGGAACTTACTACGCTATG GACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCGTCATGA CCCAGACCCCACTGTCCCTGCCTGTGACCCCGGGC GAGCCCGCGAGCATCAGTTGCAGATCCTCTCAGTC CATCGTGCACTCCAACGGCAACACGTACCTCGACT GGTACCTGCAGAAGCCCGGGCAGTCCCCGCAACTG CTCATCTACAAGGTGAGCAACCGGTTCTCCGGCGT CCCCGACCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGGGGACGG ATTTCACCCTCAAGATTAGCCGCGTGGAGGCCGAA GACGTCGGCGTGTACTACTGCATGCAGGGAAGTCA CGTGCCGCGTACCTTCGGGGGGGGCACGAAAGTGG AAATTAAG (서열번호: 559)
HLA-B*07 항원 결합 도메인	
1.10_scFv	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSGYSWHW IRQPPGKGLEWIGYIHFSGSTHYHPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGVVSHYAMDCW GQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKAPKL LIYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 560)
1.9_scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWH WVRQAPGKGLEWVSYIHFSGSTHYHPSLKSRFTISRD

	NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGVVSHYAM DCWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT QSPSSVSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGK APKLLIYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 561)
1.8_scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWH WVRQAPGKGLEWVGYIHFSGSTHYHPSLKSRFTISRD DSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGVVSHYAMD CWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGEIVLTQS PATLSLSPGERATLSCRASENIYSNLAWYQQKPGQAP RLLIYAATYLPDGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDF AVYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 562)
1.7_scFv	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGYSITSGYSWHW IRQSPSRGLEWLGYIHFSGSTHYHPSLKSRITINPDTSK NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWG QGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGEIVLTQSPAT LSLSPGERATLSCRASENIYSNLAWYQQKPGQAPRLL IYAATYLPDGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 563)
1.6_scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWH WVRQAPGKGLEWVGYIHFSGSTHYHPSLKSRFTISRD DSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGVVSHYAMD CWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSVSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 564)
1.5_scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWH WVRQAPGKGLEWVSYIHFSGSTHYHPSLKSRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGVVSHYAM DCWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGK APKLLIYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 565)
1.4_scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWH WVRQAPGKGLEWVGYIHFSGSTHYHPSLKSRFTISRD DSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGVVSHYAMD CWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 566)
1.3_scFv	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGYSITSGYSWH WIRQPPGKGLEWIGYIHFSGSTHYHPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGVVSHYAMDC WGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKAP

[0319]

	KLLIYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 567)
1.2 scFv	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSITSGYSWHW IRQHPGKGLEWIGYIHFSGSTHYHPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGVVSHYAMDCW GQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKAPKL LIYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 568)
1.1_scFv	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGYSITSGYSWHW IRQSPSRGLEWLGYIHFSGSTHYHPSLKSRITINPDTSK NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWG QGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKPGKAPKLL IYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 569)
BB7.1 scFv	DVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSGYSWHW IRQFPRNKLEWMGYIHFSGSTHYHPSLKSRISITRDTS KNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGGVVSHYAMDCW GQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPA SLSVSVGETVTITCRASENIYSNLAWYQQKQGKSPHL LVYAATYLPDGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDF GSYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIK (서열번호: 1257)
HLA-A*11 항원 결합 도메인	
QVQLQESGPGLVKPS QTLSLTCTVSGGSISS GGYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARHYYYYS MDVWGKGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPLTFGGGTK VEIK (서열번호: 114)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTAC TGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACC ATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCT GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCT GTGTATTACTGTGCGAGACACTACTACTACTACTCC ATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGT GTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGA TCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGA TGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAG AGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAA ACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTG CATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTT ACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTT TCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 123)

[0320]

[0321]

QITLKESGPTLVKPT QTLTLTCTFSGFSLST SGVGVGWIRQPPGK ALEWLALIYWNDDK RYSPSLKSRLTITKDT SKNQVVLTMTNMDP VDTATYYCAHRHMR LSCFDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSG GGGSGGDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGG GTKVEIK (서열번호: 115)	CAGATCACCCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCTGGT GAAACCCACCCAGACCCTGACCCTGACATGCACCT TCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCTCTGGCGTGGGC GTGGGCTGGATCAGACAGCCTCCCGGCAAGGCCCT GGAATGGCTGGCCCTGATCTACTGGAACGACGACA AGCGGTACAGCCCCAGCCTGAAGTCCCGGCTGACC ATCACCAAGGACACCTCGAAGAACCAGGTGGTGCT GACCATGACAAACATGGACCCCGTGGACACCGCCA CATATTACTGTGCACACAGACACATGCGTTTAAGC TGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC CGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGA GGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCC AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGT CAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCA GAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATG CTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCA CTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 124)
QVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYT FTSYAMHWVRQAPG QRLEWMGWINAGN GNTKYSQKFQGRVTI TRDTSASTAYMELSS LRSEDTAVYYCARE GNGANPDAFDIWGQ GTMVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEIK (서열번호: 116)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAA GAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGG CCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACGCCATGCAC TGGGTTCGACAGGCCCCTGGCCAGAGACTGGAATG GATGGGCTGGATCAACGCCGGCAACGGCAACACC AAGTACAGCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCA TCACCCGGGACACCAGCGCCAGCACCGCCTACATG GAACTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCTG TGTATTACTGTGCGAGAGAAGGAAATGGTGCCAAC CCTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCG ACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTG CATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATT TTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACC CCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGAT CAAG (서열번호: 125)
EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTF SSYDMHWVRQATG KGLEWVSAIGTAGD TYYPGSVKGRFTISR	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGG TGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCC GCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGCA CTGGGTCCGCCAGGCCACCGGCAAGGGACTGGAAT GGGTGTCCGCCATCGGCACAGCCGGCGACACTTAC

[0322]

ENAKNSLYLQMNSL RAGDTAVYYCARDL PGSYWYFDLWGRGT LVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLTF GGGTKVEIK (서열번호: 117)	TACCCCGGCAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAG CAGAGAGAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTTCGAGCCGGCGATACCGCCGTGTA TTACTGTGCAAGAGATCTCCCTGGTAGCTACTGGT ACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACT GTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAG GATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCA GATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT AGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTC AGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAAC TTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCAC TTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 126)
QVQLQESGPGLVKPS QTLSLTCTVSGGSISS GGYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARHYYYYY LDVWGKGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPLTFGGGTK VEIK (서열번호: 118)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTAC TGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACC ATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCT GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCT GTGTATTACTGTGCGAGACACTACTACTACTACTA CCTGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCG TGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGG ATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAG ATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTA GGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGA AACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT GCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACT TTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 127)
EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTF SSYWMHWVRQAPG KGLVWVSRINSDGSS TSYADSVKGRFTISR DNAKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCCLGV LLYNWFDPWGQGTL VTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGDIQMTQ	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGG TGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCC GCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGATGCA CTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGTCT GGGTGTCTCGAATCAACAGCGACGGCAGCAGCACC AGCTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCAT CAGCCGGGACAACGCCAAGAACACCCTGTACCTGC AGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGT GTATTACTGTTGTTTGGGTGTTTTATTATACAACTG GTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCG

[0323]

SPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLTF GGGTKVEIK (서열번호: 119)	TGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGG ATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAG ATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTA GGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGA AACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT GCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACT TTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 128)
QVQLQESGPGLVKPS QTLSLTCTVSGGSISS GGYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARHYYYY MDVWGKGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPLTFGGGTK VEIK (서열번호: 120)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTAC TGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACC ATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCT GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCT GTGTATTACTGTGCGAGACACTACTACTACTACAT GGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATG ACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAG CATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCA TCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAG TGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTAC TACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTC GGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 129)
QITLKESGPTLVKPT QTLTLTCTFSGFSLST SGVGVGWIRQPPGK ALEWLALIYWNDDK RYSPSLKSRLTITKDT SKNQVVLTMTNMDP VDTATYYCAHKTTS FYFDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGG GGSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRA SQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATY	CAGATCACCCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCTGGT GAAACCCACCCAGACCCTGACCCTGACATGCACCT TCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCTCTGGCGTGGGC GTGGGCTGGATCAGACAGCCTCCCGGCAAGGCCCT GGAATGGCTGGCCCTGATCTACTGGAACGACGACA AGCGGTACAGCCCCAGCCTGAAGTCCCGGCTGACC ATCACCAAGGACACCTCGAAGAACCAGGTGGTGCT GACCATGACAAACATGGACCCCGTGGACACCGCCA CATATTACTGTGCACACAAAACGACGTCGTTTTAC TTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT GTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGA TCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGA TGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAG AGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAA

[0324]

YCQQSYSTPLTFGGG TKVEIK (서열번호: 121)	ACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTG CATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTT ACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTT TCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 130)
QVQLQESGPGLVKPS QTLSLTCTVSGGSISS GGGYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARHYYYYY MDVWGKGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPLTFGGGTK VEIK (서열번호: 122)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGT GAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAG TGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTAC TGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCT GGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCA CCTACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACC ATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCT GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCT GTGTATTACTGTGCGAGACACTACTACTACTACTA CATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACC GTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAG GATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCA GATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT AGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTC AGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAAC TTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCAC TTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 131)
HLA-C*07 항원 결합 도메인	
C7-45	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVSFDWFDPWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 570)
C7-44	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARERSISPYYYYYM DVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 571)
C7-43	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWG WIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSVIWYWFDPW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQSVLTQPPS

	ASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPK LLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDE ADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL (서열번호: 572)
C7-42	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREEILPRLSYYYY MDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 573)
C7-41	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMN WVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVF SFDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYYCARGGRAHSSW YFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 574)
C7-40	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRIKILPRLGYYY YMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 575)
C7-39	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTVIHYYYYMD VWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 576)
C7-38	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVIVEVFLSYYY YMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 577)
C7-37	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDIFIHYYYYMDV WGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP

[0325]

	KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 578)
C7-36	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTFYSYSPY YFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 579)
C7-35	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREWIKILPRLGYYY YMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 580)
C7-34	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRSLYYYYYMD VWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 581)
C7-33	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKILAPNYYYYM DVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 582)
C7-32	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREKSWKYFYYYY YYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 583)
C7-31	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARENTSTIPYYYYY MDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 584)

[0326]

C7-30	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREDVDKNTSTIYY YYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 585)
C7-29	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSW IRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGGDIVSSSAIY WYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAI QLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 586)
C7-28	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDLILPPYYYYYM DVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 587)
C7-27	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARETWIKILPRYYYY YYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 588)
C7-26	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDLSRYYYYYMD VWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 589)
C7-25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREHIVLCFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 590)
C7-24	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKILPRPYYYYY

[0327]

	MDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 591)
C7-23	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGSNEYFQH WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQSALTQP PSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGL QAEDEADYYCSSYAGSNNWVFGGGTKLTVL (서열번호: 592)
C7-22	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMN WVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVF SFDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYYCARGTSYWYFD LWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 593)
C7-21	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREEIVEVFYYYYM DVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 594)
C7-20	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDDYYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 595)
C7-19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHW VRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRD NAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAWSTNILLSYTK AFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 596)
C7-18	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKTYYYYYYMD VWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA

[0328]

[0329]

	PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 597)
C7-17	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREKYFHDKYFHDY YYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 598)
C7-16	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTSVYYYYYMD VWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 599)
C7-15	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREKILPYYYYYYM DVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 600)
C7-14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAIQWIYIYINPRGF IFLHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNW YQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSAS LAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLT VL (서열번호: 601)
C7-13	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWN WIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITI NPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAKEDVDFHHD AFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 602)
C7-12	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGVDKNTSTIYY YYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 603)

[0330]

C7-11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRRGYFDLWG RGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 604)
C7-10	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMH WVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGETIYAEKFQGRVTI TADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGIHVDIRSM EDWFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGD IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 605)
C7-9	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDIGTSYYYYMDV WGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 606)
C7-8	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREVVEVFLYYYYY MDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 607)
C7-7	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDLYYYYYYYMD VWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 608)
C7-6	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESWKYFYPRGSIF IHYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 609)
C7-5	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRIVEVFYYYYM DVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT

	QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 610)
C7-4	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREKYFHDWLYYY YYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 611)
C7-3	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDLVDKNTSYYYY YMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 612)
C7-2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARVQNEYFQH WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQSALTQP PSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGL QAEDEADYYCSSYAGSNNWVFGGGTKLTVL (서열번호: 613)
C7-1	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSW IRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCATANWFDPWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSVS ASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQANSFPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 614)
HLA-A*03 scFv 서열	
15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARERVSQRGA FDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 615)
16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNPDKDPFDY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP

[0331]

	KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 616)
17	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGSYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDFYCTNWYFDL WGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 617)
18	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWI RQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESSSGSYWYFDLWG RGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 618)
19	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISAD KSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSGYKYNLYY YYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 619)
20	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGGDLSHYY YYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQ TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGYYPNWF QQKPGQAPRALIYSTSNKHSWTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCLLYYGGAQWVFGGGTKLTV L (서열번호: 620)
21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARENRRYNSC YYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 621)
22	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGGDLSHYY YYLDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQT VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGYYPNWF QQKPGQAPRALIYSTSNKHSWTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCLLYYGGAQWVFGGGTKLTV L (서열번호: 622)

[0332]

23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSW VRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARATLLSLSYDAF DIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 623)
24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGGDLSHYY YMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQT VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGYYPNWF QQKPGQAPRALIYSTSNKHSWTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCLLYYGGAQWVFGGGTKLTV L (서열번호: 624)
25	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISAD KSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARERDRWFDPWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 625)
26	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARETPPSLGAF DIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQSALT QPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHP GKAPKLMIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSG LQAEDEADYYCSSYAGSNNWVFGGGTKLTVL (서열번호: 626)
27	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWG WIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREAYCLSDSYWYF DLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQSVLT QPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPG TAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQ SEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL (서열번호: 627)
28	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESWKYFYPRGY MDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 628)
GAP A3	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMN WVRQSPEKGLEWVAEIRLKSTNYATHYAESVKGRFT

[0333]

	ISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYCTTLITPDYWG QGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIVMTQSHKF MSTSVGDRVSITCKASQDVSTTVAWYQQKPGQSPKL LIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLA VYYCQQHYSTPPTFGGGTKLEIK (서열번호: 1259)
HLA-A*01 scFv 서열	
A1-9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISW VRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGGWTAWY YYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQ TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGYYPNWF QQKPGQAPRALIYSTSNKHSWTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCLLYYGGAQWVFGGGTKLTV L (서열번호: 629)
A1-8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNW VRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAKYYYMDVW GKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQSVLTQPPS ASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPK LLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDE ADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL (서열번호: 630)
A1-7	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDQVDKNTYYYY MDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 631)
A1-6	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSW IRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARACQLAEYFQHW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPS SVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 632)
A1-5	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRVDKNTSYYY MDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 633)
A1-4	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGYSISSSNWWG WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTMSVD TSKNQFSLKLSSVTAVDTAVYYCARRVQLKLVHWF DPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMT

[0334]

	QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 634)
A1-3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINW VRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVT MTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCATYYDYVTV FYFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 635)
A1-2	QLQLQESGSGLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGYSWS WIRQPPGKGLEWIGYIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVD RSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESYPSFYAFDIW GQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 636)
A1-1	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVGVGW IRQPPGKALEWLALIYWNDDKRYSPSLKSRLTITKDT SKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAHSNMWSYSLND YYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (서열번호: 637)

[0335]

[0336] 일부 실시양태에서, 제2 억제 수용체의 리간드 결합 도메인은 scFv를 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03, HLA-A*11, HLA-B*07 또는 HLA-C*07에 결합하고, 표 5에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03, HLA-A*11, HLA-B*07 또는 HLA-C*07에 결합하고, 표 5에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*01을 포함하고, 제2 수용체의 비-표적 세포외 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 HLA-A*01 scFv 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*02를 포함하고, 제2 수용체의 비-표적 세포외 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 HLA-A*02 scFv 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 수용체의 비-표적 세포외 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 HLA-A*03 scFv 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*11을 포함하고, 제2 수용체의 비-표적 세포외 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 HLA-A*11 scFv 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-B*07을 포함하고, 제2 수용체의 비-표적 세포외 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 HLA-B*07 scFv 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-C*07을 포함하고, 제2 수용체의 비-표적 세포외 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 HLA-C*07 scFv 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0337] HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03, HLA-A*11, HLA-B*07 및 HLA-C*07 리간드 결합 도메인에 대한 예시적인 중쇄 및 경쇄 CDR(각각 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 또는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)을 하기 표 6에 나타낸다.

[0338] 표 6: HLA 항원 결합 도메인에 상응하는 CDR

CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
RSSQSIVHSNGNTYLE (서열번호: 42)	KVSNRFSGVPDR (서열번호: 43)	FQGSHVPRT (서열번호: 44)	ASGYTFTSYHIH (서열번호: 45)	WIYPGNVNTEYNEKFKGK (서열번호: 46)	EEITYAMDY (서열번호: 47)
RSSQSIVHSNGNTYLD(서열번호: 48)	KVSNRFSGVPDR (서열번호: 49)	MQGSHVPRT (서열번호: 50)	SGYTFTSYHMH (서열번호: 51)	WIYPGDGSTQYNEKFKG(서열번호: 52)	EGTYYAMDY (서열번호: 53)
HLA-A*03 CDR					

[0339]

RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNGNTNYAQKLQG (서열번호: 676)	ERVSQRGAFDI (서열번호: 693)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYSMN (서열번호: 658)	YISSSSSTIYYADSVKG(서열번호: 677)	GNPDKDPFDY (서열번호: 694)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGSYYWS (서열번호: 659)	YIYYSGSTNYNPSLKS (서열번호: 678)	DFYCTNWYFDL (서열번호: 695)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYYWS (서열번호: 660)	YIYYSGSTNYNPSLKS (서열번호: 678)	ESSSGSYWYFDL (서열번호: 696)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYWIG (서열번호: 661)	IIYPGDSDTRYSPSFQG (서열번호: 679)	DSGYKYNLYYYYYYMDV (서열번호: 697)
ASSTGAVTSGYYPN (서열번호: 639)	STSNKHS (서열번호: 646)	LLYYGGAQWV (서열번호: 651)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNGNTNYAQKLQG (서열번호: 676)	GGDLSHYYYYMDV (서열번호: 698)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNGNTNYAQKLQG (서열번호: 676)	ENRRYNSCYYFDY (서열번호: 699)

[0340]

ASSTGAV TSGYYPN (서열번호: 639)	STSNKHS (서열번호: 646)	LLYYGGA QWV (서열번호: 651)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNG NTNYAQK LQG (서열번호: 676)	GGDLSHY YYYLDV (서열번호: 700)
RASQSISS YLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPL T (서열번호: 650)	SNYMS (서열번호: 662)	VIYSGGST YYADSVK G(서열번호: 680)	ATLLSLSY DAFDI (서열번호: 701)
ASSTGAV TSGYYPN (서열번호: 639)	STSNKHS (서열번호: 646)	LLYYGGA QWV (서열번호: 651)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNG NTNYAQK LQG (서열번호: 676)	GGDLSHY YYMDV (서열번호: 702)
RASQSISS YLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPL T (서열번호: 650)	SYWIG (서열번호: 661)	IIYPGDSD TRYSPSFQ G(서열번호: 679)	ERDRWFD P (서열번호: 703)
TGTSSDV GGYNYVS (서열번호: 640)	EVSKRPS (서열번호: 647)	SSYAGSN NWV (서열번호: 652)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNG NTNYAQK LQG (서열번호: 676)	ETPPSLGA FDI (서열번호: 704)
SGSSSNIG SNTVN (서열번호: 641)	SNNQRPS (서열번호: 648)	AAWDDSL NGWV (서열번호: 653)	SSSYYWG (서열번호: 663)	SIYYSGST YYNPSLK S (서열번호: 681)	EAYCLSD SYWYFDL (서열번호: 705)
RASQSISS YLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPL T (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGST YYNPSLK S (서열번호: 682)	ESWKYFY PRGYMDV (서열번호: 706)

[0341]

KASQDVSTTVA (서열번호: 1260)	SASYRYT (서열번호: 1261)	QQHYSTPPT (서열번호: 1262)	NYWMN (서열번호: 1263)	EIRLKSTNYATHYAESVKG (서열번호: 1264)	LITPDY (서열번호: 1265)
HLA-B*07 CDR					
RASENIYSNLA (서열번호: 642)	AATYLPD (서열번호: 649)	QHFWVTPYT (서열번호: 654)	SGYSWH (서열번호: 665)	YIHFSGSTHYHPSLKS (서열번호: 683)	GGVVSHYAMDC (서열번호: 707)
HLA-C*07 CDR					
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYAMS (서열번호: 668)	AISGSGGSTYYADSVKG (서열번호: 686)	SFDWFDP (서열번호: 708)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	ERSISPYYYYYMDV (서열번호: 709)
SGSSSNIGSNTVN (서열번호: 641)	SNNQRPS (서열번호: 648)	AAWDDSLNGWV (서열번호: 653)	SSSYYWG (서열번호: 663)	SIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 681)	DSVIWYWFDP (서열번호: 710)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EEILPRLSYYYYMDV(서열번호: 711)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYAMN (서열번호: 669)	WINTNTGNPTYAQGFTG(서열번호: 687)	GGRAHSSWYFDL (서열번호: 712)

[0342]

RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DRIKILPRLGYYYYMDV (서열번호: 713)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DTVIHYYYYMDV (서열번호: 714)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DVIVEVFLSYYYYMDV(서열번호: 715)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DIFIHYYYYMDV (서열번호: 716)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYSMN (서열번호: 658)	YISSSSSTIYYADSVKG(서열번호: 677)	DGTFYSYSPYYFDY (서열번호: 717)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EWIKILPRLGYYYYMDV (서열번호: 718)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DRSLYYYYYMDV (서열번호: 719)
RASQSISSYLN	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT(서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLK	DKILAPNYYYYMD

[0343]

(서열번호: 638)				S (서열번호: 682)	V(서열번호: 720)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EKSWKYFYYYYYYMDV (서열번호: 721)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	ENTSTIPYYYYYMDV(서열번호: 722)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EDVDKNTSTIYYYYYMDV (서열번호: 723)
RASQGISSALA (서열번호: 643)	DASSLES (서열번호: 55)	QQFNSYPLT (서열번호: 60)	DYYMS (서열번호: 670)	YISSSGSTIYYADSVKG(서열번호: 688)	DGGDIVSSSAIYWYFDL(서열번호: 724)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DLILPPYYYYYMDV (서열번호: 725)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	ETWIKILPRYYYYYYYMDV (서열번호: 726)
RASQSISSYLN	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT(서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLK	DLSRYYYYYMDV

[0344]

(서열번호: 638)				S (서열번호: 682)	(서열번호: 727)
RASQGISSWLA (서열번호: 644)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQYNSYPLT (서열번호: 655)	SYSMN (서열번호: 658)	YISSSSSTIYYADSVKG(서열번호: 677)	EHIVLCFDY (서열번호: 728)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DKILPRPYYYYYMDV(서열번호: 729)
TGTSSDVGGYNYVS (서열번호: 640)	EVSKRPS (서열번호: 647)	SSYAGSNNWV (서열번호: 652)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNGNTNYAQKLQG (서열번호: 676)	GSNEYFQH (서열번호: 730)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYAMN (서열번호: 669)	WINTNTGNPTYAQGFTG (서열번호: 687)	GTSYWYFDL (서열번호: 731)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EEIVEVFYYYYMDV (서열번호: 732)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYAMS (서열번호: 668)	AISGSGGSTYYADSVKG(서열번호: 686)	VDDYYFDY (서열번호: 733)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYWMH (서열번호: 667)	RINSDGSSTSYADSVKG	STNILLSYTKAFDI (서열번호: 734)

[0345]

				(서열번호: 685)	
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DKTYYYYYYMDV (서열번호: 735)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EKYFHDKYFHDYYYYYMDV (서열번호: 736)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DTSVYYYYYMDV (서열번호: 737)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EKILPYYYYYYMDV (서열번호: 738)
SGSSSNIGSNTVN (서열번호: 641)	SNNQRPS (서열번호: 648)	AAWDDSLNGWV (서열번호: 653)	SYSMN (서열번호: 658)	YISSSSSTIYYADSVKG (서열번호: 677)	QWIYIYINPRGFIFLHDAFDI (서열번호: 739)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SNSAAWN (서열번호: 671)	RTYYRSKWYNDYAVSVKS (서열번호: 689)	EDVDFHHDAFDI (서열번호: 740)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EGVDKNTSTIYYYYYMDV

[0346]

					(서열번호: 741)
RASQGISSWLA (서열번호: 644)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQYNSYPLT (서열번호: 655)	SYSMN (서열번호: 658)	YISSSSSTIYYADSVKG(서열번호: 677)	DRRGYFDL (서열번호: 742)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	DYYMH (서열번호: 672)	LVDPEDGETIYAEKFQG(서열번호: 690)	GIHVDIRSMEDWFDP (서열번호: 743)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DIGTSYYYYMDV (서열번호: 744)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EVVEVFLYYYYYMDV (서열번호: 745)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DLYYYYYYYMDV (서열번호: 746)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	ESWKYFYPRGSIFIHYYYYMDV(서열번호: 747)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DRIVEVFYYYYMDV (서열번호: 748)

[0347]

RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	EKYFHDWLYYYYYMDV (서열번호: 749)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DLVDKNTSYYYYYMDV(서열번호: 750)
TGTSSDVGGYNYVS (서열번호: 640)	EVSKRPS (서열번호: 647)	SSYAGSNNWV (서열번호: 652)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNGNTNYAQKLQG(서열번호: 676)	VQNEYFQH (서열번호: 751)
RASQGISSWLA (서열번호: 644)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQANSFPLT (서열번호: 656)	DYYMS (서열번호: 670)	YISSSGSTIYYADSVKG(서열번호: 688)	ANWFDP (서열번호: 752)
HLA-A*01 CDR					
ASSTGAVTSGYYPN (서열번호: 639)	STSNKHS (서열번호: 646)	LLYYGGAQWV (서열번호: 651)	SYGIS (서열번호: 657)	WISAYNGNTNYAQKLQG(서열번호: 676)	GGWTAWYYYMDV (서열번호: 753)
SGSSSNIGSNTVN (서열번호: 641)	SNNQRPS (서열번호: 648)	AAWDDSLNGWV (서열번호: 653)	SYSMN (서열번호: 658)	YISSSSSTIYYADSVKG (서열번호: 677)	AKYYYMDV (서열번호: 754)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DQVDKNTYYYYMDV (서열번호: 755)

[0348]

RASQGISSWLA (서열번호: 644)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQANSFPLT (서열번호: 656)	DYYMS (서열번호: 670)	YISSSGSTIYYADSVKG(서열번호: 688)	ACQLAEYFQH (서열번호: 756)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYYWS (서열번호: 664)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	DRVDKNTSYYYMDV (서열번호: 757)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SSNWWG (서열번호: 673)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 682)	RVQLKLVHWFDP (서열번호: 758)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SYDIN (서열번호: 674)	WMNPNSGNTGYAQKFQG (서열번호: 691)	YYDYVTVFYFQH (서열번호: 759)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	SGGYSWS (서열번호: 675)	YIYHSGSTYYNPSLKS (서열번호: 692)	ESYPSFYAFDI (서열번호: 760)
RASQSISSYLN (서열번호: 638)	AASSLQS (서열번호: 645)	QQSYSTPLT (서열번호: 650)	TSGVGVG (서열번호: 666)	LIYWNDDKRYSPSLKS(서열번호: 684)	SNMWSYSLNDYYFDY (서열번호: 761)

[0349]

[0350] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 억제 수용체의 리간드 결합 도메인은 표 6 또는 표 7에 제시된 CDR 서열을 포함하는 HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03 또는 HLA-A*11 리간드 결합 도메인을 포함한다.

[0351] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-B를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 억제 수용체의 리간드 결합 도메인은 표 6에 제시된 CDR 서열을 포함하는 HLA-B*07 리간드 결합 도메인을 포함한다.

[0352] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-C를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 억제 수용체의 리간드 결합 도메인은 표 6에 제시된 CDR 서열을 포함하는 HLA-C*07 리간드 결합 도메인을 포함한다.

[0353] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 단백질의 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A*01, HLA-A*02, HLA-A*03, HLA-A*11, HLA-B*07 또는 HLA-C*07에 특이적으로 결합한다.

[0354] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A*01에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 6에 개시된 바와 같은 HLA-A*01 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 6의 HLA-A*01 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다.

[0355] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A*02에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양

태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 6에 개시된 바와 같은 HLA-A*02 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 6의 HLA-A*02 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다.

[0356] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 103-108 또는 서열번호: 109-114의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 서열번호: 103-108 또는 서열번호: 109-114의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다.

[0357] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A*03에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 6에 개시된 바와 같은 HLA-A*03 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 6의 HLA-A*03 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다.

[0358] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A*11에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 7에 개시된 바와 같은 HLA-A*11 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 7의 HLA-A*11 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다.

[0359] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-B*07에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 6에 개시된 바와 같은 HLA-B*07 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 6의 HLA-B*07 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다.

[0360] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-C*07에 특이적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 6에 개시된 바와 같은 HLA-C*07 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 6의 HLA-C*07 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함한다.

[0361] 임의의 리간드 결합 도메인의 추가 실시양태에서, 각각의 CDR 서열은 1, 2, 3개 이상의 치환, 삽입 또는 결실을 가질 수 있다. CDR 서열은 치환, 결실 또는 삽입을 허용할 수 있다. 서열 정렬 도구, 일상적인 실험 및 공지된 검정을 사용하여, 당업자는 과도한 실험 없이 CDR 서열에서 1, 2, 3개 이상의 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 변이체 서열을 생성하고 테스트할 수 있다.

[0362] 일부 실시양태에서, HLA-A*02를 포함하는 비-표적 항원 및 제2 수용체의 리간드 결합 도메인은 HLA-A*02 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 리간드 결합 도메인은 HLA-A*02를 포함하는 pMHC 복합체에서 펩티드와 독립적으로 HLA-A*02에 결합한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*02 리간드 결합 도메인은 scFv 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*02 리간드 결합 도메인은 서열번호: 30-41 중 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*02 리간드 결합 도메인은 서열번호: 30-41 중 어느 하나의 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다.

[0363] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*02를 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 30의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*02를 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 30의 서열을 포함한다.

[0364] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*02를 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPRT SGGGTKLEIK(서열번호: 762)의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을

갖는 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 QVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTSYHIHWVKQRPGQGLEWIGWIYPGNVNTEYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCAREEIT YAMDYWGQGTSVTVSS(서열번호: 763)의 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 일부 실시양태에서, VH 및 VL은 링커, 예를 들어 GGGGSGGGGSGGGGSGG(서열번호: 152)에 의해 분리된다. 일부 실시양태에서, VH 및 VL은 N에서 C 말단으로, VH, 링커 및 VL로 정렬된다. 일부 실시양태에서, VH 및 VL은 N에서 C 말단으로, VL, 링커 및 VH로 정렬된다.

[0365] 일부 실시양태에서, HLA-A*02 scFv는 서열번호: 42-53 중 어느 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 서열번호: 42-53 중 어느 하나와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 서열번호: 42-53 중 어느 하나와 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인의 중쇄는 서열번호: 42-53 중 어느 하나의 중쇄 CDR을 포함하고, 여기서 항원 결합 도메인의 경쇄는 서열번호: 42-53 중 어느 하나의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*02 항원 결합 도메인은 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 중쇄는 서열번호: 45-47 및 51-53으로부터 선택된 CDR을 포함하고 경쇄는 서열번호: 42-44 및 48-50으로부터 선택된 CDR을 포함한다.

[0366] 일부 실시양태에서, HLA-A*02 항원 결합 도메인은 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 중쇄는 서열번호: 30-41 중 어느 하나의 중쇄 부분과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하고, 경쇄는 서열번호: 30-41 중 어느 하나의 경쇄 부분과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0367] 일부 실시양태에서, 중쇄는 서열번호: 30-41 중 어느 하나의 중쇄 부분과 동일한 서열을 포함하고, 여기서 경쇄는 서열번호: 30-41 중 어느 하나의 경쇄 부분과 동일한 서열을 포함한다.

[0368] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*01을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A*01 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*01 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 scFv 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*01 scFv는 표 6에 제시된 HLA-A*1 CDR 서열을 포함한다.

[0369] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A*03 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*03 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 scFv 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*03 scFv는 표 6에 제시된 HLA-A*03 CDR 서열을 포함한다.

[0370] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 수용체의 리간드 결합 도메인은 HLA-A*03 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 리간드 결합 도메인은 HLA-A*03을 포함하는 pMHC 복합체의 펩티드와 독립적으로 HLA-A*03에 결합한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*03 리간드 결합 도메인은 scFv 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*03 리간드 결합 도메인은 서열번호: 615-628 또는 서열번호: 1259 중 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*03 리간드 결합 도메인은 서열번호: 615-628 또는 서열번호: 1259 중 어느 하나의 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다.

[0371] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 615-628의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 615-628의 서열을 포함한다.

[0372] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1259의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1259의 서열을 포함한다.

[0373] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTTVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPPTFGGGT KLEIK(서열번호: 1266)의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRLKSTNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYCTTLI TPDYWGQGTTLTVSS(서열번호: 1267)의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 일부 실시양태에서, VH 및 VL은 링커, 예를 들어 GGGGSGGGGSGGGGSGG(서열번호: 152)에 의해 분리된다. 일부 실시양태에서, VH 및 VL은 N에서 C 말단으로, VH, 링커 및 VL로 정렬된다. 일부 실시양태에서, VH 및 VL은 N에서 C 말단으로, VL, 링커 및 VH로 정렬된다.

[0374] 일부 실시양태에서, HLA-A*03 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 638-641, 645-648, 650-653, 657-664, 676-682, 693-706 또는 1260-1265 중 어느 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 638-641, 645-648, 650-653, 657-664, 676-682, 693-706 또는 1260-1265 중 어느 하나와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 638-641, 645-648, 650-653, 657-664, 676-682, 693-706 또는 1260-1265 중 어느 하나와 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인의 중쇄는 서열번호: 638-641, 645-648, 650-653, 657-664, 676-682, 693-706 또는 1260-1265 중 어느 하나의 중쇄 CDR을 포함하고, 여기서 항원 결합 도메인의 경쇄는 서열번호: 638-641, 645-648, 650-653, 657-664, 676-682, 693-706 또는 1260-1265 중 어느 하나의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*03 항원 결합 도메인은 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 중쇄는 서열번호: 657-664, 676-682, 693-706 및 1263-1265로부터 선택된 CDR을 포함하고, 경쇄는 서열번호: 638-641, 645-648, 650-653 및 1260-1262로부터 선택된 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 다음의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3을 포함한다: (i) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676 및 693; (ii) 서열번호: 638, 645, 650, 658, 677 및 694; (iii) 서열번호: 638, 645, 650, 659, 678 및 695; (iv) 서열번호: 638, 645, 650, 660, 678 및 696; (v) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679 및 697; (vi) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676 및 698; (vii) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676 및 699; (viii) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676 및 700; (ix) 서열번호: 638, 645, 650, 662, 680 및 701; (x) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676 및 702; (xi) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679 및 703; (xii) 서열번호: 640, 647, 652, 657, 676 및 704; (xiii) 서열번호: 641, 648, 653, 663, 681 및 705 (xiv) 서열번호: 638, 645, 650, 664, 682 및 706; 또는 (xv) 서열번호: 1260-1265.

[0375] 일부 실시양태에서, HLA-A*03 항원 결합 도메인은 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 중쇄는 서열번호: 615-628 또는 1259 중 어느 하나의 중쇄 부분과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하고, 경쇄는 서열번호: 615-628 또는 1259 중 어느 하나의 경쇄 부분과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0376] 일부 실시양태에서, 중쇄는 서열번호: 615-628 또는 1259 중 어느 하나의 중쇄 부분과 동일한 서열을 포함하고, 여기서 경쇄는 서열번호: 615-629 또는 1259 중 어느 하나의 경쇄 부분과 동일한 서열을 포함한다.

[0377] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*11을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-A*11 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*11 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 scFv 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*11 scFv는 표 7에 제시된 HLA-A*11 CDR 서열을 포함한다.

[0378] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-B*07을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-B*07 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-B*07 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 scFv 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-B*07 scFv는 표 6에 제시된 HLA-B*07 CDR 서열을 포함한다.

[0379] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-C*07을 포함하고, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 HLA-C*07 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-C*07 리간드 결합 도메인은 표 5에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 scFv 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-C*07 scFv는 표 6에 제시된 HLA-C*07 CDR 서열을 포함한다.

[0380] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*11을 포함한다. HLA-A*11에 결합하고 HLA-A*11을 인식하는 당업계에 공지되거나 본원에 개시된 다양한 단일 가변 도메인은 실시양태에서 사용하기에 적합하다. 이러한 scFv는 예를 들어 제한 없이 상기 표 5에 나타낸 펩티드 독립적 방식으로 HLA-A*11에 결합하는 다음의 마우스 및 인간화

scFv 항체를 포함한다.

[0381] HLA-A*11 리간드 결합 도메인에 대한 예시적인 중쇄 및 경쇄 CDR(각각 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 또는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)은 하기 표 7에 나타낸다. 표 7의 임의의 VH CDR은 표 7에 개시된 VL CDR과 조합될 수 있다.

[0382] 표 7: 예시적인 항-HLA-A*11 CDR 서열

CDR H1	CDR H2	CDR H3
SGGYYWS (서열번호: 92)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 97)	HYYYYYMDV (서열번호: 105)
TSGVGVG (서열번호: 93)	LIYWNDDKRYSPSLKS (서열번호: 98)	KTTSFYFDY (서열번호: 106)
SGGYYWS (서열번호: 92)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 97)	HYYYYMDV (서열번호: 104)
SYWMH (서열번호: 96)	RINSDGSSTSYADSVKG (서열번호: 101)	GVLLYNWFDP (서열번호: 110)
SGGYYWS (서열번호: 92)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 97)	HYYYYYLDV (서열번호: 103)
SYDMH (서열번호: 95)	AIGTAGDTYYPGSVKG (서열번호: 100)	DLPGSYWYFDL (서열번호: 109)
SYAMH (서열번호: 94)	WINAGNGNTKYSQKFQG (서열번호: 99)	EGNGANPDAFDI (서열번호: 108)
TSGVGVG (서열번호: 93)	LIYWNDDKRYSPSLKS (서열번호: 98)	RHMRLSCFDY (서열번호: 107)
SGGYYWS (서열번호: 92)	YIYYSGSTYYNPSLKS (서열번호: 97)	HYYYYSMDV (서열번호: 102)
CDR1 LC	**CDR2 LC**	**CDR3 LC**
RASQSISSYLN (서열번호: 111)	AASSLQS (서열번호: 112)	QQSYSTPLT (서열번호: 113)

[0383]

[0384] 일부 실시양태에서, HLA-A*11을 포함하는 비-표적 항원, 및 제2 수용체의 리간드 결합 도메인은 HLA-A*11 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 리간드 결합 도메인은 HLA-A*11을 포함하는 pMHC 복합체에서 펩티드와 독립적으로 HLA-A*11에 결합한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*11 리간드 결합 도메인은 scFv 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*11 리간드 결합 도메인은 서열번호: 114-122 중 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*11 리간드 결합 도메인은 서열번호: 114-122 중 어느 하나의 서열과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다.

[0385] 일부 실시양태에서, HLA-A*11 scFv는 서열번호: 114-122 중 어느 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 서열번호: 114-122 중 어느 하나와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, scFv는 서열번호: 114-122 중 어느 하나와 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인의 중쇄는 서열번호: 132-140 중 어느 하나의 중쇄 CDR을 포함하고, 여기서 항원 결합 도메인의 경쇄는 서열번호: 141의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*11 항원 결합 도메인은 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 중쇄는 서열번호: 92-110으로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함하고 경쇄는 서열번호: 111-113에서 선택된 1, 2 또는 3개의 CDR을 포함한다.

[0386] HLA-A*11 항원 결합 도메인에 대한 예시적인 중쇄 및 경쇄 서열이 하기 표 8에 제공되어 있다. 일부 실시양태에서, HLA-A*11 항원 결합 도메인은 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 중쇄는 서열번호: 132-140 중 어느 하나의 중쇄 부분과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하고, 경쇄는 서열번호: 141의 경쇄 부분과 적어도 95% 동일한 서열을 포함

한다.

[0387] 일부 실시양태에서, 중쇄는 서열번호: 114-122 중 어느 하나의 중쇄 부분과 동일한 서열을 포함하고, 여기서 경쇄는 서열번호: 114-122 중 어느 하나의 경쇄 부분과 동일한 서열을 포함한다.

[0388] 표 8: 예시적인 항-HLA-A*11 중쇄 및 경쇄 서열

scFv	단백질 서열	DNA 서열
	중쇄 서열	
9	QVQLQESGPGL VKPSQTLSLTCT VSGGSISSGGYY WSWIRQPPGKG LEWIGYIYYSGS TYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFS LKLSSVTAADT AVYYCARHYY YYSMDVWGKG TTVTVSS (서열번호: 132)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCT GGTGAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT GCACAGTGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGC GGCTACTACTGGTCCTGGATCAGACAGCCCCC TGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCT ACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCCAGC CTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACAC CAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCA GCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTAC TGTGCGAGACACTACTACTACTACTCCATGGA CGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTGT CCTCA (서열번호: 142)
8	QITLKESGPTLV KPTQTLTLTCTF SGFSLSTSGVGV GWIRQPPGKAL EWLALIYWNDD KRYSPSLKSRLT ITKDTSKNQVV LTMTNMDPVDT ATYYCAHRHM RLSCFDYWGQG TLVTVSS (서열번호: 133)	CAGATCACCCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCT GGTGAAACCCACCCAGACCCTGACCCTGACAT GCACCTTCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCTCT GGCGTGGGCGTGGGCTGGATCAGACAGCCTCC CGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGCCCTGATCT ACTGGAACGACGACAAGCGGTACAGCCCCAGC CTGAAGTCCCGGCTGACCATCACCAAGGACAC CTCGAAGAACCAGGTGGTGCTGACCATGACAA ACATGGACCCCGTGGACACCGCCACATATTAC TGTGCACACAGACACATGCGTTTAAGCTGTTTT GACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT GTCCTCA (서열번호: 143)
7	QVQLVQSGAEV KKPGASVKVSC KASGYTFTSYA MHWVRQAPGQ	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGT GAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCT GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTAC GCCATGCACTGGGTTCGACAGGCCCCTGGCCA

[0389]

[0390]

scFv	단백질 서열	DNA 서열
	RLEWMGWINA GNGNTKYSQKF QGRVTITRDTSA STAYMELSSLRS EDTAVYYCARE GNGANPDAFDI WGQGTMVTVS S (서열번호: 134)	GAGACTGGAATGGATGGGCTGGATCAACGCCG GCAACGGCAACACCAAGTACAGCCAGAAATTC CAGGGCAGAGTGACCATCACCCGGGACACCAG CGCCAGCACCGCCTACATGGAACTGAGCAGCC TGCGGAGCGAGGACACCGCTGTGTATTACTGT GCGAGAGAAGGAAATGGTGCCAACCCTGATGC TTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCA CCGTGTCCTCA (서열번호: 144)
6	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYD MHWVRQATGK GLEWVSAIGTA GDTYYPGSVKG RFTISRENAKNS LYLQMNSLRAG DTAVYYCARDL PGSYWYFDLW GRGTLVTVSS (서열번호: 135)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCC TGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCT TGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTA CGACATGCACTGGGTCCGCCAGGCCACCGGCA AGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCGGCACA GCCGGCGACACTTACTACCCCGGCAGCGTGAA GGGCCGGTTCACCATCAGCAGAGAGAACGCCA AGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTT CGAGCCGGCGATACCGCCGTGTATTACTGTGC AAGAGATCTCCCTGGTAGCTACTGGTACTTCG ATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTGT CCTCA (서열번호: 145)
5	QVQLQESGPGL VKPSQTLSLTCT VSGGSISSGGYY WSWIRQPPGKG LEWIGYIYYSGS TYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFS LKLSSVTAADT AVYYCARHYY YYYLDVWGKG TTVTVSS (서열번호: 136)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCT GGTGAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT GCACAGTGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGC GGCTACTACTGGTCCTGGATCAGACAGCCCCC TGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCT ACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCCAGC CTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACAC CAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCA GCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTAC TGTGCGAGACACTACTACTACTACTACCTGGA CGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTGT CCTCA (서열번호: 146)
4	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYW MHWVRQAPGK GLVWVSRINSD GSSTSYADSVK GRFTISRDNAKN TLYLQMNSLRA EDTAVYYCCLG VLLYNWFDPW GQGTLVTVSS (서열번호: 137)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCC TGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCT TGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTA CTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCA AGGGACTGGTCTGGGTGTCTCGAATCAACAGC GACGGCAGCAGCACCAGCTACGCCGACAGCGT GAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACG CCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGC CTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTG TTGTTTGGGTGTTTTATTATACAACTGGTTCGA CCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGT CCTCA (서열번호: 147)
3	QVQLQESGPGL VKPSQTLSLTCT VSGGSISSGGYY	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCT GGTGAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT GCACAGTGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGC

scFv	단백질 서열	DNA 서열
	WSWIRQPPGKG LEWIGYIYYSGS TYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFS LKLSSVTAADT AVYYCARHYY YYMDVWGKGT TVTVSS (서열번호: 138)	GGCTACTACTGGTCCTGGATCAGACAGCCCCC TGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCT ACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCCAGC CTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACAC CAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCA GCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTAC TGTGCGAGACACTACTACTACTACATGGACGT CTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTGTCCT CA (서열번호: 148)
2	QITLKESGPTLV KPTQTLTLTCTF SGFSLSTSGVGV GWIRQPPGKAL EWLALIYWNDD KRYSPSLKSRLT ITKDTSKNQVV LTMTNMDPVDT ATYYCAHKTTS FYFDYWGQGTL VTVSS (서열번호: 139)	CAGATCACCCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCT GGTGAAACCCACCCAGACCCTGACCCTGACAT GCACCTTCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCTCT GGCGTGGGCGTGGGCTGGATCAGACAGCCTCC CGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGCCCTGATCT ACTGGAACGACGACAAGCGGTACAGCCCCAGC CTGAAGTCCCGGCTGACCATCACCAAGGACAC CTCGAAGAACCAGGTGGTGCTGACCATGACAA ACATGGACCCCGTGGACACCGCCACATATTAC TGTGCACACAAAACGACGTCGTTTTACTTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTC CTCA (서열번호: 149)
1	QVQLQESGPGL VKPSQTLSLTCT VSGGSISSGGYY WSWIRQPPGKG LEWIGYIYYSGS TYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFS LKLSSVTAADT AVYYCARHYY YYYMDVWGKG TTVTVSS (서열번호: 140)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCT GGTGAAACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCT GCACAGTGTCCGGCGGCTCGATCAGCAGCGGC GGCTACTACTGGTCCTGGATCAGACAGCCCCC TGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCT ACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCCAGC CTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACAC CAGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCA GCGTGACAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTAC TGTGCGAGACACTACTACTACTACTACATGGA CGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTGT CCTCA (서열번호: 150)
경쇄 서열		
1-9	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTP LTFGGGTKVEIK (서열번호: 141)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAC TTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATT TAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCC CCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTG CAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAG TGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACT ACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTT TCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (서열번호: 151)

[0391]

[0392] 차등적으로 발현되는 억제제 리간드

[0393] 본 개시내용은 암 세포와 정상 세포 사이에 차등적으로 발현되는 억제제 리간드(비-표적 항원)를 제공한다.

[0394] 억제 수용체의 활성화는 세포 표면의 비-표적 항원의 존재에 의해 매개된다. 비-표적 항원을 발현하는 세포는 비-표적 항원의 발현 수준에 따라 억제 수용체를 활성화한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 표적 및 비-표적 세포 둘 모두에 의해 발현된다. 그러나, 이들 실시양태에서, 비-표적 항원은 비-표적 세포에 의해 표적 세포보다 더 높은 수준으로 발현된다. 비-표적 세포에 의해 발현되는 더 높은 수준의 비-표적 항원은 억제 수용체를 활성화하여 면역 세포의 활성화를 예방한다. 반대로, 표적에 의해 발현되는 더 낮은 수준의 비-표적 항원은 억제 수용체를 활성화하기에 충분하지 않아 면역 세포의 활성화로 이어진다.

[0395] 대안적 실시양태에서, 비-표적 항원은 비-표적 세포에 의해 발현되지만 표적 세포에 의해서는 발현되지 않는다. 비-표적 항원의 발현의 부재하에서, 표적 세포는 표적 수용체를 활성화시켜 면역 세포를 활성화시킨다.

[0396] 차등 발현은 발현 측정에 사용되는 당업계에 공지된 임의의 기술에 의해 측정될 수 있다. 이들은 특히 세포에서 표적 유전자의 mRNA 및/또는 단백질 수준을 측정하기 위한 기술을 포함한다. 샘플에서 단백질 수준을 측정하는 방법에는 면역조직화학, 효소 결합 면역 흡착 검정(ELISA) 및 액체 크로마토그래피-질량 분석법(LC-MS)과 같은 분석 방법이 포함된다. mRNA 수준을 측정하는 방법에는 실시간 정량적 역전사 PCR(qRT-PCR)뿐만 아니라 높은 처리량 시퀀싱이 포함된다. 예를 들어, 정상 세포와 질환 세포, 예를 들어 암 세포 사이에서 발현 차이를 관찰할

수 있다.

[0397] 비-표적 항원에 의한 억제 수용체의 활성화는 당업계에 공지된 다양한 방식에 따라 발생할 수 있다. 비-표적 항원에 의한 억제 수용체의 활성화는 당업계에 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 억제 수용체를 발현하는 세포에서 다운스트림 세포내 신호전달 수준은 리포터 유전자의 사용을 통해 측정될 수 있다.

[0398] 이론에 구애됨이 없이, 비-표적 항원의 발현이 억제 수용체의 활성화를 통해 면역 세포의 활성화를 억제하는지 여부는 비-표적 항원 대 억제제 수용체의 비율에 따라 발생할 수 있다. 비-표적 항원 및 억제 수용체의 발현 수준 및 이들의 비율은 특히 면역조직화학 및 형광 활성화 세포 분류(FACS)를 포함하는 당업계에 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다. 표적 및 비-표적 세포에 대한 비-표적 항원의 발현 수준 분석은 억제 수용체를 발현하는 면역 세포의 선택적 표적화를 예측하는 데 사용될 수 있다. 표적 또는 비-표적 세포에 대한 비-표적 항원의 낮은 발현 또는 발현 없음은 예를 들어 억제 수용체가 본 개시내용의 면역 세포에서 활성화되지 않을 것임을 나타낼 수 있다.

[0399] 대안적으로, 또는 추가로, 그리고 이론에 구애됨이 없이, 억제 수용체의 활성화를 통한 비-표적 항원에 의한 면역 세포 활성화의 억제는 억제 수용체에 대한 비-표적 항원의 친화성에 의존할 수 있다. 친화도를 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 특히 효소 결합 면역흡착 검정 또는 방사면역검정 방법을 포함한다.

[0400] 대안적으로, 또는 추가로, 그리고 이론에 구애됨이 없이, 억제 수용체의 활성화를 통한 비-표적 항원에 의한 면역 세포 활성화의 억제는 억제 수용체와 활성화제 수용체 사이의 크로스토크(cross talk)에 따라 발생할 수 있으며, 활성화제 수용체의 활성 하향 조절을 야기한다. 예를 들어, 비-표적 항원에 의한 억제 수용체의 활성화는 면역 세포 표면에서 활성화제 수용체의 발현 감소를 야기할 수 있다.

[0401] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 정상 세포보다 표적 세포에서 더 낮은 수준으로 발현된다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 건강한 세포, 즉 *암 세포*가 아닌 세포에 의해 발현된다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원 발현 수준은 비-표적 세포보다 표적 세포에서 적어도 약 10배 미만, 적어도 약 30배 미만, 적어도 약 50배 미만, 적어도 약 70배 미만, 적어도 약 90배 미만, 적어도 100배 미만, 적어도 약 110배 미만, 적어도 약 150배 미만, 적어도 약 200배 미만, 적어도 약 250배 미만, 적어도 약 300배 미만, 적어도 약 350배 미만, 적어도 약 400배 미만, 적어도 약 450배 미만, 적어도 약 500배 미만, 적어도 약 600배 미만, 적어도 약 700배 미만, 적어도 약 800배 미만, 적어도 약 900배 미만 또는 적어도 약 1000배 미만이다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원 발현 수준은 복수의 건강한 세포보다 약 10배 미만, 약 30배 미만, 약 50배 미만, 약 70배 미만, 약 90배 미만, 약 100배 미만 또는 약 110배 미만이다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원 발현 수준은 복수의 건강한 세포에서보다 복수의 암세포에서 적어도 약 5배 미만이다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원 발현 수준은 비-표적 세포보다 표적 세포에서 적어도 약 5배 미만이다. 일부 실시양태에서, 표적 세포는 비-표적 항원의 발현이 낮거나 없는 복수의 암세포이다.

[0402] 표적 세포에 의해 발현되지 않는(또는 낮은 수준으로 발현되는) 비-표적 세포에 의해 발현되는 임의의 세포 표면 분자는 제2 수용체 세포외 리간드 결합 도메인에 적합한 비-표적 항원일 수 있다. 예를 들어, 세포 부착 분자, 세포-세포 신호전달 분자, 세포외 도메인, 화학 주성에 수반되는 분자, 당단백질, G 단백질-결합 수용체, 막관통 단백질, 신경전달물질용 수용체 또는 전압 개폐 이온 채널은 비-표적 항원으로 사용될 수 있다.

[0403] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 류신 풍부 반복 뉴런 4(LRRN4) 및 유로플라킨 B3(UPKB3), 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이들 중 임의의 펩티드 항원으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 LRRN4 또는 MHC-I와 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원이다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 UPKB3 또는 MHC-I와 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원이다.

[0404] 일부 실시양태에서, 표적 항원은 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 암세포 특이적 항원의 펩티드 항원이다.

[0405] 임의의 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C를 포함하는 비-표적 MHC-I(pMHC) 항원은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-B를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-C를 포함한다.

[0406] 비-표적 항원은 암 세포, 예를 들어 폐암 세포에서 발현이 낮거나 전혀 없지만 정상 폐 조직과 같은 정상 조직에서는 발현되는 단백질을 포함한다.

[0407] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 LRRN4 또는 MHC-I과 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드를 포함한다. 인간

LRRN4는 NCBI 기록 번호 NP_689824.2에 기재되어 있으며, 그 내용은 이의 전체가 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, LRRN4는 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0408] 1 MRQTLPLLLL TVLRPSWADP PQEKVPLFRV TQQGPWGSSG SNATDSPCEG LPAADATALT

[0409] 61 LANRNLERLP GCLPRTLRSL DASHNLLRAL STSELGHLEQ LQVLTLRHNR IAALRWGPGG

[0410] 121 PAGLHTLDLS YNQLAALPPC TGPALSSLRA LALAGNPLRA LQPRAFACFP ALQLLNLSCT

[0411] 181 ALGRGAQGGI AEAAFAGEDG APLVTLEVLD LSGTFLERVE SGWIRDLPKL TSLYLRKMPR

[0412] 241 LTTLEGDIFK MTPNLQQLDC QDSPALASVA THIFQDTPHL QVLLFQNCNL SSFPPWTLDS

[0413] 301 SQVLSINLFG NPLTCSCDLS WLLTDAKRTV LSRAADTMCA PAAGSSGPFS ASLSLSQLPG

[0414] 361 VCQSDQSTTL GASHPPCFNR STYAQGTTVA PSAAPATRPA GDQQSVSKAP NVGSRTIAAW

[0415] 421 PHSDAREGTA PSTTNSVAGH SNSSVFPRAA STTRTQHRGE HAPELVLEPD ISAASTPLAS

[0416] 481 KLLGPFPTSW DRSISSPQPG QRTHATPQAP NPSLSEGEIP VLLLDDYSEE EEGRKEEVGT

[0417] 541 PHQDVPCDYH PCKHLQTPCA ELQRRWRCRC PGLSGEDTIP DPPRLQGVTE TTDTSALVHW

[0418] 601 CAPNSVVHGY QIRYSAEGWA GNQSVVGVIY ATARQHPLYG LSPGTTYRVC VLAANRAGLS

[0419] 661 QPRSSGWRSP CAAFTTKPSF ALLLSGLCAA SGLLLASTVV LSACLCRRGQ TLGLQRCDTH

[0420] 721 LVAYKNPAFD DYPLGLQTVS (서열번호: 75).

[0421] 일부 실시양태에서, LRRN4는 서열번호: 75와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, LRRN4는 서열번호: 75와 동일한 서열을 포함한다.

[0422] 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 UPK3B 또는 MHC-I과 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드를 포함한다. UPK3B의 모든 이소형은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 인간 UPK3B 이소형 a 전구체는 NCBI 기록 번호 NP_085047.1에 기재되어 있으며, 그 내용은 이의 전체가 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, UPK3B 이소형 전구체는 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0423] 1 MGLPWGQPHL GLQMLLLALN CLRPSLSLGE WGSWMDASSQ TQGAGGPAGV IGPWAPAPLR

[0424] 61 LGEAAPGTPT PVSVAHLLSP VATELVPYTP QITAWDLEGK VTATTFSLEQ PRCVFDGLAS

[0425] 121 ASDTVWLVVA FSNASRGFQN PETLADIPAS PQLLTDGHYM TLPLSPDQLP CGDPMAGSGG

[0426] 181 APVLRVGHDH GCHQQPFCNA PLPGPGPYRE DPRIHRHLAR AAKWQHDRHY LHPLFSGRPP

[0427] 241 TLGLLGSLYH ALLQPVVAGG GPGAAADRLL HGQALHDPPH PTQRGRHTAG GLQAWPGPPP

[0428] 301 QPQPLAWPLC MGLGEMGRRE(서열번호: 76).

[0429] 인간 UPK3B 이소형 b 전구체는 NCBI 기록 번호 NP_872625.1에 기재되어 있으며, 그 내용은 이의 전체가 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, UPK3B 이소형 b 전구체는 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0430] 1 MGLPWGQPHL GLQMLLLALN CLRPSLSLEL VPYTPQITAW DLEGKVTATT FSLEQPRCVF

[0431] 61 DGLASASDTV WLVVAFSNAS RGFQNPETLA DIPASPQLLT DGHYMTLPLS PDQLPCGDPM

[0432] 121 AGSGGAPVLR VGHDHGCHQQ PFCNAPLPGP GPYRVKFLLM DTRGSPRAET KWSDPITLHQ

[0433] 181 GKTPGSIDTW PGRRSGSMIV ITSILSSLAG LLLLAFLAAS TMRFSSLWWP EEAPEQLRIG

[0434] 241 SFMGKRYMTH HIPPSEAATL PVGCKPGLDP LPSLSP(서열번호: 77).

[0435] 인간 UPK3B 이소형 c 전구체는 NCBI 기록 번호 NP_872624.1에 기재되어 있으며, 그 내용은 이의 전체가 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, UPK3B 이소형 c 전구체는 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0436] 1 MGLPWGQPHL GLQMLLLALN CLRPSLSLEL VPYTPQITAW DLEGKVTATT FSLEQPRCVF

[0437] 61 DGLASASDTV WLVVAFSNAS RGFQNPETLA DIPASPQLLT DGHYMTLPLS PDQLPCGDPM

[0438] 121 AGSGGAPVLR VGHDHGCHQQ PFCNAPLPGP GPYREDPRIH RHLARAAKWQ HDRHYLHPLF

[0439] 181 SGRPPTLGLL GSLYHALLQP VVAGGGPGAA ADRLLHGQAL HDPPHPTQRG RHTAGGLQAW

[0440] 241 PGPPPQPQPL AWPLCMGLGE MGRRE(서열번호: 78).

[0441] 인간 UPK3B 이소형 d 전구체는 NCBI 기록 번호 NP_001334613.1에 기재되어 있으며, 그 내용은 이의 전체가 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, UPK3B 이소형 c 전구체는 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0442] 1 MGLPWGQPHL GLQMLLLALN CLRPSLSLEL VPYTPQITAW DLEGKVTATT FSLEQPRCVF

[0443] 61 DGLASASDTV WLVVAFSNAS RGFQNPETLA DIPASPQLLT DGHYMTLPLS PDQLPCGDPM

[0444] 121 AGSGGAPVLR VGHDHGCHQQ PFCNAPLPGP GPYRVKFLLM DTRGSPRAET KWSDPITLHQ

[0445] 181 GKTPGSIDTW PGRRSGSMIV ITSILSSLAG LLLLAFLAAS TMRFSSLWWP EEAPEQLRIG

[0446] 241 SFMGKRYMTH HIPPREAATL PVGCKPGLDP LPSLSP(서열번호: 79).

[0447] 일부 실시양태에서, UPKB3는 서열번호: 76-79와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 공유하는 서열 또는 부분서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, UPKB3은 서열번호: 76-79와 동일한 서열 또는 부분서열을 포함한다.

[0448] ***억제성 키메라 항원 수용체***

[0449] 본 개시내용은 억제성 키메라 항원 수용체인 제2 수용체를 제공한다. 억제 수용체는 비-표적 항원 또는 MHC-I 복합체 내 이의 펩티드 유도체에 결합하고 이를 인식하는 세포외 리간드 결합 도메인을 포함할 수 있다.

[0450] 본원에서 사용된 용어 "억제 수용체"는 면역 세포의 면역 활성을 억제하거나 저해하는 억제 신호를 전달할 수 있는 세포내 신호전달 도메인에 융합된 리간드 결합 도메인을 지칭한다. 억제 수용체는 면역 세포 억제 잠재력을 갖고, 면역 세포 활성화 잠재력을 갖는 수용체인, CAR과 별개이고 구별된다. 예를 들어, CAR은 세포내 자극 및/또는 공동 자극 도메인을 포함하기 때문에 활성화 수용체이다. 억제 수용체는 세포내 억제 도메인을 함유하는 억제 수용체이다.

[0451] 본원에서 사용된 "억제 신호"는 면역 반응의 저해(예를 들어, 사이토카인 생산 감소 또는 면역 세포 활성화의 감소)를 초래하는 면역 세포에서의 신호전달 또는 단백질 발현의 변화를 지칭한다. 면역 세포의 저해 또는 억제는 선택적 및/또는 가역적이거나 선택적 및/또는 가역적이지 않을 수 있다.

[0452] 본 개시내용의 억제 수용체는 세포외 리간드 결합 도메인을 포함할 수 있다. 리간드 의존적 방식으로 수용체의 활성을 조절할 수 있는 임의의 유형의 리간드 결합 도메인은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 생각된다. 억제 수용체는 비-표적 항원(예를 들어, HLA-A*02)에 반응한다. 예를 들어, 비-표적 항원(예를 들어, HLA-A*02)이 억제 수용체에 결합하거나 접촉하는 경우, 억제 수용체가 반응하고 억제 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인에 의한 비-표적 항원 결합 시 억제 수용체를 발현하는 면역 세포에서 억제 신호를 활성화한다.

[0453] 본 개시내용의 억제 수용체는 세포외 리간드 결합 도메인을 포함할 수 있다. 리간드 의존적 방식으로 수용체의 활성을 조절할 수 있는 임의의 유형의 리간드 결합 도메인은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 생각된다.

[0454] 일부 실시양태에서, 리간드 결합 도메인은 항원 결합 도메인이다. 예시적인 항원 결합 도메인은 특히, scFv, SdAb, Vβ-단독 도메인, 및 TCR α 및 β 사슬 가변 도메인으로부터 유래된 TCR 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0455] 임의의 유형의 항원 결합 도메인은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 생각된다.

[0456] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv이다.

[0457] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 세포내 부착 분자 1(ICAM1), 카테콜-O-메틸트랜스퍼라제(COMT), C-X-C 모티프 케모카인 리간드 16(CXCL16), 류신 풍부 반복 뉴런 4(LRRN4) 및 유로플라킨 3B UPK3B의 다형성 변이체, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I) 또는 HLA-A*02와 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드에 결합하고 이를 인식한다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv이다.

[0458] 일부 실시양태에서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 억제 수용체의 세포외 도메인에 융합된다.

[0459] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 억제 수용체는 세포외 힌지 영역을 포함한다. 예시적인 힌지는 IgD 및 CD8 도메인, 예를 들어 IgG1로부터 단리되거나 유래될 수 있다. 일부 실시양태에서, 힌지는 CD8α 또는 CD28로부터 단리되거나 유래된다.

[0460] 본 개시내용의 억제 수용체는 억제 수용체의 세포외 도메인에 융합된 막관통 도메인을 포함하도록 설계될 수 있다. 일부 경우에, 막관통 도메인은 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하기 위해 동일하거나 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 대한 이러한 도메인의 결합을 피하도록 선택되거나 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다.

[0461] 막관통 도메인은 천연 또는 합성 공급원으로부터 유래될 수 있다. 공급원이 천연인 경우, 도메인은 임의의 막-결합 단백질 또는 막관통 단백질에서 유래될 수 있다. 막관통 영역은 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 사슬, CD28, CD3 입실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154로부터 단리되거나 유래될 수 있거나(즉, 이들의 적어도 막관통 영역(들)을 포함할 수 있거나), IgG4와 같은 면역글로불린으로부터 단리되거나 유래될 수 있다. 대안적으로 막관통 도메인은 합성일 수 있으며, 이 경우 그것은 주로 류신 및 발린과 같은 소수성 잔기를 포함할 것이다. 일부 실시양태에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체는 합성 막관통 도메인의 각 단부에서 발견될 것이다. 임의로 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커, 바람직하게는 2 내지 10개 아미노산 길이가 막관통 도메인과 억제 수용체의 세포내 도메인 사이의 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체는 특히 적합한 링커를 제공한다.

[0462] 본 개시내용은 세포내 도메인을 포함하는 억제 수용체를 제공한다. 본 개시내용의 억제 수용체의 세포내 도메인은 억제 수용체를 포함하는 면역 세포의 활성화 억제를 담당하고, 그렇지 않으면 제1 수용체에 의한 활성화 신호에 대한 반응으로 활성화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 억제 세포내 도메인은 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함한다. 일부 실시양태에서, ITIM을 포함하는 억제 세포내 도메인은 CTLA-4 및 PD-1과 같은 면역 관문 억제제로부터 단리되거나 유래될 수 있다. CTLA-4 및 PD-1은 T 세포의 표면에 발현된 면역 억제 수용체이고, T 세포 반응을 약화시키거나 종료시키는 데 중추적인 역할을 한다.

[0463] 일부 실시양태에서, 억제 세포내 도메인은 인간 종양 괴사 인자 관련 세포자멸사 유도 리간드(TRAIL) 수용체 및 CD200 수용체 1로부터 단리된다. 일부 실시양태에서, TRAIL 수용체는 TR10A, TR10B 또는 TR10D를 포함한다.

[0464] 일부 실시양태에서, 억제 세포내 도메인은 글리코스핑고지질 마이크로도메인 1(PAG1)을 갖는 인단백질 막 앵커로부터 단리된다. 일부 실시양태에서, 억제 세포내 도메인은 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 B1 (LILRB1)로부터 단리된다.

[0465] 일부 실시양태에서, 억제 도메인은 인간 단백질, 예를 들어 인간 TRAIL 수용체, CTLA-4, PD-1, PAG1 또는 LILRB1 단백질로부터 단리되거나 유래된다.

[0466] 일부 실시양태에서, 억제 도메인은 세포내 도메인, 막관통 메인 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 억제 도메인은 세포내 도메인, 막관통 도메인, 힌지 영역 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0467] 일부 실시양태에서, 억제 도메인은 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 3개의 Ig 도메인 및 긴 세포질 꼬리 2(KIR3DL2), 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 3개의 Ig 도메인 및 긴 세포질 꼬리 3(KIR3DL3), 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 B1(LIR1, LIR-1 및 LILRB1이라고도 함), 프로그램된 세포 사멸 1(PD-1), Fc 감마 수용체 IIB(FcgRIIB), 살해 세포 렉틴 유사 수용체 K1(NKG2D), CTLA-4, 합성 공통 ITIM 함유 도메인, ZAP70 SH2 도메인(예를 들어, N 및 C 말단 SH2 도메인 중 하나 또는 둘 모두), 또는 ZAP70 KI_K369A(키나제 불활성 ZAP70)로부터 단리되거나 유래된다.

[0468] 일부 실시양태에서, 억제 도메인은 인간 단백질로부터 단리되거나 유래된다.

[0469] 일부 실시양태에서, 제2, 억제 수용체는 억제 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2, 억제 수용체는 억제 세포내 도메인 및/또는 억제 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 억제 세포내 도메인은 억제 수용체의 세포내 도메인에 융합된다. 일부 실시양태에서, 억제 세포내 도메인은 억제 수용체의 막관통 도메인에 융합된다.

[0470] 일부 실시양태에서, 제2, 억제 수용체는 동일한 단백질, 예를 들어 ITIM 함유 단백질로부터 단리되거나 유래된 세포질 도메인, 막관통 도메인, 및 세포외 도메인 또는 이의 부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2, 억제 수용체는 세포내 도메인 및/또는 막관통 도메인과 동일한 단백질, 예를 들어 ITIM 함유 단백질로부터 단리되거

나 유래된 힌지 영역을 포함한다.

[0471] 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 억제 도메인을 포함하는 TCR(억제 TCR)이다. 일부 실시양태에서, 억제 TCR은 억제 세포내 도메인 및/또는 억제 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 억제 세포내 도메인은 TCR 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 감마 또는 CD3 입실론 또는 이의 일부의 세포내 도메인에 융합된다. 일부 실시양태에서, 억제 세포내 도메인은 TCR 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 감마 또는 CD3 입실론의 막관통 도메인에 융합된다.

[0472] 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 억제 도메인을 포함하는 TCR(억제 TCR)이다. 일부 실시양태에서, 억제 도메인은 LILRB1로부터 단리되거나 유래된다.

[0473] LILRB1 억제 수용체

[0474] 본 개시내용은 LILRB1 억제 도메인, 및 임의로, LILRB1 막관통 및/또는 힌지 도메인, 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는 제2 억제 수용체를 제공한다. 억제 수용체에 LILRB1 막관통 도메인 및/또는 LILRB1 힌지 도메인을 포함하면 또 다른 막관통 도메인 또는 또 다른 힌지 도메인을 갖는 참조 억제 수용체와 비교하여 억제 수용체에 의해 생성된 억제 신호를 증가시킬 수 있다. LILRB1 억제 도메인을 포함하는 제2 억제 수용체는 본원에 기재된 바와 같은 CAR 또는 TCR일 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 임의의 적합한 리간드 결합 도메인은 LILRB1-기반 제2 억제 수용체에 융합될 수 있다.

[0475] 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 B1, 뿐만 아니라 ILT2, LIR1, MIR7, PIRB, CD85J, ILT-2 LIR-1, MIR-7 및 PIR-B로도 알려진, 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 서브패밀리 B 구성원 1(LILRB1)은 백혈구 면역글로불린 유사 수용체(LIR) 계열의 구성원이다. LILRB1 단백질은 LIR 수용체의 서브패밀리 B 클래스에 속한다. 이들 수용체는 2 내지 4개의 세포외 면역글로불린 도메인, 막관통 도메인, 및 2 내지 4개의 세포질 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 함유한다. LILRB1 수용체는 면역 세포에서 발현되며, 항원-제시 세포 상의 MHC 클래스 I 분자에 결합하고 면역 반응의 자극을 억제하는 음성 신호를 전달한다. LILRB1은 세포 독성뿐만 아니라 염증 반응을 조절하고, 자가 반응성을 제한하는 역할을 하는 것으로 생각된다. LILRB1의 상이한 이소형을 암호화하는 다수의 전사 변이체가 존재하며, 이들 모두는 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다.

[0476] 본원에 기재된 억제 수용체의 일부 실시양태에서, 억제 수용체는 LILRB1로부터 단리되거나 유래된 하나 이상의 도메인을 포함한다. LILRB1으로부터 단리되거나 유래된 하나 이상의 도메인을 갖는 수용체의 일부 실시양태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열번호: 54의 서열 또는 부분서열과 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열번호: 54의 서열 또는 부분서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열번호: 54의 서열 또는 부분서열과 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 실시양태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열번호: 54의 서열 또는 부분서열과 동일한 아미노산 서열로 이루어진다.

[0477] LILRB1으로부터 단리되거나 유래된 하나 이상의 도메인을 갖는 수용체의 일부 실시양태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열번호: 55의 서열 또는 부분서열과 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다.

[0478] LILRB1의 하나 이상의 도메인을 갖는 수용체의 일부 실시양태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열번호: 55의 서열 또는 부분서열과 동일한 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다.

[0479] 다양한 실시양태에서, 폴리펩티드를 포함하는 억제 수용체가 제공되며, 여기서 폴리펩티드는 다음 중 하나 이상을 포함한다: LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 변이체; LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체; 및 LILRB1 세포내 도메인 또는 적어도 하나, 또는 적어도 2개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택됨.

[0480] 본원에서 사용된 "면역수용체 티로신계 억제 모티프" 또는 "ITIM"은 면역계의 많은 억제 수용체의 세포질 꼬리에서 발견되는, S/I/V/LxYxxI/V/L(서열번호: 547) 등의 공통 서열을 갖는 아미노산의 보존된 서열을 지칭한다. ITIM-보유 억제 수용체가 그들의 리간드와 상호작용한 후, ITIM 모티프는 인산화되어, 억제 수용체가 포스포티로신 포스파타제 SHP-1 및 SHP-2, 또는 SHIP로 불리는 이노시톨 포스파타제와 같은 다른 효소를 모집할 수

있다.

[0481] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 적어도 하나의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM), 적어도 2개의 ITIM, 적어도 3개의 ITIM, 적어도 4개의 ITIM, 적어도 5개의 ITIM 또는 적어도 6개의 ITIM을 포함하는 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 ITIM을 갖는다.

[0482] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로 이루어진 ITIM 군으로부터 선택된 적어도 하나의 ITIM을 포함하는 세포내 도메인을 포함한다.

[0483] 추가 특정한 실시양태에서, 폴리펩티드는 적어도 2개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인을 포함하고, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0484] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 ITIM NLYAAV(서열번호: 56) 및 VTYAEV(서열번호: 57) 둘 모두를 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 60과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 60과 동일한 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다.

[0485] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 ITIM VTYAEV(서열번호: 57) 및 VTYAQL(서열번호: 58) 둘 모두를 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 61과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 61과 동일한 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다.

[0486] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 ITIM VTYAQL(서열번호: 58) 및 SIYATL(서열번호: 59) 둘 모두를 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 62와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 62와 동일한 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다.

[0487] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 ITIM NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57) 및 VTYAQL(서열번호: 58)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 63과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 63과 동일한 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다.

[0488] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 ITIM VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58) 및 SIYATL(서열번호: 59)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 64와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 64와 동일한 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다.

[0489] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 ITIM NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58) 및 SIYATL(서열번호: 59)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 65와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 서열번호: 65와 동일한 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다.

[0490] 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 LILRB1 세포내 도메인(서열번호: 70)과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포내 도메인은 LILRB1 세포내 도메인(서열번호: 70)과 동일한 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다.

[0491] 본 개시내용의 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 적어도 하나, 적어도 2개, 적어도 4개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개 또는 적어도 8개의 ITIM을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 2, 3, 4, 5 또는 6개의 ITIM을 갖는다.

[0492] 특정 실시양태에서, 세포내 도메인은 2, 3, 4, 5 또는 6개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프 (ITIM)를 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0493] 특정 실시양태에서, 세포내 도메인은 적어도 3개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0494] 특정 실시양태에서, 세포내 도메인은 3개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0495] 특정 실시양태에서, 세포내 도메인은 4개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0496] 특정 실시양태에서, 세포내 도메인은 5개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0497] 특정 실시양태에서, 세포내 도메인은 6개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0498] 특정 실시양태에서, 세포내 도메인은 적어도 7개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0499] LILRB1 단백질은 D1, D2, D3 및 D4라고 불리는 4개의 면역글로불린(Ig) 유사 도메인을 갖는다. 일부 실시양태에서, LILRB1 힌지 도메인은 LILRB1 D3D4 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 D3D4 도메인은 서열번호: 66과 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 D3D4 도메인은 서열번호: 66을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진다.

[0500] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 실시양태에서, LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 73, 서열번호: 66, 또는 서열번호: 67과 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 서열을 포함한다. 실시양태에서, LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 73, 서열번호: 66, 또는 서열번호: 67과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0501] 일부 실시양태에서, LILRB1 힌지 도메인은 서열번호: 73, 서열번호: 66, 또는 서열번호: 67과 동일한 서열을 포함한다.

[0502] 일부 실시양태에서, LILRB1 힌지 도메인은 서열번호: 73, 서열번호: 66, 또는 서열번호: 67과 동일한 서열로 본질적으로 이루어진다.

[0503] 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체이다. 일부 실시양태에서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 74와 적어도 95% 동일한, 적어도 96% 동일한, 적어도 97% 동일한, 적어도 98% 동일한 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 74와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 74와 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, LILRB1 막관통 도메인은 서열번호: 74와 동일한 서열로 본질적으로 이루어진다.

[0504] 일부 실시양태에서, 막관통 도메인은 힌지, 예를 들어, 인간 단백질로부터의 힌지를 통해 제2 억제 수용체, 예를 들어, 항원 결합 도메인 또는 리간드 결합 도메인의 세포외 영역에 부착될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 힌지는 인간 면역글로불린(Ig) 힌지, 예를 들어, IgG4 힌지, CD8a 힌지 또는 LILRB1 힌지일 수 있다.

[0505] 일부 실시양태에서, 제2 억제 수용체는 억제 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 억제 수용체는 억제 세포내 도메인 및/또는 억제 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 억제 도메인은 LILR1B로부터 단리되거나 유래된다.

[0506] LILRB1 도메인의 조합을 포함하는 억제 수용체

[0507] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 LILRB1-기반 억제 수용체는 하나 초과의 LILRB1 도메인 또는 이의 기능적 등가물을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 및 세포내 도메인, 또는 LILRB1 힌지 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 포함한다.

[0508] 특정 실시양태에서, 억제 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 변이체 및 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호: 68과 적어도 95% 동일한, 적어도 96% 동일한, 적어도 97% 동일한, 적어도 98% 동일한, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 서열을 포함한다. 일부 실

시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호: 68과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호: 68과 동일한 서열을 포함한다.

[0509] 추가 실시양태에서, 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체, 및 LILRB1 세포내 도메인 및/또는 적어도 하나의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인을 포함하고, 여기서 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체, 및 LILRB1 세포내 도메인 및/또는 적어도 2개의 ITIM을 포함하는 세포내 도메인을 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열번호: 56), VTYAEV(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0510] 일부 실시양태에서, 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호: 69와 적어도 95% 동일한, 적어도 96% 동일한, 적어도 97% 동일한, 적어도 98% 동일한, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호: 69와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호: 69와 동일한 서열을 포함한다.

[0511] 바람직한 실시양태에서, 억제 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체; LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체; 및 LILRB1 세포내 도메인 및/또는 적어도 2개의 면역수용체 티로신 기반 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인을 포함하며, 여기서 각각의 ITIM은 LYAAV(서열번호: 56), VTYAE(서열번호: 57), VTYAQL(서열번호: 58), 및 SIYATL(서열번호: 59)로부터 독립적으로 선택된다.

[0512] 일부 실시양태에서, 억제 수용체는 서열번호: 71 또는 서열번호: 72와 적어도 95% 동일한, 또는 서열번호: 71 또는 서열번호: 72와 적어도 99% 동일한, 또는 서열번호: 71 또는 서열번호: 72와 동일한 서열을 포함한다.

[0513] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호: 68과 적어도 99% 동일한, 또는 서열번호: 68과 적어도 99% 동일한, 또는 서열번호: 68과 동일한 서열을 포함한다.

[0514] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호: 69와 적어도 99% 동일한, 또는 서열번호: 69와 적어도 99% 동일한, 또는 서열번호: 69와 동일한 서열을 포함한다.

[0515] 표 9: 예시적인 LILRB1-기반 억제 수용체에 대한 폴리펩티드 서열

명칭	서열
LILRB1	MTPILTVLICLGLSLGPRTHVQAGHLPKPTLWAEPGSVITQ GSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTALWITRIPQELVKKG QFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGA YIKPTLSAQPSPVVNSGGNVILQCDSQVAFDGFSLCKEGED EHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPSRRWWYRCYAYDS NSPYEWSLPSDLLELLVLGVSKKPSLSVQPGPIVAPEETLT LQCGSDAGYNRFVLYKDGERDFLQLAGAQPQAGLSQANF TLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQF YDRVSLSVQPGPTVASGENVTLLCQSQGWMQTFLLTKEG AADDPWRLRSTYQSQKYQAEFPMGPVTSAHAGTYRC**YG SQSSKPYLLTHPSDPLEL**VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPE DQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVILLLLLLLLLFLI LRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWR SSPAADAQEEN**LYAAV**KHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQA **VTYAEV**KHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQ MDTEAAASEAPQD**VTYAQ**LHSLTLRREATEPPPSQEGPSP AVP**SIYAT**LAIHPSQEGPSPAVPSIYATLAIH 서열번호: 54
LILRB1 힌지-막관통-세포내 도메인	**YGSQSSKPYLLTHPSDPLEL**VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSG PEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLG**VVIGILVAVILLLLLLLLL FLIL**RHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQ WRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDP QAVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDR QMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPS PAVPSIYATLAIH 서열번호: 71
LILRB1 힌지-막관통-세포내 도메인 (YGSQSSKPYLLTHPSD	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRH LG**VVIGILVAVILLLLLLLLLFLIL**RHRRQGKHWTSTQRK ADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAV KHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHSRPRREMA

[0516]

PLEL (서열번호: 66) 불포함)	SPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYA QLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH 서열번호: 72
LILRB1 힌지 도메인	**YGSQSSKPYLLTHPSDPLEL**VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSG PEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLG 서열번호: 73
LILRB1 막관통 도메인	**VVIGILVAVILLLLLLLLLFLIL** 서열번호: 74
LILRB1 세포내 도메인	RHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRS SPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAV TYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQM DTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPA VPSIYATLAIH 서열번호: 70
ITIM1	NLYAAV 서열번호: 56
ITIM2	VTYAEV 서열번호: 57
ITIM3	VTYAQL 서열번호: 58
ITIM4	SIYATL 서열번호: 59
ITIM1-2	**NLYAAV**KHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQA**VTYAEV** 서열번호: 60
ITIM2-3	**VTYAEV**KHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQ MDTEAAASEAPQD**VTYAQL** 서열번호: 61
ITIM3-4	**VTYAQL**HSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVP**SIYATL** 서열번호: 62
ITIM1-3	**NLYAAV**KHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQA**VTYAEV**KHS RPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEA PQD**VTYAQL**

[0517]

	서열번호: 63
ITIM2-4	**VTYAEV**KHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQ MDTEAAASEAPQD**VTYAQL**HSLTLRREATEPPPSQEGPSP AVP**SIYATL** 서열번호: 64
ITIM1-4	**NLYAAV**KHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQA**VTYAEV**KHS RPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEA PQD**VTYAQL**HSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVP**SIYATL** 서열번호: 65
D3D4 도메인	**YGSQSSKPYLLTHPSDPLEL** 서열번호: 66
짧은 힌지	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRH LG 서열번호: 67
힌지 (iTIM 힌지)	YGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGP EDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV (서열번호: 81)
짧은 힌지 2	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRH LGV (서열번호: 82)
긴 힌지 1	AGSGGSGGSGGSPVPSTPPTPSPSTPPTPSPSGGSGNSSGSG GSPVPSTPPTPSPSTPPTPSPSASV (서열번호: 83)
긴 힌지 2	AGSGGSGGSGGSPVPSTPPTNSSSTPPTPSPSPVPSTPPTNSS STPPTPSPSPVPSTPPTNSSSTPPTPSPSASV (서열번호: 84)
2X 짧은 힌지	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRH VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRH LGV 서열번호: 91
힌지 (절단)	TTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV (서열번호: 90)
힌지-막관통	**YGSQSSKPYLLTHPSDPLEL**VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSG PEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLG**VVIGILVAVILLLLLLLLL FLIL** 서열번호: 68

[0518]

막관통-세포내 도메인.	**VVIGILVAVILLLLLLLLLFLIL**RHRRQGKHWTSTQRKA DFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVK HTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHSRPRREMAS PPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYA QLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH 서열번호: 69

[0519]

[0520] 본 개시내용의 예시적인 억제 수용체는 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 비-표적 항원 중 임의의 것에 특이적인 scFv를 포함하며, 그 서열은 표 5에 제시되어 있으며, LILRB1 힌지, 막관통 및 세포내 도메인의 N 말단에 융합된다. 일부 실시양태에서, LILRB1 힌지는 서열번호: 73의 서열을 포함하고, LILRB1 막관통 도메인은 서열번호: 74의 서열을 포함하고, LILRB1 세포내 도메인은 서열번호: 70의 서열을 포함한다. 예를 들어, 제2 억제 수용체는 서열번호: 71의 N 말단에 융합된 표 5의 scFv 서열을 포함한다.

[0521] 추가 예로서, 비-표적 항원은 HLA-A*02를 포함하고, 제2 억제 수용체는 DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPRT SGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGQVQLQQSGPELVKPGASVRISCKASGYTFTSYHIHWVKQRPGQGLEWIGWIYPGNVNTEYNEKFKGKATLTADKS

SSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCAREEITYAMDYWGQGTSVTVSSYGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLG
RHLGVVIGILVAVILLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQ
AVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH(서열번호:
348)의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*02를 포함하고 제2 억제 수용체는 서열번호: 348의 서열을 포함한다.

[0522] 또 다른 예로서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 억제 수용체는 EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRLKSTNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYCTTLI
TPDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTTVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTD
FTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPPTFGGGTKLEIKYGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVV
IGILVAVILLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAE
VKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH(서열 번호:
1268)의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*03을 포함하고, 제2 억제 수용체는 서열번호: 1268의 서열을 포함한다.

[0523] 해당 뉴클레오티드 서열은 다음을 포함한다:
ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTACTCTGGCTCCGAGGTGCCAGATGTGAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTG
CAACCTGGAGGATCTATGAAACTCTCCTGTGTTGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAACTACTGGATGAACTGGGTCCGCCAGTCTCCAGAGAAGGGGCTTGAG
TGGGTTGCTGAAATTAGATTGAAATCTACTAATTATGCAACACATTATGCGGAGTCTGTGAAAGGGAGGTTCACCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAGTAGT
GTCTACCTGCAAATGAACAACTTAAGAGCTGAAGACACTGGCATTTATTACTGTACTACTCTGATTACCCCTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACA
GTCTCCTCAGGAGGTGGCGGCTCTGGAGGCGGAGGTAGCGGAGGTGGAGGCTCTGGTGGCGACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCA
GTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTACTGTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTGATT
TATTCGGCATCCTACCGGTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGAC
CTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAACATTATAGTACTCCTCCCACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAATACGGCTCACAGAGCTCCAAACCCTAC
CTGCTGACTCACCCCAGTGACCCCCTGGAGCTCGTGGTCTCAGGACCGTCTGGGGGCCCCAGCTCCCCGACAACAGGCCCCACCTCCACATCTGGCCCTGAG
GACCAGCCCCTCACCCCCACCGGGTCGGATCCCCAGAGTGGTCTGGGAAGGCACCTGGGGGTTGTGATCGGCATCTTGGTGGCCGTCATCCTACTGCTCCTC
CTCCTCCTCCTCCTCTTCCTCATCCTCCGACATCGACGTCAGGGCAAACACTGGACATCGACCCAGAGAAAGGCTGATTTCCAACATCCTGCAGGGGCTGTG
GGGCCAGAGCCCACAGACAGAGGCCTGCAGTGGAGGTCCAGCCCAGCTGCCGATGCCCAGGAAGAAAACCTCTATGCTGCCGTGAAGCACACACAGCCTGAG
GATGGGGTGGAGATGGACACTCGGAGCCCACACGATGAAGACCCCCAGGCAGTGACGTATGCCGAGGTGAAACACTCCAGACCTAGGAGAGAAATGGCCTCT
CCTCCTTCCCCACTGTCTGGGGAATTCCTGGACACAAAGGACAGACAGGCGGAAGAGGACAGGCAGATGGACACTGAGGCTGCTGCATCTGAAGCCCCCCAG
GATGTGACCTACGCCCAGCTGCACAGCTTGACCCTCAGACGGGAGGCAACTGAGCCTCCTCCATCCCAGGAAGGGCCCTCTCCAGCTGTGCCCAGCATCTAC
GCCACTCTGGCCATCCAC (서열번호: 1258)

[0524] 또 다른 예로서, 비-표적 항원은 HLA-A*011을 포함하고, 제2 억제 수용체는 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCCLGVLL
YNWFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG
TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKYGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLG
VVIGILVAVILLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTY
AEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH(서열번호:
1269)의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*011을 포함하고, 제2 억제 수용체는 서열번호: 1269의 서열을 포함한다.

[0525] 해당 뉴클레오티드 서열은 다음을 포함한다:
ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTACTCTGGCTCCGAGGTGCCAGATGTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTG
CAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGTC
TGGGTGTCTCGAATCAACAGCGACGGCAGCAGCACCAGCTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACACCCTGTAC
CTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTTGTTTGGGTGTTTTATTATACAACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTG
GTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT
GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTC

CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAGTACGGCTCACAGAGCTCCAAA
CCCTACCTGCTGACTCACCCCAGTGACCCCCTGGAGCTCGTGGTCTCAGGACCGTCTGGGGGCCCCAGCTCCCCGACAACAGGCCCCACCTCCACATCTGGC
CCTGAGGACCAGCCCCTCACCCCCACCGGGTCGGATCCCCAGAGTGGTCTGGGAAGGCACCTGGGGGTTGTGATCGGCATCTTGGTGGCCGTCATCCTACTG
CTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCTTCCTCATCCTCCGACATCGACGTCAGGGCAAACACTGGACATCGACCCAGAGAAAGGCTGATTTCCAACATCCTGCAGGG
GCTGTGGGGCCAGAGCCCACAGACAGAGGCCTGCAGTGGAGGTCCAGCCCAGCTGCCGATGCCCAGGAAGAAAACCTCTATGCTGCCGTGAAGCACACACAG
CCTGAGGATGGGGTGGAGATGGACACTCGGAGCCCACACGATGAAGACCCCCAGGCAGTGACGTATGCCGAGGTGAAACACTCCAGACCTAGGAGAGAAATG
GCCTCTCCTCCTTCCCCACTGTCTGGGGAATTCCTGGACACAAAGGACAGACAGGCGGAAGAGGACAGGCAGATGGACACTGAGGCTGCTGCATCTGAAGCC
CCCCAGGATGTGACCTACGCCCAGCTGCACAGCTTGACCCTCAGACGGGAGGCAACTGAGCCTCCTCCATCCCAGGAAGGGCCCTCTCCAGCTGTGCCCAGC
ATCTACGCCACTCTGGCCATCCAC(서열번호: 1271).

[0526] 또 다른 예로서, 비-표적 항원은 HLA-B*07을 포함하고, 제2 억제 수용체는 DVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSGYSWHWIRQFPRNKLEWMGYIHFSGSTHYHPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGGVV SHYAMDCWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIYSNLAWYQQKQGKSPHLLVYAATYLPDGVPSRFSGSGS GTQYSLKINSLQSEDFGSYYCQHFWVTPYTFGGGTKVEIKYGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHL GVVIGILVAVILLLLLLLLFLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVT YAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH(서열번호: 1270)의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-B*07을 포함하고, 제2 억제 수용체는 서열번호: 1270의 서열을 포함한다.

[0527] 해당 뉴클레오티드 서열은 다음을 포함한다: GATGTGCAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGACCTGGTGAAACCTTCTCAGTCACTTTCACTCACCTGCACTGTCACTGGCTACTCCATCACCAGTGGTTATAGC TGGCACTGGATCCGGCAGTTTCCAAGAAACAAACTGGAATGGATGGGCTACATACACTTCAGTGGTAGCACTCACTACCATCCATCTCTCAAAAGTCGAATC TCTATCACTCGAGACACATCCAAGAACCAGTTCTTCCTGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAAGAGGGGGGGTAGTG TCCCACTATGCTATGGACTGCTGGGGTCAGGGAACCTCAGTCACCGTGTCCTCAGGAGGTGGCGGCTCTGGAGGCGGAGGTAGCGGAGGTGGAGGCTCTGGT GGCGACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGTATCTGTGGGAGAAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTAATTTA GCATGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTCCTCACCTCCTGGTCTATGCTGCAACATACTTACCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCA GGCACACAATATTCCCTCAAGATCAACAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGGGAGTTATTACTGTCAACATTTTTGGGTTACTCCGTACACGTTCGGAGGGGGG ACCAAGGTGGAAATAAAA(서열번호: 1256).

[0528] ***폴리뉴클레오티드 및 벡터***

[0529] 본 개시내용은 본 개시내용의 제1 및 제2 수용체의 서열(들)을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 개시내용은 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 및 벡터를 포함하는 면역 세포를 제공한다.

[0530] 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 수용체의 서열은 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체를 암호화하는 서열은 제1 프로모터에 작동 가능하게 연결되고, 제2 수용체를 암호화하는 서열은 제2 프로모터에 작동 가능하게 연결된다.

[0531] 본 개시내용은 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0532] 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 제1 벡터에 의해 암호화되고 제2 수용체는 제2 벡터에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, 수용체 둘 모두 단일 벡터에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 벡터는 shRNA, 예를 들어 B2M shRNA를 포함한다.

[0533] 일부 실시양태에서, 수용체 둘 모두가 단일 벡터에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, 벡터는 shRNA, 예를 들어 B2M shRNA를 포함한다.

[0534] 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 수용체는 단일 벡터에 의해 암호화된다. 단일 벡터를 사용하여 다수의 폴리펩티드를 암호화하는 방법은 당업자에게 공지되어 있을 것이며, 특히, 상이한 프로모터의 제어 하에 다수의 폴리펩티드를 암호화하거나, 단일 프로모터를 사용하여 다수의 폴리펩티드의 전사를 제어하는 경우, 내부 리보솜 진입 부위(IRES) 및/또는 자가 절단 펩티드를 암호화하는 서열의 사용을 포함한다. 예시적인 자가 절단 펩티드는 T2A, P2A, E2A 및 F2A 자가 절단 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, T2A 자가 절단 펩티드 EGRGSLLTCGDVEENPGP(서열번호: 764)의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, P2A 자가 절단 펩티드는

ATNFSLLKQAGDVEENPGP(서열번호: 765)의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, E2A 자가 절단 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP(서열번호: 766)의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, F2A 자가 절단 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(서열번호: 767)의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, T2A 자가 절단 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP(서열번호: 764)의 서열을 포함한다. 전술한 것 중 임의의 것은 또한 N 말단 GSG 링커를 포함할 수 있다. 예를 들어, T2A 자가 절단 펩티드는 또한 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(서열번호: 351)의 서열을 포함할 수 있고, 이는 GGATCCGGAGAGGGCAGAGGCAGCCTGCTGACATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCTGGCCCC(서열번호: 768)의 서열에 의해 암호화될 수 있다.

[0535] 일부 실시양태에서, 벡터는 발현 벡터, 즉 적합한 세포에서 제1 및/또는 제2 수용체의 발현을 위한 것이다.

[0536] 렌티바이러스와 같은 레트로바이러스에서 유래된 벡터는 이식 유전자의 장기적이고 안정적인 통합과 딸 세포에서의 전파를 허용하기 때문에 장기 유전자 전달을 달성하는 데 적합한 도구이다. 렌티바이러스 벡터는 간세포와 같은 비증식 세포를 형질도입할 수 있다는 점에서 뮤린 백혈병 바이러스와 같은 종양-레트로바이러스에서 유래한 벡터에 비해 추가적인 이점이 있다. 그들은 또한 낮은 면역원성이라는 추가적인 이점을 가지고 있다.

[0537] 수용체를 암호화하는 천연 또는 합성 핵산의 발현은 전형적으로 수용체 또는 그의 일부를 암호화하는 핵산을 프로모터에 작동 가능하게 연결하고 작제물을 발현 벡터에 혼입함으로써 달성된다. 벡터는 복제 및 통합 진핵생물에 적합할 수 있다. 전형적인 클로닝 벡터는 원하는 핵산 서열의 발현 조절에 유용한 전사 및 번역 종결자, 개시 서열 및 프로모터를 함유한다.

[0538] 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 여러 유형의 벡터로 클로닝될 수 있다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드는 플라스미드, 파지미드, 파지 유도체, 동물 바이러스 및 코스미드를 포함하지만 이에 제한되지 않는 벡터로 클로닝될 수 있다. 특히 관심있는 벡터에는 발현 벡터, 복제 벡터, 프로브 생성 벡터 및 시퀀싱 벡터가 포함된다.

[0539] 추가로, 발현 벡터는 바이러스 벡터의 형태로 면역 세포와 같은 세포에 제공될 수 있다. 바이러스 벡터 기술은 당업계에 잘 알려졌으며, 예를 들어, Sambrook 등(2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York), 및 기타 바이러스학 및 분자생물학 매뉴얼에 기재되어 있다. 벡터로서 유용한 바이러스는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스, 헤르페스 바이러스 및 렌티바이러스를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일반적으로, 적합한 벡터는 적어도 하나의 유기체에서 기능적인 복제 기점, 프로모터 서열, 편리한 제한 엔도뉴클레아제 부위 및 하나 이상의 선택가능한 마커를 함유한다(예를 들어, WO 01/96584; WO 01/29058; 및 미국 특허 번호 6,326,193).

[0540] 다수의 바이러스 기반 시스템이 포유류 세포로 유전자 전달을 위해 개발되었다. 예를 들어, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편리한 플랫폼을 제공한다. 선택된 유전자는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 벡터에 삽입되고 레트로바이러스 입자에 패키징될 수 있다. 이어서 재조합 바이러스는 단리되어 생체 내 또는 생체 외 대상체의 세포로 전달될 수 있다. 다수의 레트로바이러스 시스템이 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다. 다수의 아데노바이러스 벡터가 당업계에 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 렌티바이러스 벡터가 사용된다.

[0541] 추가 프로모터 요소, 예를 들어, 인핸서는 전사 개시 빈도를 조절한다. 전형적으로, 이들은 시작 부위의 업스트림 30-110 염기쌍(bp) 영역에 위치하지만, 최근에는 많은 프로모터가 시작 부위의 다운스트림에도 기능적 요소를 포함하는 것으로 나타났다. 프로모터 요소 사이의 간격은 종종 유연하므로 요소가 반전되거나 서로 상대적으로 이동할 때 프로모터 기능이 보존된다. 티미딘 키나제(tk) 프로모터에서, 프로모터 요소 사이의 간격은 활성이 감소하기 시작하기 전에 50 bp 간격으로 증가될 수 있다. 프로모터에 따라, 개별 요소가 협력적으로 또는 독립적으로 기능하여 전사를 활성화할 수 있는 것으로 보인다.

[0542] 적합한 프로모터의 한 예는 즉시 초기 시토메갈로바이러스(CMV) 프로모터 서열이다. 이 프로모터 서열은 작동 가능하게 연결된 임의의 폴리뉴클레오티드 서열의 높은 수준의 발현을 유도할 수 있는 강력한 구성적 프로모터 서열이다. 적합한 프로모터의 또 다른 예는 신장 성장 인자-1α(EF-1α)이다. 그러나, 유인원 바이러스 40(SV40) 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스(MMTV), 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 긴 말단 반복(LTR) 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, 엡스테인-바 바이러스 즉시 초기 프로모터, 라우스 육종 바이러스 프로모터, U6 프로모터, 뿐만 아니라 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 헤모글로빈프로모터, 및 크레아틴 키나제 프로모터와 같지만, 이에 제한되지 않는 인간 유전자 프로모터를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 다른 구성적 프로모터 서열이 사용될 수 있다. 추가로, 본 개시내용은 구성적 프로모터의 사용에 제한

되지 않아야 한다. 유도성 프로모터도 본 발명의 일부로 고려된다. 유도성 프로모터의 사용은 그러한 발현이 요구될 때 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드 서열의 발현을 켜거나 발현이 요구되지 않을 때 발현을 끌 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 유도성 프로모터의 예는 메탈로티오닌 프로모터, 글루코코르티코이드 프로모터, 프로게스테론 프로모터, 및 테트라사이클린 프로모터를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0543] 수용체의 발현을 평가하기 위해, 세포 내로 도입될 발현 벡터는 또한 바이러스 벡터를 통해 형질감염 또는 감염시키려는 세포 집단으로부터 발현 세포의 식별 및 선택을 용이하게 하기 위해 선별 가능한 마커 유전자 또는 리포터 유전자 또는 둘 모두를 함유할 수 있다. 다른 양태에서, 선별 가능한 마커는 별도의 DNA 조각으로 운반될 수 있고 공동-형질감염 절차에 사용될 수 있다. 선별 가능한 마커 및 리포터 유전자 모두는 숙주 세포에서 발현을 가능하게 하는 적절한 조절 서열이 측면에 있을 수 있다. 유용한 선별 마커는 예를 들어, neo 등과 같은 항생제 내성 유전자를 포함한다.

[0544] 리포터 유전자는 잠재적으로 형질감염되거나 형질도입된 세포를 식별하고 조절 서열의 기능을 평가하는 데 사용된다. 일반적으로, 리포터 유전자는 수용 유기체 또는 조직에 존재하지 않거나 이에 의해 발현되지 않으며 발현이 예를 들어 효소 활성과 같은 일부 쉽게 검출할 수 있는 특성에 의해 나타나는 폴리펩티드를 암호화하는 유전자이다. 리포터 유전자의 발현은 DNA가 수용 세포에 도입된 후 적합한 시간에 검정된다. 적합한 리포터 유전자는 루시퍼라제, 베타-갈락토시다제, 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제, 분비된 알칼리 포스파타제 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 암호화하는 유전자를 포함할 수 있다(예를 들어, Ui-Tei 등, 2000 FEBS Letters 479: 79-82). 적합한 발현 시스템은 잘 알려져 있고 공지된 기술을 사용하여 제조되거나 상업적으로 입수될 수 있다. 일반적으로, 가장 높은 수준의 리포터 유전자 발현을 나타내는 최소 5' 측면 영역을 갖는 작제물은 프로모터로 식별된다. 이러한 프로모터 영역은 리포터 유전자에 연결될 수 있으며 프로모터-구동 전사를 조절하는 능력에 대한 작용제를 평가하는 데 사용될 수 있다.

[0545] 유전자를 세포에 도입하고 발현시키는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 발현 벡터와 관련하여, 벡터는 당업계의 임의의 방법에 의해 숙주 세포, 예를 들어 포유동물, 박테리아, 효모 또는 곤충 세포 내로 용이하게 도입될 수 있다. 예를 들어, 발현 벡터는 물리적, 화학적 또는 생물학적 수단에 의해 숙주 세포로 전달될 수 있다.

[0546] 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포에 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전법, 리포펙션법, 입자 충격법, 미세주입법, 전기천공법 등을 포함한다 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 생산하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, Sambrook 등(2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York) 참조. 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포에 도입하는 한 가지 방법은 인산칼슘 형질감염이다.

[0547] 관심 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포에 도입하기 위한 생물학적 방법은 DNA 및 RNA 벡터의 사용을 포함한다. 바이러스 벡터, 특히 레트로바이러스 벡터는 포유동물, 예를 들어, 인간 세포에 유전자를 삽입하는 데 가장 널리 사용되는 방법이 되었다. 다른 바이러스 벡터는 렌티바이러스, 폭스바이러스, 단순 헤르페스 바이러스 I, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,350,674 및 5,585,362를 참조한다.

[0548] 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포에 도입하기 위한 화학적 방법은 거대분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로스피어, 비드, 및 수중유 에멀젼, 미셀, 혼합 미셀 및 리포솜을 포함하는 지질 기반 시스템과 같은 콜로이드 분산 시스템을 포함한다. 시험관 내 및 생체 내 전달 비히클로 사용하기 위한 예시적인 콜로이드 시스템은 리포솜(예를 들어, 인공 막 소포)이다.

[0549] 외인성 핵산을 숙주 세포에 도입하거나 본 발명의 억제제에 세포를 노출시키는 데 사용되는 방법과 상관없이, 숙주 세포 내 재조합 DNA 서열의 존재를 확인하기 위해 다양한 검정을 수행할 수 있다. 이러한 검정은 예를 들어, 서던 및 노던 블롯팅, RT-PCR 및 PCR과 같은 당업자에게 잘 알려진 "분자 생물학적" 검정; 예를 들어, 면역학적 수단(ELISA 및 웨스턴 블롯) 또는 본 개시내용의 범위 내에 속하는 작용제를 확인하기 위한 본원에 기재된 검정에 의해 특정 펩티드의 존재 또는 부재를 검출하는 것과 같은 "생화학적" 검정을 포함한다.

[0550] ***면역 세포***

[0551] 본 개시내용은 본원에 기재된 수용체, 벡터 및 폴리뉴클레오티드를 포함하는 면역 세포를 제공한다.

[0552] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 (a) (i) 주요 조직적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 암세포 특이적 항원 또는 이의 펩티드 항원; 또는 (ii) MSLN, 또는 주요 조직적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원으로부터 선택된 표적 항원에 특이적인 제1 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는

제1 수용체; 및 (b) 세포내 부착 분자 1(ICAM1), 카테콜-O-메틸트랜스퍼라제(COMT), C-X-C 모티프 케모카인 리간드 16(CXCL16), 류신 풍부 반복 뉴런 4(LRRN4) 및 유로플라킨 3B UPK3B로부터 선택된 비-표적 항원, 또는 주요 조직적합성 복합체 클래스 I(MHC-I), 또는 HLA-A*02와 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드에 특이적인 제2 세포외 리간드 결합을 포함하는 제2 수용체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체는 CAR 또는 TCR이다. 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 억제 수용체, 예컨대 억제성 키메라 항원 수용체 또는 TCR이다.

[0553] 본 개시내용은 서열번호: 303의 서열을 포함하는 제1 수용체, 및 서열번호: 348의 서열을 포함하는 제2 수용체, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 면역 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 서열번호: 349 또는 350을 포함하는 서열 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된 shRNA를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 서열번호: 303의 서열을 포함하는 제1 수용체, 서열번호: 348의 서열을 포함하는 제2 수용체 및 서열번호: 349 또는 350의 서열을 포함하는 shRNA를 암호화하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 단일 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되고, 여기서 제1 및 제2 수용체를 암호화하는 서열은 자가 절단 폴리펩티드를 암호화하는 서열에 의해 분리된다. 일부 실시양태에서, 자가 절단 폴리펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(서열번호: 351)의 서열을 포함하는 T2A 자가 절단 폴리펩티드를 포함한다.

[0554] 본 개시내용은 또한 서열번호: 303의 서열을 포함하는 제1 수용체, 및 서열번호: 1268의 서열을 포함하는 제2 수용체, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 면역 세포를 제공한다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 서열번호: 349 또는 350을 포함하는 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화되는 shRNA를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 서열번호: 303의 서열을 포함하는 제1 수용체, 서열번호: 1268의 서열을 포함하는 제2 수용체, 및 서열번호: 349 또는 350의 서열을 포함하는 shRNA를 암호화하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 단일 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되고, 여기서 제1 및 제2 수용체를 암호화하는 서열은 자가 절단 폴리펩티드를 암호화하는 서열에 의해 분리된다. 일부 실시양태에서, 자가 절단 폴리펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(서열번호: 351)의 서열을 포함하는 T2A 자가 절단 폴리펩티드를 포함한다.

[0555] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "면역 세포"는 선천적 또는 후천적(획득) 면역계에 수반되는 세포를 지칭한다. 예시적인 선천성 면역 세포는 호중구, 단핵구 및 대식세포와 같은 식세포, 자연 살해(NK) 세포, 호중구 호산구 및 호염기구와 같은 다형핵성 백혈구 및 단핵구, 대식세포 및 비만 세포와 같은 단핵 세포를 포함한다. 후천 면역의 역할을 하는 면역세포는 T-세포 및 B-세포와 같은 림프구를 포함한다.

[0556] 본원에서 사용되는 바와 같이, "T-세포"는 흉선에서 발생하는 골수 전구체로부터 유래하는 유형의 림프구를 지칭한다. 흉선으로 이동할 때 발생하는 여러 개별 유형의 T-세포는 헬퍼 CD4+ T-세포, 세포독성 CD8+ T 세포, 기억 T 세포, 조절 CD4+ T-세포 및 줄기 기억 T-세포를 포함한다. 상이한 유형의 T-세포는 그들의 마커 발현에 기초하여 통상의 기술자에 의해 구별될 수 있다. T-세포 유형을 구별하는 방법은 당업자에게 쉽게 자명할 것이다.

[0557] 일부 실시양태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 표적 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시킨다.

[0558] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 CD4+, CD8+, 감마 델타 T 세포, 불변 T 세포, iNK 세포, NK 세포, 대식세포 또는 이들의 조합이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 감마 델타(γδ) T 세포이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 불변 T 세포이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 불변 자연 살해 T 세포(iNKT 세포)이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 B 세포이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 자연 살해(NK) 세포이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 CD8-이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 CD8+이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 CD4+이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 CD4-이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 CD8-/CD4+이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 CD8+ CD4- T 세포이다.

[0559] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 비-자연 세포이다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 단리된다.

[0560] T 세포와 같은, 면역 세포의 집단을 본 개시내용의 벡터로 형질전환시키는 방법은 당업자에게 쉽게 자명할 것이다. 예를 들어, CD3+ T 세포는 제조업체의 지침에 따라 CD3+ T 세포 음성 분리 키트(Miltenyi)를 사용하여 PBMC로부터 단리할 수 있다. T 세포는 CD3/28 다이나비드(1:1 세포 대 비드 비율) 및 300 단위/mL의 IL-2(Miltenyi)의 존재 하에 5% 인간 A/B 혈청 및 1% Pen/strep이 보충된 X-Vivo 15 배지에서 1 x 10^6 세포/mL의 밀도로 배양될 수 있다. 2일 후, 당업계에 공지된 방법을 사용하여 렌티바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터로 T 세포를 형질도입할 수 있다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 5의 감염 다중도(MOI)에서 형질도입된다.

그런 다음 세포는 IL-2 또는 IL-7/15/21의 조합과 같은 다른 사이토카인에서 농축 전 추가 5일 동안 배양될 수 있다. B 세포와 같은 면역 세포의 다른 집단, 또는 다른 T 세포 집단을 단리하고 배양하는 방법은 당업자에게 쉽게 자명할 것이다. 이 방법은 잠재적인 접근 방식을 개략적으로 설명하지만 이러한 방법론이 빠르게 진화하고 있다는 점에 유의해야 한다. 예를 들어 말초 혈액 단핵 세포의 우수한 바이러스 형질도입은 성장 5일 후에 달성되어 >99% CD3+ 고도로 형질도입된 세포 집단을 생성할 수 있다.

[0561] TCR, CAR, 억제 수용체, 수용체 또는 이를 암호화하는 벡터를 포함하는 T 세포 집단을 활성화 및 배양하는 방법은 당업자에게 쉽게 자명할 것이다.

[0562] TCR을 발현하기 위한 T 세포의 유전적 변형 전이든 후이든, T 세포는 일반적으로 예를 들어, 미국 특허 번호 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 6,867,041, 10040846; 및 미국 특허 출원 공개 번호 2006/0121005에 기재된 바와 같은 방법을 사용하여 활성화되고 확장될 수 있다.

[0563] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 T 세포는 시험관 내에서 확장되고 활성화된다. 일반적으로, 본 개시내용의 T 세포는 CD3/TCR 복합체 연관 신호를 자극하는 작용제 및 T 세포의 표면 상의 공동 자극 분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 시험관 내에서 확장된다. 특히, T 세포 집단은 예를 들어 항-CD3 항체와의 접촉에 의해 본원에 기재된 바와 같이 자극될 수 있다. T 세포의 표면의 보조 분자의 공동 자극을 위해, 보조 분자에 결합하는 리간드가 사용된다. 예를 들어, T 세포의 집단은 T 세포의 증식을 자극하기에 적합한 조건 하에서 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉할 수 있다. CD4+ T 세포 또는 CD8+ T 세포의 증식을 자극하기 위해, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체를 사용할 수 있다. 항-CD28 항체의 예는 9.3, B-T3, XR-CD28(Diaclone, Besançon, 프랑스)을 포함하고, 당업계에 일반적으로 알려진 다른 방법(Berg 등, Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen 등, J. Exp. Med. 190(9):13191328, 1999; Garland 등, J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999)처럼 사용될 수 있다.

[0564] 일부 실시양태에서, T 세포에 대한 1차 자극 신호 및 공동 자극 신호는 상이한 프로토콜에 의해 제공될 수 있다. 예를 들어, 각 신호를 제공하는 작용제는 용액에 있거나 표면에 결합될 수 있다. 표면에 결합될 때, 작용제는 동일한 표면(즉, "시스" 형태) 또는 분리된 표면(즉, "트랜스" 형태)에 결합될 수 있다. 대안적으로, 하나의 작용제는 표면에 결합되고 다른 작용제는 용액에 있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 공동 자극 신호를 제공하는 작용제는 세포 표면에 결합되고 1차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 용액 중에 있거나 표면에 결합된다. 특정 실시양태에서, 두 제제 모두 용액 상태일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 작용제는 가용성 형태일 수 있고, 이어서 표면, 예컨대 Fc 수용체를 발현하는 세포 또는 작용제에 결합할 항체 또는 다른 결합제에 가교 결합될 수 있다. 이와 관련하여, 예를 들어, 본 개시내용에서 T 세포를 활성화 및 확장하는데 사용하기 위해 고려되는 인공 항원 제시 세포(aAPC)에 대한 미국 특허 출원 공개 번호 20040101519 및 20060034810을 참조한다.

[0565] 일부 실시양태에서, 2개의 작용제는 동일한 비드에, 즉, "시스"로 또는 별도의 비드에, 즉, "트랜스"로 비드에 고정화된다. 예로서, 1차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 항-CD3 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고 공동 자극 신호를 제공하는 작용제는 항-CD28 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고; 두 작용제는 동일한 분자량으로 동일한 비드에 공동 고정화된다. 한 실시양태에서, CD4+ T 세포 확장 및 T 세포 성장을 위해 비드에 결합된 1:1 비율의 각 항체가 사용된다. 일부 실시양태에서, 비드에 결합된 CD3:CD28 항체의 비율은 100:1 내지 1:100 범위이고 그 사이의 모든 정수 값 범위이다. 본 개시내용의 한 양태에서, 항-CD3 항체보다 더 많은 항-CD28 항체가 입자에 결합되며, 즉 CD3:CD28의 비율은 1 미만이다. 본 개시내용의 특정 실시양태에서, 비드에 결합된 항 CD28 항체 대 항 CD3 항체의 비율은 2:1보다 크다.

[0566] 1:500 내지 500:1 및 그 사이의 임의의 정수 값의 입자 대 세포 비율을 사용하여 T 세포 또는 다른 표적 세포를 자극할 수 있다. 당업자가 쉽게 알 수 있는 바와 같이, 입자 대 세포의 비율은 표적 세포에 대한 입자 크기에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 작은 크기의 비드는 몇 개의 세포에만 결합할 수 있는 반면 큰 비드는 많은 세포에 결합할 수 있다. 특정 실시양태에서 세포 대 입자의 비율은 1:100 내지 100:1 범위이고 그 사이의 임의의 정수 값 범위이고 추가 실시양태에서 비율은 1:9 내지 9:1 및 그 사이의 임의의 정수 값을 포함하고, 이들 또한 T 세포를 자극하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 1:1 세포 대 비드의 비율이 사용된다. 당업자는 다양한 다른 비율이 본 발명에 사용하기에 적합할 수 있음을 이해할 것이다. 특히, 비율은 입자 크기와 세포 크기 및 유형에 따라 달라질 것이다.

[0567] 본 개시내용의 추가 실시양태에서, 세포, 예를 들어 T 세포는 작용제-코팅된 비드와 결합되고, 비드 및 세포는

후속적으로 분리된 다음 세포가 배양된다. 대안적인 실시양태에서, 배양 전에 작용제-코팅된 비드 및 세포는 분리되지 않고 함께 배양된다. 추가 실시양태에서, 비드 및 세포는 자기력과 같은 힘의 적용에 의해 먼저 농축되어 세포 표면 마커의 결찰이 증가되어 세포 자극을 유도한다.

[0568] 예로서, 세포 표면 단백질은 항-CD3 및 항-CD28가 부착된 상자성 비드가 T 세포와 접촉하도록 함으로써 결찰될 수 있다. 한 실시양태에서 세포(예를 들어, CD4+ T 세포) 및 비드(예를 들어, 1:1 비율의 DYNABEADS CD3/CD28 T 상자성 비드)는 완충액에서 결합된다. 다시, 당업자는 임의의 세포 농도가 사용될 수 있음을 쉽게 인식할 수 있다. 특정 실시양태에서 세포와 입자의 최대 접촉을 보장하기 위해 입자와 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는 것(즉, 세포의 농도를 증가시키는 것)이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 약 20억 세포/ml의 농도가 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 1억 초과 세포/ml가 사용된다. 추가 실시양태에서, 1천, 1천5백, 2천, 2천5백, 3천, 3천5백, 4천, 4천5백, 또는 5천만 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 7천5백, 8천, 8천5백, 9천, 9천5백, 또는 1억 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가 실시양태에서, 1억 2500만 또는 1억 5000만 세포/ml의 농도가 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, $1x10^6$ 세포/mL의 밀도로 배양되는 세포가 사용된다.

[0569] 일부 실시양태에서, 혼합물은 수 시간(약 3시간) 내지 약 14일 또는 그 사이의 임의의 시간당 정수 값 동안 배양될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 비드 및 T 세포는 2-3일 동안 함께 배양된다. T 세포 배양에 적합한 조건은 혈청(예를 들어, 태아 소 또는 인간 혈청), 인터루킨-2(IL-2), 인슐린, IFN-γ, IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGFβ, 및 TNF-α 또는 당업자에게 공지된 세포 성장을 위한 임의의 기타 첨가제를 포함하는, 증식 및 생존력을 위해 필수적인 인자를 함유할 수 있는 적절한 배지(예를 들어, 최소 필수 배지 또는 RPMI 배지 1640 또는, X-vivo 15, (Lonza))를 포함한다. 세포 성장을 위한 기타 첨가제는 계면활성제, 플라스마네이트, 및 N-아세틸-시스테인 및 2-머캅토에탄올과 같은 환원제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 배지는 RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α-MEM, F-12, X-Vivo 15, 및 X-Vivo 20, 옵티마이저를 포함할 수 있고, 아미노산, 피루브산나트륨 및 비타민이 추가되거나, 무혈청이거나 적절한 양의 혈청(또는 혈장) 또는 정의된 일련의 호르몬, 및/또는 T 세포의 성장 및 확장에 충분한 양의 사이토카인(들)으로 보충된다. 일부 실시양태에서, 배지는 5% 인간 A/B 혈청, 1% 페니실린/스트렙토마이신(pen/strep) 및 300 단위/ml의 IL-2(Miltenyi)이 보충된 X-VIVO-15 배지를 포함한다.

[0570] T 세포는 성장을 지원하는 데 필요한 조건, 예를 들어, 적절한 온도 (예를 들어, 37℃) 및 대기(예를 들어, 공기 +5% CO2) 하에서 유지된다.

[0571] 일부 실시양태에서, TCR, CAR 및 본 개시내용의 억제 수용체를 포함하는 T 세포는 자가유래이다. 확장 및 유전적 변형 전에, T 세포의 공급원은 대상체로부터 수득된다. T 세포와 같은 면역 세포는 말초 혈액 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위의 조직, 복수, 흉수, 비장 조직 및 종양을 포함하는 다수의 공급원으로부터 얻을 수 있다. 본 개시내용의 특정 실시양태에서, 당업계에서 이용 가능한 많은 T 세포주가 사용될 수 있다. 본 개시내용의 특정 실시양태에서, T 세포는 Ficoll™ 분리와 같은 당업자에게 공지된 많은 기술을 사용하여 대상체로부터 수집된 혈액 단위로부터 수득될 수 있다.

[0572] 일부 실시양태에서, 개체의 순환 혈액으로부터의 세포는 성분채집법에 의해 얻어진다. 성분채집 생성물은 일반적으로 T 세포를 포함하는 림프구, 단핵구, 과립구, B 세포, 기타 유핵 백혈구, 적혈구 및 혈소판을 포함한다. 일부 실시양태에서, 성분채집법에 의해 수집된 세포는 혈장 분획을 제거하고 후속 처리 단계를 위해 적절한 완충액 또는 배지에 세포를 넣기 위해 세척될 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포는 인산염 완충 식염수(PBS)로 세척된다. 대안적인 실시양태에서, 세척 용액은 칼슘이 부재하고 마그네슘이 부재할 수 있거나 전부는 아니지만 많은 2가 양이온이 부재할 수 있다. 당업자는 세척 단계가 예를 들어 제조업체의 지침에 따라 반자동 "유동식(flow-through)" 원심분리기(예를 들어, Cobe 2991 cell processor, Baxter CytoMate, 또는 Haemonetics Cell Saver 5)를 사용하여, 당업자에게 알려진 방법에 의해 달성될 수 있음을 쉽게 이해할 것이다. 세척 후, 세포를 예를 들어, Ca2+-무함유, Mg2+-무함유 PBS, PlasmaLyte A, 또는 완충제액이 있거나 없는 다른 식염수와 같은 다양한 생체 적합성 완충액에 재현탁할 수 있다. 대안적으로, 성분채집 샘플의 바람직하지 않은 성분을 제거하고 세포를 배양 배지에 직접 재현탁할 수 있다.

[0573] 일부 실시양태에서, T 세포와 같은 면역 세포는 예를 들어, PERCOLL™ 구배를 통한 원심분리 또는 역류 원심 분리에 의해, 적혈구를 용해시키고 단핵구를 고갈시킴으로써 말초 혈액 림프구로부터 단리된다. T 세포, B 세포, 또는 CD4+ T 세포와 같은 면역 세포의 특정 하위 집단은 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 추가로 단리될 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, T 세포는 원하는 T 세포의 양성 선택에 충분한 시간 동안, 항-CD4 -접합 비드

와 함께 인큐베이션함으로써 단리된다.

[0574] 음성 선택에 의한 T 세포 집단과 같은 면역 세포 집단의 농축은 음성 선택 세포에 고유한 표면 마커에 대한 항체의 조합으로 달성될 수 있다. 한 가지 방법은 음성으로 선택된 세포에 존재하는 세포 표면 마커에 대한 모노클로날 항체 칵테일을 사용하는 음성 자기 면역 부착 또는 유세포 분석법을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택으로 CD4+ 세포를 농축하기 위해, 모노클로날 항체 칵테일은 일반적으로 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함한다.

[0575] 양성 또는 음성 선택에 의한 원하는 면역 세포 집단의 단리를 위해, 세포 및 표면(예를 들어, 비드와 같은 입자)의 농도는 다양할 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포와 비드의 최대 접촉을 보장하기 위해 비드와 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는 것(즉, 세포의 농도를 증가시키는 것)이 바람직할 수 있다.

[0576] 일부 실시양태에서, 세포는 2-10℃ 또는 실온에서 다양한 속도로 다양한 시간 동안 회전기에서 인큐베이션될 수 있다.

[0577] 자극을 위한 T 세포, 또는 T 세포와 같은 면역 세포가 단리되는 PBMC도 세척 단계 후에 동결될 수 있다. 이론에 얽매이지 않기를 바라면서, 동결 및 후속 해동 단계는 세포 집단에서 과립구 및 어느 정도 단핵구를 제거함으로써 더욱 균일한 생성물을 제공한다. 혈장과 혈소판을 제거하는 세척 단계 후 세포를 동결 용액에 현탁할 수 있다. 많은 동결 용액 및 매개변수가 당업계에 알려졌고 이러한 맥락에서 유용할 것이지만, 한 방법은 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민을 함유하는 PBS, 또는 10% 덱스트란 40 및 5% 덱스트로스, 20% 인간 혈청 알부민 및 7.5% DMSO, 또는 31.25% Plasmalyte-A, 31.25% 덱스트로스 5%, 0.45% NaCl, 10% 덱스트란 40 및 5% 덱스트로스, 20% 인간 혈청 알부민, 및 7.5% DMSO를 함유하는 배양 배지 또는 예를 들어, Hespan 및 PlasmaLyte A를 함유하는 다른 적합한 세포 동결 배지를 사용하는 것을 포함하고, 이어서 세포는 분당 1° 의 속도로 -80℃로 동결되고 액체 질소 저장 탱크의 증기 상태로 저장된다. -20℃ 또는 액체 질소에서 즉시 제어되지 않은 동결뿐만 아니라 제어된 동결의 다른 방법을 사용할 수 있다.

[0578] 본 개시내용은 본원에 기재된 활성화제 및/또는 차단제 수용체를 발현하는 면역 세포를 제공하며, 여기서 면역 세포는 주요 조직 적합성(MHC) 클래스 I 복합체의 감소된 발현 및/또는 기능을 갖는다.

[0579] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 자가유래이다. 예를 들어, 면역 세포는 치료 요법의 일부로서 세포를 수용할 동일한 대상체로부터 단리되거나 유래된다. MHC 클래스 I 항원에 특이적인 차단제 수용체로 MHC 클래스 I의 감소된 발현 및/또는 기능을 갖도록 자가유래 면역 세포를 변형시키는 것이 유리할 수 있다. 이론에 구애됨이 없이, MHC 클래스 I의 감소된 발현 및/또는 기능을 갖도록 하는 자가유래 면역 세포의 변형은 시스 또는 트랜스로 면역 세포에 의해 발현되는 MHC 클래스 I에 의한 억제 수용체의 결합을 감소시킨다.

[0580] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 모두 동종이계이다. 동종이계 면역 세포는 면역 세포가 투여될 대상체 이외의 공여자로부터 유래될 수 있다. 동종이계 면역 세포는 다양한 유전형의 대상체에서 사용하기 위해 동종이계 세포를 준비하고 보관할 가능성 때문에 세포 요법에서 일반적으로 "규격품(off the shelf)" 또는 "보편적"이라고 한다.

[0581] MHC 클래스 I 복합체의 발현 및/또는 기능을 감소시키는 임의의 적합한 방법은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 간주되며, 특히 MHC 클래스 I 성분을 암호화하는 하나 이상의 RNA를 녹다운시키는 간섭 RNA의 발현, 또는 MHC 클래스 I 성분을 암호화하는 유전자의 변형을 포함한다.

[0582] 주요 조직적합성 복합체(MHC)는 적응 면역계에 필요한 일련의 폴리펩티드를 암호화하는 척추동물 게놈 상 유전자좌이다. 이들 중에는 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 및 이의 대립유전자를 포함하는 MHC 클래스 I 폴리펩티드가 있다. MHC 클래스 I 대립유전자는 매우 다형성이 있으며 모든 유핵 세포에서 발현된다. HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 및 이의 대립유전자에 의해 암호화되는 MHC 클래스 I 폴리펩티드는 β2 마이크로글로불린(B2M)과 이종이량체를 형성하고 세포 표면에서 항원과 복합체로 존재한다. 본원에서 언급된 바와 같이, MHC 클래스 I 유전자 또는 폴리펩티드는 MHC에서 발견되는 임의의 폴리펩티드 또는 상기 폴리펩티드를 암호화하는 상응하는 유전자를 지칭할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 면역 세포는 MHC 클래스 I 폴리펩티드, 예를 들어 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 및 이의 대립유전자를 포함하는 억제제 리간드에 의해 불활성화된다. HLA-A 대립유전자는 예를 들어 제한 없이, HLA-A*02, HLA-A*02:01, HLA-A*02:01:01, HLA-A*02:01:01:01이고/이거나, HLA-A*02 단백질과 동일하거나 유사한 단백질을 암호화하는 임의의 유전자일 수 있다. 따라서, 본원에 기술된 바와 같은 자가분비 신호전달/결합을 예방하기 위해, 면역 세포에서 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 및 이의 대립유전자에 의해 암호화되는 폴리

펩티드의 발현을 제거하거나 감소시키는 것이 바람직하다.

[0583] ***MHC 클래스 I 폴리펩티드 발현이 감소된 면역 세포***

[0584] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 면역 세포는 내인성 MHC 클래스 I 폴리펩티드의 대립유전자를 암호화하는 내인성 유전자의 발현 또는 기능을 불활성화시키거나 감소 또는 제거하도록 변형된다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 폴리펩티드를 암호화하는 유전자는 HLA-A, HLA-B, 및/또는 HLA-C이다. HLA-A, HLA-B 및 HLA-C는 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C 유전자좌에 의해 암호화된다. 각각의 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C는 많은 변이 대립유전자를 포함하며, 이들 모두는 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 폴리펩티드를 암호화하는 유전자는 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 폴리펩티드를 암호화하는 유전자는 HLA-A*02이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 폴리펩티드를 암호화하는 유전자는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 폴리펩티드를 암호화하는 유전자는 HLA-A*02:01:01이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 폴리펩티드를 암호화하는 유전자는 HLA-A*02:01:01:01이다.

[0585] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 유전적으로 조작된 면역 세포는 B2M 유전자 생성물의 발현을 감소시키거나 제거하도록 변형된다. 베타-2 마이크로글로불린(B2M) 유전자는 주요 조직적합성 복합체(MHC) 클래스 I, 즉 MHC-I 복합체와 관련된 단백질을 암호화한다. MHC-I 복합체는 세포 표면에 항원을 제시하는 데 필요하다. MHC -I 복합체는 B2M이 결실될 때 파괴되고 기능하지 않는다(Wang D 등 Stem Cells Transl Med. 4:1234-1245 (2015)). 또한, B2M 유전자는 당업계에 알려진 유전자 편집 기술을 사용하여 고효율로 파괴될 수 있다(Ren 등 Clin. Cancer Res. 23:2255-2266 (2017)). B2M을 줄이거나 제거하면 면역 세포의 표면 상의 기능적 MHC I를 감소시키거나, 제거할 수 있다.

[0586] 본 개시내용은 면역 세포에서 내인성 표적 유전자를 편집하기 위한 유전자 편집 시스템을 제공한다. 본 개시내용은 표적 유전자의 서열에 특이적인 간섭 RNA를 제공한다. CRISPR/Cas 시스템, TALEN 및 징크 핑거(zinc finger)와 같은 유전자 편집 시스템을 사용하여 이중 가닥 절단을 생성할 수 있으며, 이는 상동성 지정 복구 또는 비-상동성 말단 접합(NHEJ)과 같은 유전자 복구 메커니즘을 통해 돌연변이를 도입하는 데 사용할 수 있다. 절단 끝의 절제 후 NHEJ, 또는 부적절한 끝 접합을 사용하여 결실을 도입할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 MHC-I 복합체의 서브유닛을 암호화하는 유전자를 포함한다.

[0587] 표적 유전자 서열은 프로모터, 인핸서, 인트론, 엑손, 인트론/엑손 접합부, 전사 생성물(pre-mRNA, mRNA, 및 스플라이스 변이체), 및/또는 3' 및 5' 비번역 영역(UTR)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 임의의 유전자 요소 또는 유전자 요소의 조합은 본원에 기재된 면역 세포에서 유전자 편집의 목적을 위해 표적화될 수 있다. 표적 유전자에 대한 변형은 표적 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 또는 기능을 변경하거나 방해하는 표적 유전자를 편집하기 위해 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 달성될 수 있다.

[0588] 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 폴리펩티드를 암호화하는 유전자를 변형시키는 것은 유전자의 전부 또는 일부를 결실시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 폴리펩티드를 암호화하는 유전자를 변형시키는 것은 유전자에 돌연변이를 도입하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 결실, 삽입, 치환 또는 프레임시프트 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 유전자를 변형시키는 것은 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제를 사용하는 것을 포함한다.

[0589] 본원에 기재된 표적 유전자에 대한 유전자 서열은 당업계에 공지되어 있다. 서열은 NCBI GenBank 또는 NCBI 뉴클레오티드 데이터베이스와 같은 공개 데이터베이스에서 찾을 수 있다. 서열은 유전자 식별자를 사용하여 찾을 수 있고, 예를 들어, HLA-A 유전자는 NCBI 유전자 ID: 3105를 갖고, HLA-B 유전자는 NCBI 유전자 ID: 3106을 갖고, HLA-C 유전자는 NCBI 유전자 ID: 3107을 갖고, *B2M* 유전자는 NCBI 유전자 ID: 567 및 NCBI 참조 서열: NC_000015.10을 갖는다. 유전자 서열은 키워드를 사용하여 공개 데이터베이스를 검색하여 찾을 수도 있다. 예를 들어, HLA-A 대립유전자는 키워드, "HLA-A*02", "HLA-A*02:01", "HLA-A*02:01:01" 또는 "HLA-A*02:01:01:01"을 검색하여 NCBI 뉴클레오티드 데이터베이스에서 찾을 수 있다. 이들 서열은 당업계에 공지된 다양한 유전자 편집 기술에서 표적화를 위해 사용될 수 있다. 표 10은 본원에 기재된 변형을 위해 표적화된 HLA-A 대립유전자 및 B2M 유전자 서열의 비제한적 예시적 서열을 제공한다.

[0590] 표 10. 예시적인 표적 유전자 서열

B2M mRNA	서열번호: 769
B2M 유전자 (GenBank: 567)	서열번호: 770
HLA-A*02:01:01:01 서열 암호화 mRNA	서열번호: 771
HLA-A*02 (GenBank: LK021978.1)	서열번호: 772

[0591]

[0592] 당업자는 T가 U를 대체하여 RNA 서열을 DNA 서열로 또는 그 반대로 전환할 수 있고, 둘 모두 본 개시내용의 표적 유전자 서열로 간주됨을 인식할 것이다.

[0593] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제를 사용하여 본원에 기재된 면역 세포에서 편집된다. 예시적인 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제는 CRISPR/Cas9와 같은 클래스 II 엔도뉴클레아제를 포함한다.

[0594] 본원에 사용된 "CRISPR" 또는 "CRISPR 유전자 편집"은 군집된 규칙적으로 간격을 둔 짧은 회문 반복 세트 또는 이러한 반복 세트를 포함하는 시스템을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "Cas"는 CRISPR-연관 단백질을 지칭한다. "CRISPR/Cas" 시스템은 표적 유전자를 침묵시키거나 녹아웃시키거나 돌연변이시키는 데 사용될 수 있는 CRISPR 및 Cas에서 유래된 시스템을 지칭한다. 이 시스템은 플라스미드 및 파지와 같은 외래 유전 요소에 대한 저항성을 부여하고 일종의 획득 면역을 제공하는 일종의 원핵 면역 시스템이다. CRISPR/Cas 시스템은 유전자 편집에 사용하기 위해 변형되었다. 이는 하나 이상의 특별히 설계된 가이드 핵산(gNA), 일반적으로 가이드 RNA(gRNA), 및 gNA와 리보핵단백질 복합체를 형성하는 적절한 Cas 엔도뉴클레아제를 진핵 세포에 도입함으로써 달성된다. gNA는 gNA-엔도뉴클레아제 단백질 복합체를 표적 게놈 위치로 가이드하고, 엔도뉴클레아제는 표적 게놈 위치에서 가닥 파손(breakage)을 도입한다. 이러한 가닥 파손은 비-상동 말단 접합(결실을 야기함) 또는 상동 수리(삽입을 생성할 수 있음)와 같은 세포 메커니즘에 의해 수리될 수 있으며, 이에 따라 숙주 세포 게놈에 유전적 변형을 도입한다.

[0595] CRISPR/Cas 시스템은 클래스 및 유형별로 분류된다. 클래스 2 시스템은 현재 세 가지 다른 유형(유형 II, V 및 VI)으로 분류되는 단일 간섭 단백질을 나타낸다. 유전자 편집에 적합한 임의의 클래스 2 CRISPR/Cas 시스템, 예를 들어 유형 II, 유형 V 또는 유형 VI 시스템은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 생각된다. 예시적인 클래스 2 유형 II CRISPR 시스템은 Cas9, Csn2 및 Cas4를 포함한다. 예시적인 클래스 2, 유형 V CRISPR 시스템은 Cas12, Cas12a(Cpf1), Cas12b(C2c1), Cas12c(C2c3), Cas12d(CasY), Cas12e(CasX), Cas12f, Cas12g, Cas12h, Cas12i 및 Cas12k(C2c5)를 포함한다. 예시적인 클래스 2 유형 VI 시스템은 Cas13, Cas13a(C2c2) Cas13b, Cas13c 및 Cas13d를 포함한다.

[0596] CRISPR 유전자좌라고도 하는, CRISPR 서열은 교대 반복과 스페이서를 포함한다. 자연 발생 CRISPR에서, 스페이서는 일반적으로 플라스미드 또는 파지 서열과 같은 박테리아에 외래인 서열을 포함한다. 본원에 기재된 바와 같이, 스페이서 서열은 또한 "표적화 서열"로 지칭될 수 있다. 유전 공학을 위한 CRISPR/Cas 시스템에서, 스페이서는 표적 유전자 서열(gNA)에서 유래된다.

[0597] 예시적인 클래스 2 유형 II CRISPR 시스템은 이중 나선의 각 가닥에 대해 하나씩 2개의 활성 절단 부위를 갖는 뉴클레아제인 단백질 Cas9에 의존한다. Cas9과 변형된 CRISPR 유전자좌 RNA를 조합하면 유전자 편집 시스템에서 사용할 수 있다(Pennisi (2013) Science 341: 833-836). 일부 실시양태에서, 면역 세포를 변형시키는 데 사용되는 Cas 단백질은 Cas9이다.

[0598] 따라서 CRISPR/Cas 시스템은 염기쌍을 추가 또는 결실시키거나 표적의 발현을 감소시키는 조기 중단을 도입함으로써 본원에 기재된 면역 세포에서 편집을 위해 표적화된 유전자와 같은 표적 유전자를 편집하는 데 사용될 수 있다. CRISPR/Cas 시스템은 RNA 간섭처럼 대안적으로 사용되어 가역적인 방식으로 표적 유전자를 차단할 수 있다. 포유류 세포에서, 예를 들어, RNA는 Cas 단백질을 표적 유전자 프로모터로 가이드하여 RNA 중합효소를 입체적으로 차단할 수 있다.

[0599] Cas 단백질은 임의의 박테리아 또는 고세균 Cas 단백질에서 유래될 수 있다. 임의의 적합한 CRISPR/Cas 시스템은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 생각된다. 다른 양태에서, Cas 단백질은 Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9, Cas10, Cas12a (Cpf1), Cas13, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1, Cse2, Csc1, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csf1, Csf2, Csf3, Csf4, CasX, CasY, 이의 상동체, 또는 이의 변형된 버전 중 하나 이상을 포함한다. 일부 실시양태에서, Cas 단백질은 Cas9 단백질, Cpf1 단백질, C2c1 단백질, C2c2 단백질, C2c3 단백질, Cas3, Cas3-HD, Cas 5, Cas7, Cas8, Cas10, 또는 이들의 조합 또는 복합체

이다. 일부 실시양태에서, Cas 단백질은 Cas9 단백질이다.

[0600] 예를 들어, 미국 공개 번호 20140068797, 및 Cong (2013) Science 339: 819-823에 기술된 당업계에 알려진 기술을 사용하여 표적 유전자를 억제하는 인공 CRISPR/Cas 시스템을 생성할 수 있다. 예를 들어, Tsai (2014) Nature Biotechnol., 32:6 569-576, 미국 특허 번호 8,871,445; 8,865,406; 8,795,965; 8,771,945; 및 8,697,359에 기술된 표적 유전자를 억제하는 당업계에 알려진 다른 인공 CRISPR/Cas 시스템을 또한 생성할 수 있다. 특정 Cas 단백질에 적합한 gNA를 설계하는 방법은 당업자에게 공지될 것이다.

[0601] 본 개시내용은 표적 핵산 게놈 내의 특정 표적 유전자 서열에 대한 관련 폴리펩티드(예를 들어, 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제)의 활성을 지시할 수 있는 유전자-표적화 가이드 핵산(gNA)을 제공한다. 게놈-표적화 핵산은 RNA일 수 있다. 게놈-표적화 RNA는 본원에서 "가이드 RNA" 또는 "gRNA"로 지칭된다. 가이드 RNA는 적어도 관심 표적 핵산 서열에 혼성화하는 표적화 서열, 및 CRISPR 반복 서열을 포함할 수 있다. 일부 유형 II 시스템에서, gRNA는 또한 본원에서 "스캐폴드" 서열로도 지칭되는, tracrRNA 서열로 불리는 제2 RNA를 포함한다. 유형 II 가이드 RNA(gRNA)에서, CRISPR 반복 서열 및 스캐폴드 서열은 서로 혼성화하여 듀플렉스를 형성한다. 유형 V 가이드 RNA(gRNA)에서, crRNA는 듀플렉스를 형성한다. 두 시스템 모두에서, 듀플렉스는 가이드 RNA와 부위 지정 폴리펩티드가 복합체를 형성하도록 부위 지정 폴리펩티드에 결합할 수 있다. 유전자-표적화 핵산은 부위 지정 폴리펩티드와의 회합에 의해 복합체에 표적 특이성을 제공할 수 있다. 따라서 유전자-표적화 핵산은 부위 지정 폴리펩티드의 활성을 지시할 수 있다.

[0602] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 표적화 서열 및 가이드 RNA 스캐폴드 서열을 포함하는 가이드 RNA를 제공하고, 여기서 표적화 서열은 표적 유전자의 서열에 상보적이다.

[0603] 예시적인 가이드 RNA는 약 15-20개 염기의 표적화 서열을 포함한다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 각각의 gRNA는 그의 게놈 표적 서열에 상보적인 표적 서열을 포함하도록 설계될 수 있다. 예를 들어, 각각의 표적화 서열, 예를 들어, PAM 부위를 나타내는 3개의 3' 뉴클레오티드를 제외한 표 11 및 14에 제시된 DNA 서열의 RNA 버전은 단일 RNA 키메라 또는 crRNA에 넣을 수 있다.

[0604] 유전자 표적화 핵산은 이중 분자 가이드 RNA일 수 있다. 유전자 표적화 핵산은 단일 분자 가이드 RNA일 수 있다. 유전자 표적화 핵산은 예를 들어, 쌍을 이룬 gRNA, 또는 단일 단계에서 사용되는 다중 gRNA를 포함하는 것과 같이 당업계에 알려진 가이드 RNA의 임의의 알려진 구성일 수 있다. 코딩 서열과 스플라이스 접합부가 있는 게놈 서열에서는 분명하지만, 유전자 발현에 필요한 다른 특징은 특이하고 불분명할 수 있다.

[0605] 이중 분자 가이드 RNA는 RNA의 두 가닥을 포함할 수 있다. 제1 가닥은 5'에서 3' 방향의 서열, 선택적인 스페이서 연장 서열, 표적화 서열 및 최소 CRISPR 반복 서열을 포함한다. 제2 가닥은 최소 tracrRNA 서열(최소 CRISPR 반복 서열에 상보적), 3' tracrRNA 서열 및 선택적인 tracrRNA 연장 서열을 포함할 수 있다.

[0606] 유형 II 시스템에서 단일 분자 가이드 RNA(sgRNA)는 5'에서 3' 방향으로, 선택적인 스페이서 연장 서열, 표적화 서열, 최소 CRISPR 반복 서열, 단일 분자 가이드 링커, 최소 tracrRNA 서열, 3' tracrRNA 서열 및 선택적인 tracrRNA 연장 서열을 포함할 수 있다. 선택적 tracrRNA 연장은 가이드 RNA에 대한 추가 기능성(예를 들어, 안정성)을 제공하는 요소를 포함할 수 있다. 단일 분자 가이드 링커는 최소 CRISPR 반복과 최소 tracrRNA 서열을 연결하여 헤어핀 구조를 형성할 수 있다. 선택적 tracrRNA 연장은 하나 이상의 헤어핀을 포함할 수 있다.

[0607] 일부 실시양태에서, 가이드 RNA 또는 단일 분자 가이드 RNA(sgRNA)는 표적화 서열 및 스캐폴드 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 스캐폴드 서열은 Cas9 gRNA 서열이다. 일부 실시양태에서, 스캐폴드 서열은 GTTTTAGAGCTAGAAATAGCAAGTTAAAATAAGGCTAGTCCGTTATCAACTTGAAAAAGTGGCACCGAGTCGGTGCTTTTTTT(서열번호: 773)와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함하는 DNA 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, 스캐폴드 서열은 GTTTTAGAGCTAGAAATAGCAAGTTAAAATAAGGCTAGTCCGTTATCAACTTGAAAAAGTGGCACCGAGTCGGTGCTTTTTTT(서열번호: 773)를 포함하는 DNA 서열에 의해 암호화된다.

[0608] 일부 실시양태에서, 예를 들어 CRISPR/Cas 시스템이 Cas9 시스템인 실시양태에서, sgRNA는 sgRNA 서열의 5' 단부에 20개 뉴클레오티드 표적화 서열을 포함할 수 있다. sgRNA는 sgRNA 서열의 5' 단부에 20개 미만의 뉴클레오티드 표적화 서열을 포함할 수 있다. sgRNA는 sgRNA 서열의 5' 단부에 20개 초과의 뉴클레오티드 표적화 서열을 포함할 수 있다. sgRNA는 sgRNA 서열의 5' 단부에 17-30개 뉴클레오티드를 갖는 가변 길이 표적화 서열을 포함할 수 있다.

[0609] 적합한 스캐폴드 서열, 및 스캐폴드 표적화 서열의 배열은 엔도뉴클레아제의 선택에 따라 달라지며 당업자에게

공지될 것이다.

[0610] 유형 II 시스템, 예를 들어 Cas9의 단일 분자 가이드 RNA(sgRNA)는 5'에서 3' 방향으로 최소 CRISPR 반복 서열 및 표적화 서열을 포함할 수 있다.

[0611] 예시로서, CRISPR/Cas9 또는 CRISPR/Cpf1 시스템에서 사용되는 가이드 RNA, 또는 다른 더 작은 RNA는 하기 예시되고 당업계에 기재된 바와 같이 화학적 수단에 의해 쉽게 합성될 수 있다. 화학적 합성 절차가 지속적으로 확장되는 동안, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC, PAGE와 같은 젤의 사용을 피함)와 같은 절차에 의한 그러한 RNA의 정제는 폴리뉴클레오티드 길이가 100개 정도의 뉴클레오티드 이상으로 유의하게 증가함에 따라 더욱 어려워지는 경향이 있다. 더 긴 길이의 RNA를 생성하는 데 사용되는 한 가지 접근 방식은 함께 결찰되는 두 개 이상의 분자를 생성하는 것이다. Cas9 또는 Cpf1 엔도뉴클레아제를 암호화하는 것과 같은 훨씬 더 긴 RNA는 효소적으로 더 쉽게 생성된다. 다양한 유형의 RNA 변형은 RNA의 화학적 합성 및/또는 효소적 생성 동안 또는 후에 도입될 수 있으며, 예를 들어, 당업계에 기술된 바와 같이 안정성을 강화하고, 선천적 면역 반응의 가능성 또는 정도를 감소시키고/시키거나 다른 속성을 강화하는 변형을 들 수 있다.

[0612] gRNA의 표적화 서열은 관심 표적 핵산의 서열에 혼성화한다. 게놈-표적화 핵산의 표적화 서열은 혼성화(즉, 염기쌍 형성)를 통해 서열 특이적 방식으로 표적 핵산과 상호작용할 수 있다. 표적화 서열의 뉴클레오티드 서열은 관심 표적 핵산의 서열에 따라 다를 수 있다.

[0613] 본원에 기재된 Cas9 시스템에서, 표적화 서열은 시스템에서 사용되는 Cas9 효소의 PAM의 역 상보체의 5'에 위치하는 표적 핵산에 혼성화하도록 설계될 수 있다. 표적화 서열은 표적 서열과 완벽하게 일치할 수 있거나 불일치할 수 있다. 각각의 CRISPR/Cas 시스템 단백질은 표적 DNA에서 인식하는 특정 방향과 위치에 특정 PAM 서열을 가질 수 있다. 예를 들어, S. 피오게네스(S. pyogenes) Cas9은 표적 핵산에서 서열 5'-NRG-3'을 포함하는 PAM을 인식하며, 여기서 R은 A 또는 G를 포함하고, 여기서 N은 임의의 뉴클레오티드이고 N은 표적화 서열에 의해 표적화된 표적 핵산 서열의 바로 3'이다. 적절한 PAM 서열의 선택은 당업자에게 명백할 것이다.

[0614] 표적 서열은 gRNA의 표적화 서열에 상보적이며, 혼성화한다. 표적 핵산 서열은 20개 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 표적 핵산은 20개 미만의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 표적 핵산은 20개 초과의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 표적 핵산은 적어도 5, 10, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30개 이상의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 예를 들어 CRISPR/Cas 시스템이 Cas9 시스템인 실시양태에서, 표적 핵산 서열은 PAM 서열의 역 상보체의 첫 번째 뉴클레오티드의 5' 바로 옆에 있는 20개의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 이러한 표적 핵산 서열은 PAM 가닥 또는 표적 가닥으로 종종 지칭되며, 상보적 핵산 서열은 종종 비-PAM 가닥 또는 비-표적 가닥으로 지칭된다. 당업자는 표적화 서열이 표적 핵산의 비-PAM 가닥에 혼성화하는 것을 인식할 것이다, 예를 들어, US20190185849A1을 참조한다.

[0615] 일부 예에서, 표적화 서열과 표적 핵산 사이의 퍼센트 상보성은 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100%이다. 일부 예에서, 표적화 서열과 표적 핵산 사이의 퍼센트 상보성은 최대 약 30%, 최대 약 40%, 최대 약 50%, 최대 약 60%, 최대 약 65%, 최대 약 70%, 최대 약 75%, 최대 약 80%, 최대 약 85%, 최대 약 90%, 최대 약 95%, 최대 약 97%, 최대 약 98%, 최대 약 99%, 또는 100%이다. 일부 예에서, 표적화 서열과 표적 핵산 사이의 퍼센트 상보성은 표적 핵산의 상보성 가닥의 표적 서열의 6개의 인접한 가장 5' 뉴클레오티드에 걸쳐 100%이다. 표적화 서열과 표적 핵산 사이 퍼센트 상보성은 약 20개의 연속 뉴클레오티드에 걸쳐 적어도 60%일 수 있다. 표적화 서열 및 표적 핵산의 길이는 1 내지 6개의 뉴클레오티드만큼 다를 수 있으며, 이는 벌지 또는 벌지들로 생각할 수 있다.

[0616] 표적화 서열은 당업자에게 공지된 컴퓨터 프로그램을 사용하여 설계되거나 선택될 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 예측된 용융 온도, 2차 구조 형성, 예측된 어닐링 온도, 서열 동일성, 게놈 맥락, 염색질 접근성, % GC, 게놈 발생 빈도(예를 들어, 불일치, 삽입 또는 결실의 결과로 하나 이상의 지점에서 동일하거나 유사하지만 다양한 서열의), 메틸화 상태, SNP의 존재 등과 같은 변수를 사용할 수 있다. 사용 가능한 컴퓨터 프로그램은 NCBI 유전자 ID, 공식 유전자 기호, Ensembl 유전자 ID, 게놈 좌표, 또는 DNA 서열을 입력으로 사용할 수 있으며, 입력으로 지정된 적절한 게놈 영역을 표적으로 하는 sgRNA를 포함하는 출력 파일을 생성할 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 또한 표적 유전자에 대한 sgRNA의 온- 및 오프-타겟 결합을 나타내는 통계 및 스코어의 요약을 제공할 수 있다(Doench 등 *Nat Biotechnol.* 34:184-191 (2016)). 본 개시내용은 표적화 서열을 포함하는 가이드 RNA를 제공한다. 일부 실시양태에서, 가이드 RNA는 가이드 RNA 스캐폴드 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적화 서열은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, B2M 또는 이의 대립유전자로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 유전자의

서열에 상보적이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 HLA-A 유전자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 HLA-B 유전자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 HLA-C 유전자이다. 일부 실시양태에서 표적 유전자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, 또는 이의 조합이다. 일부 실시양태에서, 표적화 서열은 표 11 및 14에 개시된 서열과 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 동일성을 공유하거나 동일한 서열을 포함한다.

[0617] 일부 실시양태에서, gNA는 내인성 HLA-A 유전자좌의 서열을 특이적으로 표적화한다. 일부 실시양태에서, HLA-A 유전자좌의 서열을 특이적으로 표적화하는 gNA는 표 11에 개시된 서열로부터 선택된 서열과 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A 유전자좌의 서열을 특이적으로 표적화하는 gNA는 표 11에 개시된 서열로부터 선택된 서열을 포함한다.

[0618] 일부 실시양태에서, gNA는 HLA-A*02 대립유전자의 서열을 특이적으로 표적화한다. 예를 들어, gRNA는 모든 HLA-A*02 대립유전자에 의해 공유되지만, HLA-A*02 및 HLA-A*03 대립유전자에 의해 공유되지 않는 서열을 특이적으로 표적화하고, 이에 혼성화한다. 일부 실시양태에서, gNA는 HLA-A*02:01 대립유전자의 서열을 특이적으로 표적화한다. 일부 실시양태에서, gNA는 HLA-A*02:01:01 대립유전자의 서열을 특이적으로 표적화한다. 일부 실시양태에서, gNA는 HLA-A*02:01:01:01 대립유전자의 서열을 특이적으로 표적화한다. 일부 실시양태에서, gNA는 HLA-A*02:01:01:01 대립유전자의 서열을 특이적으로 표적화한다.

[0619] 일부 실시양태에서, gNA는 HLA-A*02의 코딩 DNA 서열을 특이적으로 표적화한다.

[0620] 일부 실시양태에서, gNA는 1000개 초과 HLA-A*02 대립유전자에 의해 공유되는 코딩 DNA 서열을 특이적으로 표적화한다. 일부 실시양태에서, 1000개 초과 HLA-A*02 대립유전자에서 코딩 DNA 서열을 특이적으로 표적화하는 gNA는 표 11에 제시된 서열로부터 선택된 서열과 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 동일성을 공유하거나 동일한 서열을 포함한다.

[0621] 표 11-14의 서열은 DNA 서열로서 제시된다. 당업자는 티민(T)이 표 11-14에 제시된 것을 포함하는 임의의 DNA 서열에서 우라실(U)로 대체되어 상응하는 RNA 서열에 도달할 수 있음을 이해할 것이다.

[0622] 표 11. HLA-A 대립유전자를 표적화하는 예시적인 서열

서열 번호	가이드 핵산 표적화 서열	서열 번호	가이드 핵산 표적화 서열
774	TGGACGACACGCAGTTCGTG	817	TCAGACCACCAAGCACAAGTGGG
775	CAGATACCTGGAGAACGGGA	818	CACCAAGCACAAGTGGGAGGCGG
776	TCCCGTTCTCCAGGTATCTG	819	GACCACCAAGCACAAGTGGGAGG
777	CCGCCGCGGTCCAAGAGCGC	820	GAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGG
778	CCTGCGCTCTTGGACCGCGG	821	GTAGCCCACTGCGATGAAGCGGG
779	GGACCTGCGCTCTTGGACCGC	822	TAGCCCACTGCGATGAAGCGGGG
780	AAGGAGACGCTGCAGCGCACGGG	823	CGTAGCCCACTGCGATGAAGCGG
781	GAAGGAGACGCTGCAGCGCACGG	824	CTTCATCGCAGTGGGCTACGTGG
782	GCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGG	825	GGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGG
783	TGCTCTATCCACGGCGCCCGCGG	826	CGGGGAGACACGGAAAGTGAAGG
784	CGATGAAGCGGGGCTCCCCGCGG	827	AGTATTGGGACGGGGAGACACGG
785	CGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGG	828	AGGGTCCGGAGTATTGGGACGGG
786	CGGCTCCATCCTCTGGCTCGCGG	829	GAGGGTCCGGAGTATTGGGACGG
787	GATGTAATCCTTGCCGTCGTAGG	830	GGACCCTCCTGCTCTATCCACGG
788	ACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGG	831	GTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGG
789	GGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGG	832	AGACTCACCGAGTGGACCTGGGG
790	GGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGG	833	CACTCGGTGAGTCTGTGAGTGGG
791	GCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGG	834	CAGACTCACCGAGTGGACCTGGG
792	CGGCTACTACAACCAGAGCGAGG	835	CCACTCACAGACTCACCGAGTGG
793	CTGGTTGTAGTAGCCGCGCAGGG	836	CCACTCGGTGAGTCTGTGAGTGG
794	TACTACAACCAGAGCGAGGCCGG	837	TCGGACTGGCGCTTCCTCCGCGG
795	CTACCTGGAGGGCACGTGCGTGG	838	GCAGCCATACATCCTCTGGACGG
796	CACGCACGTGCCCTCCAGGTAGG	839	TCTCAACTGCTCCGCCACATGGG
797	GCAGGGTCCCCAGGTCCACTCGG	840	ACCCTCATGCTGCACATGGCAGG
798	GTGGACCTGGGGACCCTGCGCGG	841	ACCTGCCATGTGCAGCATGAGGG
799	TGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGG	842	CACCTGCCATGTGCAGCATGAGG
800	GTATGGCTGCGACGTGGGGTCGG	843	GGAGGACCAGACCCAGGACACGG
801	CTGAGCTGCCATGTCCGCCGCGG	844	GGATGGGGAGGACCAGACCCAGG
802	GGATTACATCGCCCTGAAAGAGG	845	GACCTGGCAGCGGGATGGGGAGG
803	CAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGG	846	AGATCACACTGACCTGGCAGCGG
804	GTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGG	847	GATCACACTGACCTGGCAGCGGG
805	CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGG	848	AGGTCAGTGTGATCTCCGCAGGG
806	GCAGTTGAGAGCCTACCTGGAGG	849	AAGCCCCTCACCCTGAGATGGGG
807	TACCACCAGTACGCCTACGACGG	850	CTGCGGAGATCACACTGACCTGG
808	TGCCGTCGTAGGCGTACTGGTGG	851	CAGCAATGATGCCCACGATGGGG
809	CCAGTACGCCTACGACGGCAAGG	852	CCAGCAATGATGCCCACGATGGG
810	GGATGTGAAGAAATACCTCATGG	853	GCCAGCAATGATGCCCACGATGG
811	ATTTCTTCACATCCGTGTCCCGG	854	GGATGGAACCTTCCAGAAGTGGG
812	AGGCGTACTGGTGGTACCCGCGG	855	GGGATGGAACCTTCCAGAAGTGG
813	CGTACTGGTGGTACCCGCGGAGG	856	ATGCCCACGATGGGGATGGTGGG
814	GAGGATGTATGGCTGCGACGTGG	857	CAGCCCACCATCCCCATCGTGGG
815	GGATGTATGGCTGCGACGTGGGG	858	CCAGCCCACCATCCCCATCGTGG
816	CTCAGACCACCAAGCACAAGTGG	859	GATGCCCACGATGGGGATGGTGG

[0623]

서열 번호	가이드 핵산 표적화 서열	서열 번호	가이드 핵산 표적화 서열
860	CAGGGCCCAGCACCTCAGGGTGG	877	CCCCGAGAGTAGCAGGACGAGGG
861	AATGATGCCCACGATGGGGATGG	878	CCCTCGTCCTGCTACTCTCGGGG
862	GGCCCTGACCCAGACCTGGGCGG	879	CCTCGTCCTGCTACTCTCGGGGG
863	GACCCAGGACACGGAGCTCGTGG	880	CTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGG
864	ACACGGAGCTCGTGGAGACCAGG	881	TCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGG
865	CGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGG	882	TGGTCGCTGCTGTGATGTGGAGG
866	TCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGG	883	CACAGCCGCCCACTTCTGGAAGG
867	AGCTGTGATCACTGGAGCTGTGG	884	CCAGAAGTGGGCGGCTGTGGTGG
868	AAAAGGAGGGAGCTACTCTCAGG	885	TGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
869	ATGTGGAGGAGGAAGAGCTCAGG	886	TCACAGCTCCAAAGAGAACCAGG
870	GTGTCTCTCACAGCTTGTAAAGG	887	CTGACCATGAAGCCACCCTGAGG
871	GAGAGACACATCAGAGCCCTGGG	888	GCAAACCCTCATGCTGCACATGG
872	CTCCGCAGGGTAGAAGCTCAGGG	889	TGAAGCCACCCTGAGGTGCTGGG
873	GGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGG	890	GGTGAGTCATATGCGTTTTGGGG
874	GCTCAGGGCCCAGCACCTCAGGG	891	GTGAGTCATATGCGTTTTGGGGG
875	TATCTCTGCTCCTGTCCAGAAGG	892	CTTCATGGTCAGAGACAGCGTGG
876	AGTAGCAGGACGAGGGTTCGGGG	893	TCTGGCCCTGACCCAGACCTGGG

[0624]

[0625] 표 11에 개시된 서열은 PAM 서열을 포함하는 상응하는 게놈 서열을 포함한다. 당업자는 gRNA의 표적화 서열이 gRNA에 상응하는 PAM 부위를 나타내는, 표 11의 서열의 3개의 3' 말단 뉴클레오티드를 포함하지 않는다는 것을 이해할 것이다.

[0626] 본 개시내용은 *B2M* 유전자에 특이적인 표적화 서열을 포함하는 gNA를 제공한다. 일부 실시양태에서, gNA는 B2M 유전자의 코딩 서열(CDS) 서열을 특이적으로 표적화한다. 일부 실시양태에서, gNA는 *B2M* 유전자 프로모터 서열을 표적화하는 서열을 포함한다.

[0627] 일부 실시양태에서 gNA는 표적화 서열 및 gNA 스캐폴드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적화 서열은 표 12에 제시된 서열, 또는 이와 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함하는 서열을 포함한다.

[0628] 일부 실시양태에서, 표적화 서열은 *B2M* 유전자의 서열에 대해 상보적이다. 일부 실시양태에서, *B2M* 유전자는 표 10에 제시된 B2M 서열과 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 동일성을 공유하는 서열을 포함한다.

[0629] 표 12. *B2M*을 표적화하는 예시적 서열

서열 번호	서열	서열 번호	서열
894	CGCGAGCACAGCTAAGGCCA	939	CTGGGGCGCGCACCCCAGAT
895	GAGTAGCGCGAGCACAGCTA	940	GGGCGCGCACCCCAGATCGG
896	AGGGTAGGAGAGACTCACGC	941	GGCGCGCACCCCAGATCGGA
897	CTGAATCTTTGGAGTACCTG	942	CATCACGAGACTCTAAGAAA
898	TCACGTCATCCAGCAGAGAA	943	TAAGAAAAGGAAACTGAAAA
899	TCCTGAATTGCTATGTGTCT	944	AAGAAAAGGAAACTGAAAAC
900	AAGTCAACTTCAATGTCGGA	945	GAAAGTCCCTCTCTCTAACC
901	GTCTTTTCCCGATATTCCTC	946	CTAACCTGGCACTGCGTCGC
902	TGGAGTACCTGAGGAATATC	947	CTGGCACTGCGTCGCTGGCT
903	CAGCCCAAGATAGTTAAGTG	948	TGCGTCGCTGGCTTGGAGAC
904	ACAAAGTCACATGGTTCACA	949	GCTGGCTTGGAGACAGGTGA
905	ACTCTCTCTTTCTGGCCTGG	950	GAGACAGGTGACGGTCCCTG
906	TGGGCTGTGACAAAGTCACA	951	AGACAGGTGACGGTCCCTGC
907	GGCCGAGATGTCTCGCTCCG	952	CCTGCGGGCCTTGTCCTGAT
908	CAGTAAGTCAACTTCAATGT	953	CGGGCCTTGTCCTGATTGGC
909	ACTCACGCTGGATAGCCTCC	954	GGGCCTTGTCCTGATTGGCT
910	CATACTCATCTTTTTCAGTG	955	GGGCACGCGTTTAATATAAG
911	CACAGCCCAAGATAGTTAAG	956	CACGCGTTTAATATAAGTGG
912	TTCAGACTTGTCTTTCAGCA	957	TATAAGTGGAGGCGTCGCGC
913	AGTCACATGGTTCACACGGC	958	AAGTGGAGGCGTCGCGCTGG
914	ATACTCATCTTTTTCAGTGG	959	AGTGGAGGCGTCGCGCTGGC
915	GGCATACTCATCTTTTTCAG	960	TTCCTGAAGCTGACAGCATT
916	ACAGCCCAAGATAGTTAAGT	961	TCCTGAAGCTGACAGCATTC
917	GCTACTCTCTCTTTCTGGCC	962	GCCCGAATGCTGTCAGCTTC
918	TGGAGAGAGAATTGAAAAAG	963	AAACGCGTGCCCAGCCAATC
919	ACTTGTCTTTCAGCAAGGAC	964	GTGCCCAGCCAATCAGGACA
920	GAAGTTGACTTACTGAAGAA	965	CCAATCAGGACAAGGCCCGC
921	GGCCACGGAGCGAGACATCT	966	CAATCAGGACAAGGCCCGCA
922	GCATACTCATCTTTTTCAGT	967	CAAGCCAGCGACGCAGTGCC
923	CGTGAGTAAACCTGAATCTT	968	CGCAGTGCCAGGTTAGAGAG
924	TTACCCCACTTAACTATCTT	969	GCAGTGCCAGGTTAGAGAGA
925	TTGGAGTACCTGAGGAATAT	970	GAGTCTCGTGATGTTTAAGA
926	ACCCAGACACATAGCAATTC	971	TAAGAAGGCATGCACTAGAC
927	TTTGACTTTCCATTCTCTGC	972	AAGAAGGCATGCACTAGACT
928	TTCCTGAATTGCTATGTGTC	973	TGAGTTTGCTGTCTGTACAT
929	CTCAGGTACTCCAAAGATTC	974	TACATCGGCGCCCTCCGATC
930	CTTACCCCACTTAACTATCT	975	ACATCGGCGCCCTCCGATCT
931	CTCGCGCTACTCTCTCTTTC	976	CATCGGCGCCCTCCGATCTG
932	TCGATCTATGAAAAAGACAG	977	CTGGGGTGCGCGCCCCAGCT
933	GAGACATGTAAGCAGCATCA	978	TGGGGTGCGCGCCCCAGCTT
934	ACATGTAAGCAGCATCATGG	979	CGCGCCCCAGCTTGGGACAC
935	GAAGTCCTAGAATGAGCGCC	980	GCGCCCCAGCTTGGGACACC
936	GAGCGCCCGGTGTCCCAAGC	981	CAAGTCACTTAGCATCTCTG
937	AGCGCCCGGTGTCCCAAGCT	982	ACAGAAGTTCTCCTTCTGCT
938	GCGCCCGGTGTCCCAAGCTG	983	ATTCAAAGATCTTAATCTTC

[0630]

서열 번호	서열
984	TTCAAAGATCTTAATCTTCT
985	TTTTCTCGAATGAAAAATGC
986	TGCAGGTCCGAGCAGTTAAC
987	GGTCCGAGCAGTTAACTGGC
988	GTCCGAGCAGTTAACTGGCT
989	TCCGAGCAGTTAACTGGCTG
990	AGCAAGTCACTTAGCATCTC
991	GCAAGTCACTTAGCATCTCT
992	TGGGGCCAGTCTGCAAAGCG
993	GGGGCCAGTCTGCAAAGCGA
994	GGGCCAGTCTGCAAAGCGAG
995	GGCCAGTCTGCAAAGCGAGG
996	GGACACCGGGCGCTCATTCT
997	GGCGCTCATTCTAGGACTTC
998	CTCATTCTAGGACTTCAGGC
999	ATTCTAGGACTTCAGGCTGG
1000	TTCAGGCTGGAGGCACATTA
1001	TGCCCCCTCGCTTTGCAGAC
1002	GATGCTAAGTGACTTGCTAA
1003	GCCCCAGCCAGTTAACTGCT
1004	GCATTTTTCATTCGAGAAAA
1005	TTTGAATGCTACCTAGCAGA
1006	TTCTGTTTATAACTACAGCT
1007	TCTGTTTATAACTACAGCTT

[0631]

[0632] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 면역 세포는 TALEN 유전자 편집을 사용하여 편집된다.

[0633] "TALEN" 또는 "TALEN 유전자 편집"은 표적 유전자를 편집하는 데 사용되는 인공 뉴클레아제인, 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제를 지칭한다.

[0634] TALEN은 TAL 이펙터 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합하여 인공적으로 생산된다. 크산토모나스(Xanthomonas) 박테리아에서 유래된 전사 활성화제-유사 이펙터(TALE)는 TCR 서브유닛, MHC 클래스 I 복합체 구성성분, 또는 CD52와 같은 표적 유전자의 일부를 포함하여, 원하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다. 조작된 TALE을 DNA 절단 도메인과 조합함으로써, 표적 유전자 서열을 포함하는 임의의 원하는 DNA 서열에 특이적인 제한 효소를 생산할 수 있다. 그런 다음 이들은 세포에 도입되어 게놈 편집에 사용될 수 있다.

[0635] TALEN을 생산하기 위해, TALE 단백질은 야생형 또는 돌연변이 Fold 엔도뉴클레아제인, 뉴클레아제 (N)에 융합된다. FokI에 대한 여러 돌연변이가 TALEN에서 사용하기 위해 만들어졌고; 예를 들어, 이들은 절단 특이성 또는 활성을 개선한다.

[0636] FokI 도메인은 적절한 방향과 간격을 가진 표적 게놈의 부위에 대해 고유한 DNA 결합 도메인이 있는 두 개의 작제물을 필요로 하는 이량체로 기능한다. TALE DNA 결합 도메인과 FokI 절단 도메인 사이의 아미노산 잔기의 수 및 2개의 개별 TALEN 결합 부위 사이의 염기의 수 모두 높은 수준의 활성을 달성하기 위한 중요한 매개변수인 것으로 보인다.

[0637] 표적 유전자의 서열에 특이적인 TALEN은 모듈 구성 요소를 사용하는 다양한 계획을 포함하여 당업계에 알려진 임의의 방법을 사용하여 구성할 수 있다.

[0638] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 ZFN 유전자 편집을 사용하여 본원에 기재된 면역 세포에서 편집된다.

[0639] "ZFN" 또는 "징크 핑거 뉴클레아제" 또는 "ZFN 유전자 편집"은 표적 유전자를 편집하는 데 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제인, 징크 핑거 뉴클레아제를 지칭한다.

[0640] TALEN과 마찬가지로, ZFN은 DNA-결합 도메인에 융합된 Fold 뉴클레아제 도메인(또는 이의 유도체)을 포함한다. ZFN의 경우에, DNA-결합 도메인은 하나 이상의 징크 핑거를 포함한다.

[0641] 징크 핑거는 하나 이상의 아연 이온에 의해 안정화된 작은 단백질 구조 모티프이다. 징크 핑거는 예를 들어, Cys2His2를 포함할 수 있고, 대략 3-bp 서열을 인식할 수 있다. 특이성이 알려진 다양한 징크 핑거를 조합하여 약 6, 9, 12, 15 또는 18-bp 서열을 인식하는 멀티핑거 폴리펩티드를 생산할 수 있다. 파지 디스플레이, 효모 1-하이브리드 시스템, 박테리아 1-하이브리드 및 2-하이브리드 시스템, 및 포유동물 세포를 포함하는 특정 서열

을 인식하는 징크 핑거(및 이들의 조합)를 생성하기 위해 다양한 선택 및 모듈 조립 기술을 사용할 수 있다.

[0642] TALEN과 마찬가지로, ZFN은 DNA를 절단하기 위해 이량체화되어야 한다. 따라서, 비-회문 DNA 부위를 표적으로 삼기 위해서는 한 쌍의 ZFN이 필요하다. 2개의 개별 ZFN은 이들의 뉴클레아제가 적절한 간격을 두고 DNA의 반대쪽 가닥에 결합해야 한다.

[0643] 또한 TALEN과 마찬가지로, ZFN은 DNA에 이중-가닥 절단을 생성할 수 있고, 이는 부적절하게 복구될 경우 프레임-시프트 돌연변이를 생성하여, 세포의 표적 유전자 또는 유전자 생성물의 발현 및 양을 감소시킨다. ZFN은 또한, 상동 재조합과 함께 사용되어 표적 유전자에서 돌연변이를 일으킬 수 있다.

[0644] 표적 유전자의 서열에 특이적인 ZFN은 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 작제할 수 있다.

[0645] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 MCH-I 구성성분의 발현 및 기능은 RNA 간섭을 사용하여 감소된다. "RNAi" 또는 "RNA 간섭"은 이중-가닥 RNA(dsRNA)에 의해 매개되는 서열 특이적 전사 후 유전자 침묵 과정을 지칭한다. siRNA(소 간섭 RNA), miRNA(마이크로 RNA), shRNA(짧은 헤어핀 RNA), ddRNA(DNA-지시 RNA), piRNA(Piwi-상호작용 RNA), 또는 rasiRNA(반복 연관 siRNA) 및 이들의 변형된 형태와 같은 듀플렉스 RNA는 모두 RNA 간섭을 매개할 수 있다. 이러한 dsRNA 분자는 상업적으로 이용 가능하거나 알려진 서열 정보를 기반으로 설계 및 제조될 수 있다. 이들 분자의 안티-센스 가닥은 RNA, DNA, PNA, 또는 이의 조합을 포함할 수 있다. DNA/RNA 키메라 폴리뉴클레오티드는 표적 유전자의 발현을 억제하는 DNA 및 RNA로 구성된 이중-가닥 폴리뉴클레오티드를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. dsRNA 분자는 또한 본원에 기재된 바와 같이, 하나 이상의 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 이는 가닥 중 하나 또는 둘 모두에 통합될 수 있다.

[0646] RNAi 유전자 침묵 또는 녹다운에서, 표적 유전자의 일부에 상보적인 제1(안티-센스) 가닥 및 제1 안티-센스 가닥에 완전히 또는 부분적으로 상보적인 제2(센스) 가닥을 포함하는 dsRNA는 유기체 내로 도입된다. 유기체에 도입된 후, 표적 유전자 특이적 dsRNA는 상대적으로 작은 단편(siRNA)으로 처리되고 이후 유기체 전체에 분포될 수 있어, 표적 유전자의 메신저 RNA를 감소시켜, 표적 유전자의 완전한 또는 부분적인 결실로부터 발생하는 표현형과 매우 유사하게 될 수 있는 표현형을 유도할 수 있다.

[0647] 세포의 특정 dsRNA는 다이서(Dicer) 효소, 리보뉴클레아제 III 효소의 작용을 받을 수 있다. 다이서는 dsRNA를 dsRNA의 더 짧은 조각, 즉 siRNA로 처리할 수 있다. RNAi는 또한 RNA 유도 침묵 복합체(RISC)로 알려진 엔도뉴클레아제 복합체를 포함한다. 다이서에 의한 절단 후, siRNA는 RISC 복합체에 들어가고 siRNA 듀플렉스의 안티센스 가닥에 상보적인 서열을 갖는 단일 가닥 RNA 표적의 절단을 지시한다. siRNA의 다른 가닥은 패신저 가닥이다. 표적 RNA의 절단은 siRNA 듀플렉스의 안티센스 가닥에 상보적인 영역의 중간에서 일어난다. 따라서 siRNA는 서열 특이적 방식으로 RNA 간섭을 매개함으로써 유전자 발현을 하향 조절하거나 녹다운시킬 수 있다.

[0648] RNA 간섭과 관련하여 사용되는 바와 같이, "표적 유전자" 또는 "표적 서열"은 상응하는 RNA가 본원에 기재된 바와 같은 dsRNA 또는 siRNA를 사용하여 RNAi 경로를 통한 분해를 위해 표적화되는 유전자 또는 유전자 서열을 지칭한다. 예시적인 표적 유전자 서열은 표 10에 나타낸다. 예를 들어 siRNA를 사용하여 유전자를 표적화하기 위해, siRNA는 표적 유전자 또는 서열의 적어도 일부에 상보적이거나 실질적으로 상보적인 안티센스 영역, 및 안티-센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함한다. 일단 세포에 도입되면, siRNA는 표적 서열을 포함하는 RNA를 절단하도록 RISC 복합체를 지시하여 RNA를 분해한다. 본 개시내용은 간섭 RNA를 제공한다. 본 개시내용의 이중 가닥 RNA 분자는 당업계에 공지된 임의의 유형의 RNA 간섭 분자의 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 이중 가닥 RNA 분자는 소 간섭 RNA(siRNA)이다. 다른 실시양태에서, 이중 가닥 RNA 분자는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA) 분자이다. 다른 실시양태에서, 이중 가닥 RNA 분자는 siRNA를 생성하기 위해 세포에서 처리되는 다이서 기질이다. 다른 실시양태에서 이중 가닥 RNA 분자는 마이크로RNA 전구체 분자의 부분이다.

[0649] 일부 실시양태에서, shRNA는 RISC 활성 siRNA 분자를 생성하기 위해 처리될 수 있는 다이서 기질로서 적합한 길이이다. 예를 들어, Rossi 등, US2005/0244858을 참조한다.

[0650] 다이서 기질 이중 가닥 RNA(예를 들어 shRNA)는 활성 siRNA를 생산하기 위해 다이서에 의해 처리되기에 충분한 길이일 수 있으며 다음 특성 중 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다: (i) 다이서 기질 shRNA는 예를 들어, 안티-센스 가닥에 3' 오버행을 갖는 비대칭일 수 있음, (ii) 다이서 기질 shRNA는 다이서 결합의 방향 및 활성 siRNA로의 dsRNA의 처리, 예를 들어 하나 이상의 DNA 뉴클레오티드의 통합을 지시하기 위해 센스 가닥에서 변형된 3' 단부를 가질 수 있음, 및 (iii) 다이서 기질 ds RNA의 제1 및 제2 가닥은 21-30 bp 길이일 수 있음.

[0651] 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 B2M mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 B2M mRNA의 RNAi-매개 분해를 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, B2M mRNA 서열은 코딩 서열을 포함한다. 일

부 실시양태에서, B2M mRNA 서열은 비번역 영역을 포함한다.

[0652] 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 HLA-A*02 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 HLA-A*02 mRNA의 RNAi-매개 분해를 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, HLA-A*02 mRNA 서열은 코딩 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*02 mRNA 서열은 비번역 영역을 포함한다.

[0653] 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)이다. 일부 실시양태에서, shRNA는 5'에서 3' 단부로 B2M mRNA에 상보적인 서열을 갖는 제1 서열; 및, 5'에서 3' 단부로 제1 서열에 상보적인 서열을 갖는 제2 서열을 포함하고, 여기서 제1 서열 및 제2 서열은 shRNA를 형성한다.

[0654] 일부 실시양태에서, 제1 서열은 18, 19, 20, 21, 또는 22개 뉴클레오티드이다. 일부 실시양태에서, 제1 서열은 표 13 및 14에 제시된 서열로부터 선택된 서열에 상보적이다. 일부 실시양태에서, 제1 서열은 25% 이상 및 60% 미만의 GC 함량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 서열은 표 13 및 14에 제시된 서열로부터 선택된 서열에 상보적이다. 일부 실시양태에서, 제1 서열은 동일한 염기의 4개의 뉴클레오티드 또는 연속된 7개의 C 또는 G 뉴클레오티드 염기를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 제1 서열은 21개 뉴클레오티드이다.

[0655] 제1 서열에 상보적인 예시적인 표적 B2M 서열은 표 13에 나타나 있다.

[0656] 일부 경우에, 제1 서열은 표적 핵산 서열과 100% 동일성, 즉 완전 동일성, 상동성, 상보성을 가질 수 있다. 다른 경우에, 제1 서열과 표적 핵산 서열 사이에 하나 이상의 불일치가 있을 수 있다. 예를 들어, 센스 영역과 표적 핵산 서열 사이에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 불일치가 있을 수 있다.

[0657] 표 13에 제시된 서열은 DNA 서열로 제시된다. 표 13에 제시된 모든 서열에서, 티민(T)은 우라실(U)로 대체되어 표적 mRNA 서열의 서열에 도달할 수 있다.

[0658] 표 13. 제1 서열에 상보적인 예시적인 표적 B2M 서열

서열 번호	서열
1008	AGAGAATGGAAAGTCAAATTT
1009	ATGGACATGATCTTCTTTATA
1010	TGGACATGATCTTCTTTATAA
1011	GGACATGATCTTCTTTATAAT
1012	TGACAGGATTATTGGAAATTT
1013	TTGTGGTTAATCTGGTTTATT
1014	TGTGGTTAATCTGGTTTATTT
1015	GCAGAGAATGGAAAGTCAAAT
1016	CAGAGAATGGAAAGTCAAATT
1017	GAGAATGGAAAGTCAAATTTC
1018	GTCACAGCCCAAGATAGTTAA
1019	TGCTTATACACTTACACTTTA
1020	GCTTATACACTTACACTTTAT
1021	CTTATACACTTACACTTTATG
1022	ACATGGACATGATCTTCTTTA
1023	CATGGACATGATCTTCTTTAT
1024	ATCAACATCTTGGTCAGATTT
1025	CTTGCACTCAAAGCTTGTTAA
1026	AGTTAAGCGTGCATAAGTTAA
1027	GCATAAGTTAACTTCCAATTT
1028	TACATACTCTGCTTAGAATTT
1029	ACATACTCTGCTTAGAATTTG
1030	TTGACAGGATTATTGGAAATT
1031	GACAGGATTATTGGAAATTTG
1032	TAAGGCATGGTTGTGGTTAAT
1033	GTTGTGGTTAATCTGGTTTAT
1034	GTTCCACAAGTTAAATAAATC
1035	TCCAGCGTACTCCAAAGATTC
1036	TACTCCAAAGATTCAGGTTTA
1037	ACTCCAAAGATTCAGGTTTAC
1038	CACGTCATCCAGCAGAGAATG
1039	GGTTTCATCCATCCGACATTG
1040	CCGACATTGAAGTTGACTTAC
1041	TGAAGAATGGAGAGAGAATTG
1042	GAGCATTCAGACTTGTCTTTC
1043	TTCAGCAAGGACTGGTCTTTC
1044	GCAAGGACTGGTCTTTCTATC
1045	CGTGTGAACCATGTGACTTTG
1046	CTTTGTCACAGCCCAAGATAG
1047	TCACAGCCCAAGATAGTTAAG
1048	AGTGGGATCGAGACATGTAAG
1049	AGGTTTGAAGATGCCGCATTT
1050	GGTTTGAAGATGCCGCATTTG
1051	TTGATATGCTTATACACTTAC
1052	TGAGTGCTGTCTCCATGTTTG
1053	TGTCTCCATGTTTGATGTATC
1054	TCAACATCTTGGTCAGATTTG
1055	TCAGATTTGAACTCTTCAATC
1056	TTCAATCTCTTGCACTCAAAG
1057	TTGCACTCAAAGCTTGTTAAG
1058	ACTCAAAGCTTGTTAAGATAG
1059	AGATAGTTAAGCGTGCATAAG
1060	TGCATAAGTTAACTTCCAATT
1061	GTTAACTTCCAATTTACATAC
1062	ATTGACAGGATTATTGGAAAT
1063	GTAAGGCATGGTTGTGGTTAA
1064	GGTTGTGGTTAATCTGGTTTA
1065	TTCCTGAAGCTGACAGCATTC
1066	GCTATCCAGCGTACTCCAAAG
1067	CATCCAGCAGAGAATGGAAAG
1068	CAAATTTCCTGAATTGCTATG
1069	ATTGCTATGTGTCTGGGTTTC
1070	GAAGATGCCGCATTTGGATTG
1071	CAATTTACATACTCTGCTTAG
1072	TATCCAGCGTACTCCAAAGAT
1073	ATCCAGCGTACTCCAAAGATT
1074	CTCCAAAGATTCAGGTTTACT
1075	TGCTATGTGTCTGGGTTTCAT
1076	TTTCATCCATCCGACATTGAA
1077	GAAGTTGACTTACTGAAGAAT
1078	GAAGAATGGAGAGAGAATTGA
1079	AGAATGGAGAGAGAATTGAAA
1080	CAGCAAGGACTGGTCTTTCTA
1081	AGCAAGGACTGGTCTTTCTAT
1082	ACTTTGTCACAGCCCAAGATA
1083	TTGTCACAGCCCAAGATAGTT
1084	TGTCACAGCCCAAGATAGTTA
1085	CACAGCCCAAGATAGTTAAGT
1086	GCAGCATCATGGAGGTTTGAA
1087	CCGCATTTGGATTGGATGAAT
1088	TTGAGTGCTGTCTCCATGTTT
1089	AGTGCTGTCTCCATGTTTGAT
1090	CTGTCTCCATGTTTGATGTAT
1091	TCTAGGAGGGCTGGCAACTTA
1092	CAACATCTTGGTCAGATTTGA
1093	GTCAGATTTGAACTCTTCAAT
1094	TCTTGCACTCAAAGCTTGTTA
1095	TGCACTCAAAGCTTGTTAAGA
1096	GCACTCAAAGCTTGTTAAGAT
1097	CACTCAAAGCTTGTTAAGATA
1098	TCAAAGCTTGTTAAGATAGTT
1099	CAAAGCTTGTTAAGATAGTTA
1100	GATAGTTAAGCGTGCATAAGT
1101	ATAGTTAAGCGTGCATAAGTT
1102	TAGTTAAGCGTGCATAAGTTA
1103	TTAAGCGTGCATAAGTTAACT
1104	TAAGCGTGCATAAGTTAACTT
1105	ATTTACATACTCTGCTTAGAA
1106	TTTACATACTCTGCTTAGAAT
1107	ACAGGATTATTGGAAATTTGT
1108	CAGGATTATTGGAAATTTGTT
1109	AGGCATGGTTGTGGTTAATCT
1110	CAGCAGAGAATGGAAAGTCAA
1111	TCCGACATTGAAGTTGACTTA
1112	CTGGTCTTTCTATCTCTTGTA
1113	CCGTGTGAACCATGTGACTTT
1114	CCCAAGATAGTTAAGTGGGAT
1115	GGTTGCTCCACAGGTAGCTCT

[0659]

서열 번호	서열
1116	GCTCCACAGGTAGCTCTAGGA
1117	GGGAGCAGAGAATTCTCTTAT
1118	GGAGCAGAGAATTCTCTTATC
1119	GAGCAGAGAATTCTCTTATCC
1120	GAGAATTCTCTTATCCAACAT
1121	GAATTCTCTTATCCAACATCA
1122	AAGTGGAGCATTCAGACTTGT
1123	AAGGACTGGTCTTTCTATCTC
1124	AAGCTTGTTAAGATAGTTAAG
1125	AAGCGTGCATAAGTTAACTTC
1126	AAGATGCCGCATTTGGATTGG
1127	AAGAATGGAGAGAGAATTGAA
1128	AACATCAACATCTTGGTCAGA
1129	AAGGCATGGTTGTGGTTAATC
1130	AAGCAGCATCATGGAGGTTTG
1131	AAGATGAGTATGCCTGCCGTG
1132	AAGTTGACTTACTGAAGAATG
1133	AAGATAGTTAAGCGTGCATAA
1134	AACTTCCAATTTACATACTCT
1135	AACATCTTGGTCAGATTTGAA
1136	AACTCTTCAATCTCTTGCACT
1137	AATTTCCTGAATTGCTATGTG
1138	AATGGAAAGTCAAATTTCCTG
1139	AACCATGTGACTTTGTCACAG
1140	AATTGACAGGATTATTGGAAA
1141	AATTCTCTTATCCAACATCAA
1142	AAAGTGGAGCATTCAGACTTG
1143	AAAGTCAAATTTCCTGAATTG
1144	GTTGCTCCACAGGTAGCTCTA
1145	AATTTACATACTCTGCTTAGA

[0660]

[0661] B2M shRNA를 암호화하는 예시적인 서열은 GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호: 349)의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. B2M

shRNA를 암호화하는 추가 예시적인 서열은 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350)의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0662] 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 HLA-A*02 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 HLA-A*02 mRNA의 RNAi-매개 분해를 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, HLA-A*02 mRNA 서열은 코딩 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*02 mRNA 서열은 비번역 영역을 포함한다.

[0663] 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 HLA-A*03 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 HLA-A*03 mRNA의 RNAi-매개 분해를 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, HLA-A*03 mRNA 서열은 코딩 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA-A*03 mRNA 서열은 비번역 영역을 포함한다.

[0664] 일부 실시양태에서, 간섭 RNA는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)이다. 일부 실시양태에서, shRNA는 5'에서 3' 단부로 HLA-A*02 mRNA에 상보적인 서열을 갖는 제1 서열; 및 5'에서 3' 단부로 제1 서열에 상보적인 서열을 갖는 제2 서열을 포함하며, 여기서 제1 서열 및 제2 서열은 shRNA를 형성한다.

[0665] 제1 서열에 상보적인 예시적인 표적 HLA 서열은 표 14에 나타나 있다.

[0666] 표 14. 제1 서열에 상보적인 예시적인 표적 HLA 서열

서열 번호	서열
1146	CTTCTTCCTTCCCTATTAAAA
1147	TCTCACTCCATGAGGTATTTC
1148	CTCTCACTCCATGAGGTATTT
1149	GAGGAGGAAGAGCTCAGATAG
1150	GCTCTCACTCCATGAGGTATT
1151	AGGATTACATCGCCCTGAAAG
1152	ACACCGTCCAGAGGATGTATG
1153	AGGGTCCTTCTTCCTGGATAC
1154	CCTACGACGGCAAGGATTACA
1155	TCACTCCATGAGGTATTTCTT
1156	CTACGACGGCAAGGATTACAT
1157	CTCACTCCATGAGGTATTTCT
1158	GGAGGAAGAGCTCAGATAGAA
1159	CACACCGTCCAGAGGATGTAT
1160	CACGCTGTCTCTGACCATGAA
1161	CTGGACAGGAGCAGAGATACA
1162	TGGAGGAGGAAGAGCTCAGAT
1163	GGCTCTCACTCCATGAGGTAT
1164	CATCTCTGTCTCAACTTCATG
1165	TACGACGGCAAGGATTACATC
1166	GGATTACATCGCCCTGAAAGA
1167	GATTACATCGCCCTGAAAGAG
1168	CTCAGACCACCAAGCACAAGT
1169	TCACACCGTCCAGAGGATGTA
1170	ACTCCATGAGGTATTTCTTCA
1171	CACTCCATGAGGTATTTCTTC
1172	CCATGAGGTATTTCTTCACAT
1173	ACTTCTTCCTTCCCTATTAAA
1174	GTGTCTCTCACAGCTTGTAAA
1175	CTGTGTTCGTGTAGGCATAAT
1176	TGTGTTCGTGTAGGCATAATG
1177	TAACTTCTTCCTTCCCTATTA
1178	TCTGGACAGGAGCAGAGATAC
1179	TTGCTGGCCTGGTTCTCTTTG
1180	TGTCTCTCACAGCTTGTAAAG
1181	ACTTGAAGAACCCTGACTTTG
1182	GAAGAACCCTGACTTTGTTTC
1183	TCTGTGTTCGTGTAGGCATAA
1184	CATGGTGCACTGAGCTGTAAC
1185	GTAACTTCTTCCTTCCCTATT
1186	CATGTGCAGCATGAGGGTTTG
1187	TTGTTCCTGCCCTTCCCTTTG
1188	ACCCAGTTCTCACTCCCATTG
1189	GGGTTTCCAGAGAAGCCAATC
1190	TTCTCCCTCTCCCAACCTATG
1191	GTCTCTCACAGCTTGTAAAGT
1192	TGTGTCTCTCACAGCTTGTAA
1193	GAGGAAGAGCTCAGATAGAAA

서열 번호	서열
1194	TGAAGAACCCTGACTTTGTTT
1195	TTGAAGAACCCTGACTTTGTT
1196	GTGTTCGTGTAGGCATAATGT
1197	TGGTGCACTGAGCTGTAACTT
1198	CTCCCTCTCCCAACCTATGTA
1199	AGGAGGAAGAGCTCAGATAGA
1200	ACCTATGTAGGGTCCTTCTTC
1201	GGGTCCTTCTTCCTGGATACT
1202	GGTCCTTCTTCCTGGATACTC
1203	GTCCTTCTTCCTGGATACTCA
1204	AAGCCAATCAGTGTCGTCGCG
1205	AAGAGGACCTGCGCTCTTGGA
1206	AAGTGTGAGACAGCTGCCTTG
1207	AAGGCACCTGCATGTGTCTGT
1208	AATCATCTTTCCTGTTCCAGA
1209	AAAGGCACCTGCATGTGTCTG
1210	AAAGAGGACCTGCGCTCTTGG
1211	AAACGCATATGACTCACCACG
1212	GGAAGAGCTCAGATAGAAA
1213	GGGAGACACGGAAAGTGAA
1214	CACCTGCCATGTGCAGCATGA
1215	GGAGATCACACTGACCTGGCA
1216	GGATTACATCGCCCTGAAAG
1217	GCAGGAGGGTCCGGAGTATT
1218	GGACGGGGAGACACGGAAAG
1219	GAAAGTGAAGGCCCACTCA
1220	GATACCTGGAGAACGGGAAG
1221	GCTGTGGTGGTGCCTTCTGG
1222	GCTACTACAACCAGAGCGAG
1223	GTGGCTCCGCAGATACCTG
1224	GCCAATCAGTGTCGTCGCG
1225	GAGGACCTGCGCTCTTGGA
1226	GTGTGAGACAGCTGCCTTG
1227	GGCACCTGCATGTGTCTGT
1228	TCATCTTTCCTGTTCCAGA
1229	AGGCACCTGCATGTGTCTG
1230	AGAGGACCTGCGCTCTTGG
1231	ACGCATATGACTCACCACG

[0667]

[0668] 일부 실시양태에서, 제1 서열 및 제2 서열은 때때로 루프로 지칭되는 링커에 의해 분리된다. 일부 실시양태에서, 제1 서열 및 제2 서열 모두 하나의 단일-가닥 RNA 또는 DNA 벡터에 의해 암호화된다. 일부 실시양태에서, 루프는 제1 서열과 제2 서열 사이에 있다. 이들 실시양태에서, 제1 서열 및 제2 서열은 혼성화하여 듀플렉스 영역을 형성한다. 제1 서열 및 제2 서열은 링커 서열에 의해 결합되어, "헤어핀" 또는 "스템-루프" 구조를 형성한다. shRNA는 단일 가닥 분자의 반대쪽 끝에 상보적인 제1 서열과 제2 서열을 가질 수 있으므로, 분자는 상보적인 서열 부분과 듀플렉스 영역을 형성할 수 있고, 가닥은 링커에 의해 듀플렉스 영역의 한쪽 끝에서 연결된다(즉, 루프 서열). 링커, 또는 루프 서열은 뉴클레오티드 또는 비-뉴클레오티드 링커일 수 있다. 링커는 공유 결합 또는 비공유 상호작용을 통해 제1 서열, 선택적으로 제2 서열과 상호작용할 수 있다.

[0669] 임의의 적합한 뉴클레오티드 루프 서열은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 생각된다. 본 개시내용의 shRNA는 shRNA의 제1 서열을 shRNA의 제2 서열에 결합시키는 뉴클레오티드, 비-뉴클레오티드, 또는 혼합된 뉴클레오티드/비-뉴클레오티드 링커를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드 루프 서열은 2개 이상의 뉴클레오티드 길이, 예를 들어 약 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 예시적인 루프 서열은 표 16에 개시되어 있다.

[0670] 일부 실시양태에서, shRNA는 5' 측면 서열 및 3' 측면 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 5' 측면 서

열은 제1 서열의 5' 단부에 연결되고, 3' 측면 서열은 제2 서열의 3' 단부에 연결된다.

[0671] 이론에 얽매이지 않고, 마이크로RNA에서 발견되는 것과 유사한 5' 및 3' 서열을 갖는 측면 shRNA 스템 루프 서열은 내인성 마이크로RNA 처리 기구에 의한 처리를 위해 shRNA를 표적으로 하여 shRNA 처리의 효율성을 증가시킬 수 있다고 생각된다. 대안적으로, 또는 추가로, 측면 서열은 중합효소 II 또는 중합효소 III 프로모터와의 shRNA 호환성을 증가시켜, shRNA 발현의 더욱 효과적인 조절을 유도할 수 있다.

[0672] 일부 실시양태에서, 5' 측면 서열은 표 15에 제시된 서열로부터 선택된다. 예시적인 측면 서열은 표 15에 나타낸다.

[0673] 표 15. 예시적인 측면 서열

[0674]

서열번호	5' 측면 서열
1232	GG
1233	ACACCAUGUUGCCAGUCUCUAGG
1234	UGAUAGCAAUGUCAGCAGUGCCU
1235	UAUUGCUGUUGACAGUGAGCGAC
서열번호	**3' 측면 서열**
1236	UGGCGUCUGGCCCAACCACAC
1237	GUAAGGUUGACCAUACUCUAC

[0675] 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 서열은 단일 가닥 폴리뉴클레오티드 상에 존재하고, 여기서 제1 서열 및 제2 서열은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개 뉴클레오티드에 의해 분리되고, 여기서 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개 뉴클레오티드는 shRNA에서 루프 영역을 형성한다. 일부 실시양태에서, 루프 영역은 표 16에 제시된 서열로부터 선택된 서열을 포함한다.

[0676] 표 16. 예시적인 루프 영역 서열

[0677]

서열번호	루프 영역 서열
1238	CGAA
1239	UUCAAGA
1240	AUAUUCA
1241	UGUGCUGUC
1242	CUCGAG
1243	CUUCCUGUCAGA
1244	CUUCCCUUUGUCAGA
1245	GUGUUAUUCUUG
1246	GUGUCUUAAUUG
1247	GUGUUAGUCUUG
1248	UCAAGAG
1249	GGACAUCCAGGG
1250	GUGAAGCCACAGAUG
1251	GAUUCUAAAA

[0678] 본 개시내용의 shRNA는 화학적 합성에 의해, 시험관 내 전사에 의해, 또는 다이서 또는 유사한 활성을 갖는 또 다른 적절한 뉴클레아제를 사용한 더 긴 이중 가닥 RNA의 절단에 의해 외인성으로 생성될 수 있다. 통상적인 DNA/RNA 합성기를 사용하여 보호된 리보뉴클레오시드 포스포르아미다이트로부터 생성된, 화학적으로 합성된 siRNA는 Millipore Sigma(텍사스주 휴스턴), Ambion Inc.(텍사스주 오스틴). Invitrogen(캘리포니아주 칼즈배드), 또는 Dharmacon(콜로라도 라피엣)과 같은 상업적 공급자로부터 수득할 수 있다. siRNA는 예를 들어 용매 또는 수지를 사용한 추출, 침전, 전기영동, 크로마토그래피 또는 이들의 조합에 의해 정제될 수 있다. 대안적으로, siRNA는 샘플 처리로 인한 소실을 피하기 위해 거의 정제 없이 사용할 수 있다.

[0679] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 shRNA는 이중 가닥 RNA를 암호화하는 핵산이 클로닝된 발현 벡터를 사용하여, 예를 들어 적합한 프로모터의 제어 하에 생산될 수 있다.

[0680] ***약제학적 조성물***

[0681] 본 개시내용은 본 개시내용의 제1 및 제2 수용체를 포함하는 면역 세포 및 약제학적으로 허용 가능한 희석제,

담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0682] 이러한 조성물은 중성 완충 식염수, 인산염 완충 식염수 등과 같은 완충제; 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 덱스트란, 만니톨과 같은 탄수화물; 단백질; 폴리펩티드 또는 글리신과 같은 아미노산; 항산화제; EDTA 또는 글루타티온과 같은 킬레이트제; 및 방부제를 포함할 수 있다.

[0683] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 제1 수용체 및 제2 수용체 모두를 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 또는 약 95%의 면역 세포가 제1 수용체 및 제2 수용체 모두를 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 90%의 면역 세포가 제1 수용체 및 제2 수용체 모두를 발현한다.

[0684] ***암 치료***

[0685] 치료적 유효량의 본 개시내용의 제1 및 제2 수용체를 포함하는 면역 세포를 포함하는 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 복수의 암세포를 사멸시키거나 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 면역 세포는 동일한 세포에서 두 수용체를 모두 발현한다.

[0686] 암은 비정상 세포가 통제 없이 분열하여 주변 조직으로 전이되는 질환이다. 일부 실시양태에서, 암은 액상 종양 또는 고형 종양을 포함한다. 예시적인 액상 종양은 백혈병 및 림프종을 포함한다. 암은 상피 조직을 포함하여 사실상 신체의 한 기관에서 발생할 수 있다. 복수의 암세포가 제1, 활성화제, 리간드를 발현하고 제2, 억제제 리간드를 발현하지 않는 임의의 암은 본 개시내용의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법을 사용하여 치료될 수 있는 MSLN 양성 암은 중피종, 난소암, 자궁경부암, 자궁암, 위암, 췌장암, 폐암, 예컨대 폐 선암종, 결장직장암 및 담관암종을 포함한다.

[0687] 일부 실시양태에서, 복수의 암세포는 표적 항원을 발현한다. 일부 실시양태에서, 대상체의 복수의 암세포는 MSLN을 발현한다. MSNL 양성 암에는 중피종암, 난소암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 두경부암, 신장암, 자궁암, 위암, 췌장암, 폐암, 폐 선암종, 결장직장암 또는 담관암종뿐만 아니라 기타 고형 상피 종양이 포함된다. MSLN을 발현하는 추가 암에는 재발성, 불응성 또는 전이성 위암, 식도암, 두경부암 및 신장암이 포함된다. 일부 실시양태에서, MSLN 양성 암은 상피 종양, 예를 들어 암종을 포함한다.

[0688] 본원에는 MHC 클래스 I 유전자좌에서 이형접합성이 소실된 종양인, MSLN+ 종양을 갖는 대상체에서 MSLN+ 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체에게 유효량의 본원에 기재된 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 (a) 대상체의 정상 세포 및 복수의 암세포의 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 유전자형 또는 발현을 결정하는 단계; (b) 대상체의 복수의 암세포에서 MSLN의 발현을 결정하는 단계; 및 (c) 정상 세포가 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 비-표적 항원을 발현하고 복수의 암세포가 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 비-표적 항원을 발현하지 않고, 복수의 암세포가 또한 MSLN-양성인 경우, 대상체에게 유효량의 본 개시내용의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 예를 들어 암이 MSLN+인 것으로 알려진 실시양태에서, 방법은 (a) 대상체의 정상 세포 및 복수의 암세포의 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 유전자형 또는 발현을 결정하는 단계; 및 (b) 정상 세포가 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 비-표적 항원을 발현하고 복수의 암세포가 비-표적 항원을 발현하지 않는 경우 대상체에게 유효량의 본 개시내용의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 HLA-A*02, HLA-A*01, HLA-A*03, HLA-A*11, HLA-B*07 또는 HLA-C*07을 포함한다.

[0689] 일부 실시양태에서, 복수의 암세포는 ICAM1, COMT 또는 CXCL16의 다형성 대립유전자를 발현하지 않는다. 예를 들어, 암 세포는 해당 유전자좌에서 이형접합성의 소실을 통해 CAM1, COMT 또는 CXCL16의 대립유전자를 소실하였다.

[0690] 일부 실시양태에서, 복수의 암세포는 LRRN4 또는 UPK3B를 발현하지 않거나 정상 세포보다 낮은 발현을 갖는다.

[0691] 본 개시내용은 다음을 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다: (a) ICAM1의 다형성 유전자좌, COMT의 다형성 유전자좌 및 CXCL16의 다형성 유전자좌로 이루어진 군으로부터 선택된 다형성 유전자좌에서 대상체의 정상 세포 및 복수의 암세포의 유전자형을 결정하는 단계; (b) 복수의 암세포에서 MSLN의 발현을 결정하는 단계; 및 (c) 정상 세포가 다형성 유전자좌에 대해 이형접합성이고 복수의 암세포가 다형성 유전자좌에 대해 반접합성이고 복수의 암세포가 MSLN 양성인 경우, 복수의 면역 세포를 대상체에 투여하는 단계로서, 여기서 복수의 암세포는 면역 세포는 다음을 포함하는, 단계: (i) MSLN, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 수용체, 선택적으로

키메라 항원 수용체(CAR) 또는 T 세포 수용체(TCR); 및 (ii) ICAM1, COMT 및 CXCL16으로부터 선택된 비-표적 항원, 또는 주요 조직적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 항원 펩티드에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 수용체로서 비-표적 항원은 다형성을 포함하는, 제2 수용체, 선택적으로 억제성 키메라 항원 수용체.

[0692] SNP의 존재 또는 부재에 대해 대상체로부터 암 세포 및 정상 세포를 유전자형 분석하는 방법은 당업자에게 쉽게 자명할 것이다. SNP 유전자형 분석 방법은 특히, 이중 프로브 TaqMan 검정, 어레이 기반 혼성화 방법 및 시퀀싱과 같은 PCR 기반 방법을 포함한다.

[0693] 대상체의 암 또는 정상 세포에서 표적 항원의 발현을 측정하는 방법은 당업자에게 쉽게 자명할 것이다. 여기에는 특히 RNA 시퀀싱 및 역전사 중합효소 연쇄 반응(RT-PCR)과 같은 RNA 발현을 측정하는 방법뿐만 아니라 면역조직화학 기반 방법과 같은 단백질 발현을 측정하는 방법이 포함된다. 복수의 암세포에서 이형접합성의 소실을 측정하는 방법은 특히 당업계에 공지된 방법을 사용하여 암 세포로부터 추출된 게놈 DNA의 고처리량 시퀀싱을 포함한다.

[0694] 본 개시내용은 복수의 암세포에서 비-표적 항원의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법 및 복수의 암세포에서 비-표적 항원의 발현 수준이 복수의 건강한 세포의 비-표적 항원의 발현 수준보다 낮은 경우 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 비-표적 항원은 LRRN4 또는 UPKB3, 또는 LRRN4 또는 UPKB3의 펩티드 항원을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 복수의 암세포에서 MSLN의 발현을 결정하는 단계; 및 복수의 암세포가 비-표적 항원의 발현이 낮거나 없고, 복수의 암세포가 MSLN 양성인 경우 대상체에게 복수의 면역 세포를 투여하는 단계를 포함한다.

[0695] 대상체에서 암 또는 세포에서 표적 항원의 발현을 측정하는 방법은 당업자에게 쉽게 자명할 것이다. 여기에는 특히 RNA 시퀀싱 및 역전사 중합효소 연쇄 반응(RT-PCR)과 같은 RNA 발현을 측정하는 방법뿐만 아니라 면역조직화학 기반 방법과 같은 단백질 발현을 측정하는 방법이 포함된다.

[0696] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 T 세포이다.

[0697] 일부 실시양태에서, 면역 세포는 동종이계 또는 자가유래이다.

[0698] 일부 실시양태에서, 제2 수용체는 제1 수용체는 발현하지만 제2 수용체는 발현하지 않는 면역 세포와 비교하여 MSLN 양성 암 세포에 대한 면역 세포의 특이성을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 제1 수용체는 발현하지만 제2 수용체는 발현하지 않는 면역 세포와 비교하여 감소된 부작용을 갖는다.

[0699] 본원에 기재된 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 성장을 정지시킬 수 있다. 예를 들어, 면역 세포 또는 약제학적 조성물은 종양 세포를 죽일 수 있어 종양이 성장을 멈추거나 크기가 감소한다. 일부 경우에, 면역 세포 또는 약제학적 조성물은 추가 종양의 형성을 예방하거나 대상체에서 종양의 총 수를 감소시킬 수 있다.

[0700] 본원에 기재된 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 암 세포는 선택적으로 사멸시키지만 야생형 세포는 사멸시키지 않는 결과를 초래할 수 없다. 일부 실시양태에서, 사멸된 세포의 약 60%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 65%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 70%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 75%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 80%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 85%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 90%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 95%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 100%가 암 세포이다.

[0701] 본원에 기재된 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체의 암 세포의 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90% 또는 전부를 사멸시킬 수 있다.

[0702] 본원에 기재된 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 제1 활성화제 수용체를 포함하지만 제2 억제 수용체는 포함하지 않는 등가의 면역 세포를 투여하는 것보다 대상체에 대해 더 적은 부작용을 초래할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 제2 억제 수용체 없이 투여된 MSLN CAR 또는 MSLN TCR에 비해 용량 제한 독성을 감소시킬 수 있다.

[0703] 암을 치료하면 종양의 크기가 감소할 수 있다. 종양 크기의 감소는 "종양 퇴행"이라고도 한다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 크기는 치료 전 크기에 비해 5% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 종양 크기는 10% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 20% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 30% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 40% 이상 감소되고; 더욱 바람직하게는, 50% 이상 감소되고; 가장 바람직하게는, 75% 또는 그 이상 감소된다. 종양

의 크기는 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 종양의 크기는 종양의 직경으로 측정할 수 있다.

[0704] 암을 치료하면 종양 부피가 감소할 수 있다. 바람직하게는, 치료 후 종양 부피는 치료 전 크기에 비해 5% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 종양 부피는 10% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 20% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 30% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 40% 이상 감소되고; 더욱 바람직하게는, 50% 이상 감소되고; 가장 바람직하게는, 75% 또는 그 이상 감소된다. 종양 부피는 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다.

[0705] 본원에 기재된 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 크기를 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 종양의 크기는 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여 전 종양의 크기와 비교하여 약 5%, 약 10%, 약 15%, 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 100% 감소한다. 일부 실시양태에서, 종양은 제거된다.

[0706] 암을 치료하면 종양의 수가 감소한다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 수는 치료 전의 수에 비해 5% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 종양 수는 10% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 20% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 30% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 40% 이상 감소되고; 더욱 바람직하게는, 50% 이상 감소되고; 가장 바람직하게는, 75% 초과로 감소된다. 종양의 수는 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 종양의 수는 육안으로 또는 특정 배율로 볼 수 있는 종양을 세어 측정할 수 있다. 바람직하게는, 지정된 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 또는 50x이다.

[0707] 암을 치료하면 원발성 종양 부위에서 멀리 떨어진 다른 조직이나 기관의 전이성 병변 수가 감소할 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 전이성 병변의 수는 치료 전 수에 비해 5% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 전이성 병변의 수는 10% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 20% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 30% 이상 감소되고; 보다 바람직하게는, 40% 이상 감소되고; 더욱 바람직하게는, 50% 이상 감소되고; 가장 바람직하게는, 75% 초과 감소된다. 전이성 병변의 수는 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 전이성 병변의 수는 육안으로 또는 특정 배율로 볼 수 있는 전이성 병변을 세어 측정할 수 있다. 바람직하게는, 지정된 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 또는 50x이다.

[0708] 암을 치료하면 담체만 받는 집단과 비교하여 치료 대상체 집단의 평균 생존 시간이 증가할 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간은 30일 초과; 보다 바람직하게는, 60일 초과; 보다 바람직하게는, 90일 초과; 가장 바람직하게는, 120일 초과 증가한다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 재현 가능한 모든 수단으로 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 예를 들어, 집단에 대해 활성 화합물로 치료를 시작한 후 평균 생존 기간을 계산하여 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한 예를 들어, 집단에 대해 활성 화합물로 치료의 제1 라운드를 완료한 후 평균 생존 기간을 계산하여 측정할 수 있다.

[0709] 암을 치료하면 치료받지 않은 대상체 집단과 비교하여 치료 대상체 집단의 평균 생존 시간이 증가할 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간은 30일 초과; 보다 바람직하게는, 60일 초과; 보다 바람직하게는, 90일 초과; 및 가장 바람직하게는, 120일 초과 증가한다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 재현 가능한 모든 수단으로 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 예를 들어, 집단에 대해 활성 화합물로 치료를 시작한 후 평균 생존 기간을 계산하여 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한 예를 들어, 집단에 대해 활성 화합물로 치료의 제1 라운드를 완료한 후 평균 생존 기간을 계산하여 측정할 수 있다.

[0710] 암을 치료하면 본 개시내용의 화합물이 아닌 약물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 전구약물, 대사산물, 유사체 또는 이의 유도체로 단일요법을 받는 집단과 비교하여 치료받는 대상체 집단의 평균 생존 시간을 증가시킬 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간은 30일 초과; 보다 바람직하게는, 60일 초과; 보다 바람직하게는, 90일 초과; 및 가장 바람직하게는, 120일 초과 증가한다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 재현 가능한 모든 수단으로 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 예를 들어, 집단에 대해 활성 화합물로 치료를 시작한 후 평균 생존 기간을 계산하여 측정할 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한 예를 들어, 집단에 대해 활성 화합물로 치료의 제1 라운드를 완료한 후 평균 생존 기간을 계산하여 측정할 수 있다.

[0711] 암을 치료하면 담체만을 수용하는 집단과 비교하여 치료 대상체 집단의 사망률 감소를 초래할 수 있다. 암을 치료하면 치료되지 않은 집단과 비교하여 치료 대상체 집단의 사망률이 감소할 수 있다. 암을 치료하면 본 개시내용의 화합물이 아닌 약물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 전구약물, 대사산물, 유사체 또는 이의 유도체로 단일요법을 받는 집단과 비교하여 치료 대상체 집단의 사망률 감소를 초래할 수 있다. 바람직하게는, 사망률이 2% 초과; 보다 바람직하게는, 5% 초과; 보다 바람직하게는, 10% 초과; 및 가장 바람직하게는, 25% 초과 감

소한다. 치료 대상체 집단의 사망률 감소는 임의의 재현 가능한 수단으로 측정할 수 있다. 집단의 사망률 감소는 예를 들어, 집단에 대해 활성 화합물로 치료를 시작한 후 단위 시간당 평균 질환-관련 사망 수를 계산하여 측정할 수 있다. 집단의 사망률 감소는 또한 예를 들어, 집단에 대해 활성 화합물로 치료의 제1 라운드를 완료한 후 단위 시간당 평균 질환-관련 사망 수를 계산하여 측정할 수 있다.

[0712] 암을 치료하면 종양 성장 속도가 감소할 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 성장 속도가 치료 전의 수에 비해 적어도 5% 감소되고; 보다 바람직하게는, 종양 성장 속도가 적어도 10% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 20% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 30% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 40% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 더욱 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 종양 성장 속도는 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 단위 시간당 종양 직경의 변화에 따라 종양 성장 속도를 측정할 수 있다.

[0713] 암을 치료하면 종양 재성장이 감소할 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 재성장은 5% 미만이고; 보다 바람직하게는, 종양 재성장은 10% 미만이고; 보다 바람직하게는, 20% 미만이고; 보다 바람직하게는, 30% 미만이고; 보다 바람직하게는, 바람직하게는 40% 미만이고; 보다 바람직하게는, 50% 미만이고; 더욱 바람직하게는, 50% 미만이고; 가장 바람직하게는, 75% 미만이다. 종양 재성장은 임의의 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 종양 재성장은 예를 들어, 치료 후 선행 종양 수축 후 종양 직경의 증가를 측정함으로써 측정된다. 종양 재성장의 감소는 치료가 중단된 후 종양이 재발하지 않는 것으로 나타난다.

[0714] 암을 치료하거나 예방하면 세포 증식 속도가 감소할 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 세포 증식률은 적어도 5%; 보다 바람직하게는, 적어도 10%; 보다 바람직하게는, 적어도 20%; 보다 바람직하게는, 적어도 30%; 보다 바람직하게는, 적어도 40%; 보다 바람직하게는, 적어도 50%; 더욱 바람직하게는, 적어도 50%; 그리고 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 세포 증식 속도는 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 세포 증식 속도는 예를 들어, 단위 시간당 조직 샘플에서 분열하는 세포의 수를 측정함으로써 측정된다.

[0715] 암을 치료하거나 예방하면 증식하는 세포의 비율이 감소할 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 증식하는 세포의 비율은 적어도 5%; 보다 바람직하게는, 적어도 10%; 보다 바람직하게는, 적어도 20%; 보다 바람직하게는, 적어도 30%; 보다 바람직하게는, 적어도 40%; 보다 바람직하게는, 적어도 50%; 더욱 바람직하게는, 적어도 50%; 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 증식 세포의 비율은 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 바람직하게는, 증식 세포의 비율은 예를 들어, 조직 샘플에서 분열하지 않는 세포의 수에 대해 분열하는 세포의 수를 정량화함으로써 측정된다. 증식하는 세포의 비율은 유사분열 지수와 동일할 수 있다.

[0716] 암을 치료하거나 예방하면 세포 증식 영역 또는 구역의 크기가 감소할 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 세포 증식 영역 또는 구역의 크기는 치료 전 크기에 비해 적어도 5% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 10% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 20% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 30% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 40% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 더욱 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 세포 증식 영역 또는 구역의 크기는 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 세포 증식 영역 또는 구역의 크기는 세포 증식 영역 또는 구역의 직경 또는 폭으로 측정될 수 있다.

[0717] 암을 치료하거나 예방하면 비정상적인 외관이나 형태를 가진 세포의 수나 비율이 감소할 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 비정상적인 형태를 갖는 세포의 수는 치료 전 크기에 비해 적어도 5% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 10% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 20% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 30% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 40% 감소되고; 보다 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 더욱 바람직하게는, 적어도 50% 감소되고; 가장 바람직하게는, 적어도 75% 감소된다. 비정상적인 세포 외관 또는 형태는 재현 가능한 측정 수단으로 측정할 수 있다. 비정상적인 세포 형태는 현미경, 예를 들어 도립 조직 배양 현미경을 사용하여 측정할 수 있다. 비정상적인 세포 형태는 핵 다형성의 형태를 취할 수 있다.

[0718] ***투여량 및 투여***

[0719] 본 개시내용의 면역 세포는 국소 또는 전신 치료가 필요한지에 따라 다양한 방식으로 투여될 수 있다.

[0720] 일반적으로, 투여는 비경구적일 수 있다.

[0721] 입양 세포 요법을 위한 세포 투여 방법은 공지되어 있으며 제공된 방법 및 조성물과 관련하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 입양 T 세포 치료 방법은 예를 들어, Gruenberg 등의 미국 특허 출원 공개 번호 2003/0170238 및 Rosenberg의 미국 특허 번호 4,690,915에 기재되어 있다.

[0722] 본 개시내용의 조성물은 비경구 투여에 적합하다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 약제학적 조성물의 "비경구 투여"는 대상체의 조직을 물리적으로 파괴하는 것을 특징으로 하는 임의의 투여 경로 및 조직의 파괴를 통한 약제학적 조성물의 투여를 포함하며, 따라서 일반적으로 혈류, 근육 또는 내부 기관으로의 직접 투여를 야기한다. 비경구 투여는 조성물의 주사, 외과적 절개를 통한 조성물의 적용, 조직 관통 비-외과적 상처를 통한 조성물의 적용 등에 의한 약제학적 조성물의 투여를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특히, 비경구 투여는 피하, 복강 내, 근육 내, 흉골 내, 정맥 내, 동맥 내, 척수강 내, 심실 내, 요도 내, 두개 내, 종양 내, 활막 내 주사 또는 주입; 및 신장 투석 주입 기술을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 조성물의 비경구 투여는 정맥 내 또는 동맥 내 투여를 포함한다.

[0723] 본 개시내용은 본 개시내용의 복수의 면역 세포, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0724] 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물의 제형은 전형적으로 일반적으로 멸균수 또는 멸균 등장 식염수와 같은 약제학적으로 허용 가능한 담체와 조합된 면역 세포를 포함한다. 이러한 제형은 일시 투여 또는 연속 투여에 적합한 형태로 제조, 포장 또는 판매될 수 있다. 주사용 제형은 앰플 또는 방부제를 함유하는 다중 용량 용기와 같은 단위 용량 형태로 제조, 포장 또는 판매될 수 있다. 비경구 투여용 제형은 유성 또는 수성 비히클 중의 에멀젼, 현탁액, 용액, 페이스트 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이러한 제형은 현탁제, 안정화제 또는 분산제를 포함하지만 이에 제한되지 않는 하나 이상의 추가 성분을 추가로 포함할 수 있다. 비경구 제형은 또한, 염, 탄수화물 및 완충제와 같은 부형제를 함유할 수 있는 수용액을 포함한다. 예시적인 비경구 투여 형태는 멸균 수용액, 예를 들어 수성 프로필렌 글리콜 또는 덱스트로스 용액 중의 용액 또는 현탁액을 포함한다. 이러한 제형은 필요에 따라 적합하게 완충될 수 있다. 비경구 투여용 제형은 즉시 및/또는 변형 방출되도록 제형화될 수 있다. 변형 방출 제형에는 지연, 지속, 펄스, 제어, 표적 및 프로그램 방출이 포함된다.

[0725] 일부 실시양태에서, 면역 세포를 포함하는 제형화된 조성물은 주사를 통한 투여에 적합하다. 일부 실시양태에서, 면역 세포를 포함하는 제형화된 조성물은 주입을 통한 투여에 적합하다.

[0726] 편리하게 단위 투여 형태로 제공될 수 있는 본 개시내용의 약제학적 조성물은 제약 산업에서 잘 알려진 통상적인 기술에 따라 제조될 수 있다. 이러한 기술은 약제학적 담체(들) 또는 부형제(들), 예를 들어 액체 담체와 면역 세포를 회합시키는 단계를 포함한다.

[0727] 수성 현탁액은 예를 들어 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 소르비톨 및/또는 덱스트란을 포함하는 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 추가로 함유할 수 있다. 현탁액에는 안정화제가 포함될 수도 있다.

[0728] 본 개시내용의 조성물은 약제학적 조성물에서 통상적으로 발견되는 다른 보조 성분을 추가로 함유할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 조성물은 예를 들어 항소양제, 수렴제, 국소 마취제 또는 항염증제와 같은 추가의 상용성 약제학적 활성 물질을 함유할 수 있거나, 염료, 방부제, 항산화제, 불투명화제, 증점제 및 안정화제와 같은 본 개시내용의 조성물의 다양한 투여 형태를 물리적으로 제형화하는데 유용한 추가 물질을 함유할 수 있다. 그러나 그러한 물질이 첨가될 때 본 개시내용의 조성물의 면역 세포의 생물학적 활성을 부당하게 방해하지 않아야 한다.

[0729] 제형 또는 조성물은 또한 면역 세포로 치료되는 특정 적응증, 질환 또는 병태에 유용한 하나 이상의 활성 성분을 함유할 수 있으며, 여기서 각각의 활성은 서로 불리하게 영향을 미치지 않는다. 이러한 활성 성분은 의도된 목적에 효과적인 양으로 적합하게 조합되어 존재한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 화학요법제와 같은 다른 약제학적 활성제 또는 약물을 추가로 포함한다.

[0730] 일부 양태에서 약제학적 조성물은 조성물의 전달이 치료될 부위의 민감화를 유발하기에 충분한 시간과 그 이전에 발생하도록 시간 방출, 지연 방출 및 지속 방출 전달 시스템을 사용할 수 있다. 많은 유형의 방출 전달 시스템이 사용 가능하고 알려졌다. 이러한 시스템은 조성물의 반복 투여를 피할 수 있어 대상체와 의사의 편의성을 높일 수 있다.

[0731] 투여는 치료 과정 전반에 걸쳐 지속적으로 또는 간헐적으로 1회 용량으로 수행될 수 있다. 단일 또는 다중 투여는 치료 의사에 의해 선택되는 용량 수준 및 패턴으로 수행될 수 있다.

[0732] 일부 실시양태에서 약제학적 조성물은 치료적 유효량 또는 예방적 유효량과 같이 암을 치료 또는 예방하는데 효과적인 양으로 면역 세포를 함유한다. 일부 실시양태에서 치료적 또는 예방적 효능은 치료 대상의 주기적인 평가에 의해 모니터링된다. 수일, 수주 또는 수개월에 걸친 반복 투여의 경우, 상태에 따라 원하는 암 징후 또는

증상 억제가 발생할 때까지 치료를 반복할 수 있다. 그러나 다른 투여 요법이 유용할 수 있고 결정될 수 있다. 원하는 투여량은 조성물의 단일 일시 투여 또는 주입에 의해 또는 조성물의 다중 일시 투여 또는 주입에 의해 전달될 수 있다.

[0733] 세포 또는 세포 집단은 1회 이상의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 유효량의 세포가 단일 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 유효량의 세포가 일정 기간에 걸쳐 1회 초과 용량으로 투여될 수 있다. 투여 시기는 주치의의 판단 범위 내에 있으며 환자의 임상 상태에 따라 다르다.

[0734] 세포 또는 세포 집단은 혈액은행, 공여자 또는 환자 자신과 같은 임의의 공급원으로부터 수득할 수 있다.

[0735] 유효량은 치료적 또는 예방적 이점을 제공하는 양을 의미한다. 투여되는 투여량은 수용자의 연령, 건강 및 체중, 동시 치료가 있는 경우 그 종류, 치료 빈도 및 원하는 효과의 특성에 따라 달라질 것이다. 일부 실시양태에서, 유효량의 세포 또는 이들 세포를 포함하는 조성물은 비경구적으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 투여는 정맥 내 투여일 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여는 종양 내 주사에 의해 직접 수행될 수 있다.

[0736] 본 개시내용의 목적을 위해, 예를 들어, 각각 상이한 용량의 수용체를 발현하는 면역 세포가 제공된 일련의 포유동물 중에서, 상기 면역 세포의 주어진 용량을 포유동물에게 투여 시 상기 면역 세포에 의해 표적 세포가 용해되는 정도 또는 하나 이상의 사이토카인이 분비되는 정도를 비교하는 것을 포함하는 검정은 포유동물에게 투여될 시작 용량을 결정하는 데 사용될 수 있다.

[0737] 일부 실시양태에서, 세포는 항체 또는 조작된 세포 또는 수용체 또는 제제, 예를 들어 세포독성 제제 또는 치료제와 임의의 순서로 동시에 또는 순차적으로 조합 치료의 일부로서 투여된다. 일부 실시양태에서 본 개시내용의 면역 세포는 하나 이상의 추가 치료제와 함께 또는 다른 치료적 개입과 관련하여 임의의 순서로 동시에 또는 순차적으로 공동-투여된다. 일부 상황에서, 면역 세포는 면역 세포 집단이 하나 이상의 추가 치료제의 효과를 향상시키거나 그 반대가 되도록 시간상으로 충분히 가까운 또 다른 치료법과 공동 투여된다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 하나 이상의 추가 치료제 전에 투여된다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 하나 이상의 추가 치료제 이후에 투여된다.

[0738] 실시양태에서, 림프구 고갈 화학요법은 입양 면역 세포의 투여(예를 들어, 주입) 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다. 예에서, 림프구 고갈 화학요법은 면역 세포의 투여 전에 대상체에게 투여된다. 예를 들어, 림프구 고갈 화학요법은 입양 세포 주입 전 1-4일(예를 들어, 1, 2, 3 또는 4일)에 종료된다. 실시양태에서, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이, 입양 세포의 다중 용량이 투여된다. 실시양태에서, 림프구 고갈 화학요법은 본원에 기재된 면역 세포의 투여(예를 들어, 주입) 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다. 림프구 고갈의 예는 비골수 림프구 고갈 화학 요법, 골수 파괴 림프구 고갈 화학 요법, 전신 방사선 조사 등을 포함하지만 이에 국한되지 않을 수 있다. 림프구 고갈제의 예는 항흉선 세포 글로불린, 항-CD3 항체, 항-CD4 항체, 항-CD8 항체, 항-CD52 항체, 항-CD2 항체, TCRαβ 차단제, 항-CD20 항체, 항-CD19 항체, 보르테조밉, 리툭시맙, 항-CD 154 항체, 라파마이신, CD3 면역독소, 플루다라빈, 시클로포스파미드, 부설판, 멜팔란, 마브테라, 타크로리무스, 알레파셉트, 알렘투주맙, OKT3, OKT4, OKT8, OKT11, 핑골리모드, 항-CD40 항체, 항-BR3 항체, 캄파트-1H, 항-CD25 항체, 칼시뉴린 억제제, 마이코페놀레이트, 및 스테로이드를 포함하지만, 이에 제한되지 않고, 이는 단독으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 추가의 예로서, 림프구 고갈 요법은 알렘투주맙, 시클로포스파미드, 벤두아무스틴, 리툭시맙, 펜토스타틴 및/또는 플루다라빈의 투여를 포함할 수 있다. 림프구 고갈 요법은 감소된 순환 면역 세포의 원하는 결과가 나올 때까지 하나 이상의 주기로 시행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 림프구 고갈은 대상체에서 CD52+ 세포를 특이적으로 표적화하고 감소 또는 제거하는 작용제를 투여하는 것을 포함하며, 면역 세포는 CD52 발현을 감소 또는 제거하도록 변형된다.

[0739] 일부 실시양태에서, 면역 자극 요법은 입양 면역 세포 투여(예를 들어, 주입) 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 면역 자극 요법은 항상성 사이토카인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 자극 요법은 면역 자극 분자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 자극 요법은 IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IL-9, 또는 이의 기능적 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 자극 요법은 IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IL-9, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 자극 요법은 IL-2, 또는 이의 기능적 단편을 포함한다.

[0740] 자가유래 세포를 사용하는 입양 세포 치료 방법은 환자 혈액으로부터 면역 세포를 단리하는 단계, 본원에 기술된 이중 수용체 시스템을 암호화하는 하나 이상의 벡터로 세포를 형질도입하는 단계를 포함하는 단리된 세포에 일련의 변형을 수행하는 단계, 및 세포를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 암 또는 혈액학적 악성종양을 앓

고 있거나 위험에 처한 대상체로부터 면역 세포를 제공하는 단계는 환자의 혈액으로부터 면역 세포를 분리하는 단계가 필요하고, 예를 들어, 백혈구 성분채집술에 의해 당업계에 공지된 방법을 통해 달성될 수 있다. 백혈구 성분채집술 동안, 대상체로부터 혈액을 추출하고 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 분리하고 나머지 혈액은 대상체의 순환계로 복귀시킨다. PBMC는 면역 세포의 샘플로서 동결 또는 동결보존되어 저장되며 예를 들어 본원에 기재된 변형과 같은 추가 처리 단계를 위해 제공된다.

[0741] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 대상체를 치료하는 방법은 농축 및/또는 고갈, 활성화, 유전적 변형, 확장, 제형화 및 동결보존을 포함하는 일련의 변형을 포함하는 대상체로부터의 면역 세포에 대한 변형을 포함한다.

[0742] 본 개시내용은 다운스트림 절차, 예를 들어 본원에 기재된 변형을 위한 대상체 PBMC의 제조를 위해 당업계에 공지된 세척 및 분별 방법일 수 있는 농축 및/또는 고갈 단계를 제공한다. 예를 들어, 제한 없이, 방법은 전체 적혈구 및 혈소판 오염물을 제거하는 장치, 단핵구 고갈 및 림프구 분리를 위한 크기 기반 세포 분획 시스템, 및/또는, 예를 들어 CD4+, CD8+, CD25+, 또는 CD62L+ T 세포와 같은 특정 T 세포 서브세트의 농축을 허용하는 시스템을 포함할 수 있다. 농축 단계 후, 면역 세포의 표적 하위 집단이 추가 처리를 위해 대상체 PMBC로부터 단리된다. 당업자는 본원에 제공된 농축 단계가 또한 임의의 새롭게 발견된 방법, 장치, 시약 또는 이들의 조합을 포함할 수 있음을 이해할 것이다.

[0743] 본 개시내용은 생체 외 확장에 필요한 면역 세포, 예를 들어 T 세포의 활성화를 유도하기 위해 당업계에 공지된 임의의 방법일 수 있는 활성화 단계를 제공한다. 예를 들어, 수지상 세포의 존재 하에 대상 면역 세포를 배양하거나, 인공 항원-제시 세포(AAPC)의 존재 하에 대상 면역 세포를 배양하거나, 조사된 K562-유래 AAPC의 존재 하에 면역 세포를 배양하여 면역 세포 활성화를 달성할 수 있다. 대상 면역 세포를 활성화하기 위한 다른 방법은 예를 들어, 단리된 활성화 인자 및 조성물, 예를 들어 활성화 인자로 기능화된 비드, 표면, 또는 입자의 존재 하에 면역 세포를 배양하는 것일 수 있다. 활성화 인자는 예를 들어, 항체, 예를 들어 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체를 포함할 수 있다. 활성화 인자는 또한 예를 들어, 사이토카인, 예를 들어 인터루킨(IL)-2 또는 IL-21일 수 있다. 활성화 인자는 예를 들어, CD40, CD40L, CD70, CD80, CD83, CD86, CD137L, ICOSL, GITRL, 및 CD134L과 같은 공동자극 분자일 수 있다. 당업자는 본원에 제공된 활성화 인자가 또한 면역 세포를 활성화할 수 있는 임의의 새롭게 발견된 활성화 인자, 시약, 조성물 또는 이들의 조합을 포함할 수 있음을 이해할 것이다.

[0744] 본 개시내용은 대상 면역 세포를 변형시키기 위한 유전적 변형 단계를 제공한다. 일부 실시양태에서, 유전적 변형은 B2M 또는 HLA-A에 상보적인 본원에 기재된 shRNA를 포함하는 벡터로 면역 세포를 형질도입하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유전적 변형은 CRISPR/Cas 매개 게놈 공학을 사용하여 B2M 또는 HLA-A에서 돌연변이를 유도하기 위해 면역 세포의 게놈을 변형하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 활성화제 및 억제 수용체를 암호화하는 하나 이상의 벡터로 면역 세포를 형질도입함으로써, 활성화제 및 억제 수용체를 발현하는 면역 세포를 생산하는 단계를 포함한다.

[0745] 본 개시내용은 유전적으로 변형된 대상 면역 세포에 대해 확장 단계를 제공한다. 유전적으로 변형된 대상 면역 세포는 투여를 위한 치료 용량의 면역 세포를 생성하기 위해 당업계에 공지된 임의의 면역 세포 확장 시스템에서 확장될 수 있다. 예를 들어, 컨트롤러 펌프와 자동 공급 및 폐기물 제거를 허용하는 프로브를 포함하는 시스템에서 사용하기 위한 생물반응기 백을 면역 세포 확장에 사용할 수 있다. 바닥에 기체 투과성 막이 있는 세포 배양 플라스크는 면역 세포 확장에 사용할 수 있다. 임상적 사용을 위한 면역 세포의 확장을 가능하게 하는 당해 분야에 공지된 임의의 이러한 시스템은 본원에 제공된 확장 단계에 포함된다. 면역 세포는 확장을 위해 특별히 제조된 배지의 배양 시스템에서 확장된다. 확장은 또한 본원에 기술된 바와 같은 활성화 인자의 존재 하에 개시내용의 면역 세포를 배양함으로써 촉진될 수 있다. 당업자는 본원에 제공된 확장 단계가 또한 면역 세포를 확장시키는 데 사용될 수 있는 임의의 새롭게 발견된 배양 시스템, 배지 또는 활성화 인자를 포함할 수 있음을 이해할 것이다.

[0746] 본 개시내용은 확장된 유전적으로 변형된 대상 면역 세포에 대한 제형 및 동결보존 단계를 제공한다. 제공된 제형화 단계는 예를 들어 본원에 기술된 치료 방법의 면역 세포의 준비 및 확장에 사용된 과잉 성분을 씻어내는 것을 포함한다. 당업계에 공지된 면역 세포와 호환되는 임의의 약제학적으로 허용 가능한 제형 배지 또는 세척 완충액을 사용하여 면역 세포를 세척, 희석/농축하고 투여 용량을 준비할 수 있다. 제형 배지는 예를 들어 정맥내 주입을 위한 결정질 용액과 같이 면역 세포의 투여에 허용될 수 있다. 동결 보존은 선택적으로 면역 세포를 장기간 보관하는 데 사용할 수 있다. 동결 보존은 예를 들어 동결 보존 성분을 함유하는 동결 보존 배지에 세포를 저장하는 것을 포함하는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 달성될 수 있다. 동결 보존 성분은 예를 들어 디메틸 설폭사이드 또는 글리세롤을 포함할 수 있다. 동결보존 배지에 보관된 면역세포는 보관 온도를 -80℃ 내지

-196℃로 낮추어 동결보존 가능하다.

[0747] 일부 실시양태에서, 치료 방법은 대상체의 HLA 생식계열 유형을 결정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, HLA 생식계열 유형은 골수에서 결정된다.

[0748] 일부 실시양태에서, 치료 방법은 MSLN의 발현 수준을 결정하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, MSLN의 발현 수준은 대상체로부터의 종양 조직 샘플에서 결정된다. 일부 실시양태에서, MSLN의 발현 수준은 차세대 시퀀싱을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, MSLN의 발현 수준은 RNA 시퀀싱을 사용하여 결정된다. 일부 실시양태에서, MSLN의 수준은 면역조직화학을 사용하여 결정된다.

[0749] 일부 실시양태에서, 치료 방법은 이를 필요로 하는 대상체에 HLA-A*02 억제 수용체를 포함하는 치료적 유효량의 면역 세포를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 대상체는 HLA 생식계열 HLA-A*02 이형접합성이고 HLA-A*02가 소실된 암 세포를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시양태에서, 치료 방법은 이를 필요로 하는 대상체에 HLA-A*01 억제 수용체를 포함하는 치료적 유효량의 면역 세포를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 대상체는 HLA 생식계열 HLA-A*01 이형접합성이고 HLA-A*01이 소실된 암 세포를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시양태에서, 치료 방법은 이를 필요로 하는 대상체에 HLA-A*03을 포함하는 치료적 유효량의 면역 세포를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 대상체는 HLA 생식계열 HLA-A*03 이형접합성이고 HLA-A*03이 소실된 암 세포를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시양태에서, 치료 방법은 이를 필요로 하는 대상체에 HLA-A*07 억제 수용체를 포함하는 치료적 유효량의 면역 세포를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 대상체는 HLA 생식계열 HLA-A*07 이형접합성이고 HLA-A*07이 소실된 암 세포를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시양태에서, 치료 방법은 이를 필요로 하는 대상체에 HLA-C*07 억제 수용체를 포함하는 치료적 유효량의 면역 세포를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 대상체는 HLA 생식계열 HLA-C*07 이형접합성이고 HLA-C*07이 소실된 암 세포를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시양태에서, 치료 방법은 이를 필요로 하는 대상체에 HLA-B*07 억제 수용체를 포함하는 치료적 유효량의 면역 세포를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 대상체는 HLA 생식계열 HLA-B*07 이형접합성이고 HLA-B*07이 소실된 암 세포를 갖는 것으로 결정된다.

[0750] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 MSLN를 발현하고 HLA-A*02 발현을 상실한 악성종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*02 환자의 치료 방법; 및/또는 MSLN를 발현하고 HLA-A*02 발현을 상실한 재발성 절제 불가능 또는 전이성 고형 종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*02 성인 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0751] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 MSLN를 발현하고 HLA-A*03 발현을 상실한 악성종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*03 환자의 치료 방법; 및/또는 MSLN를 발현하고 HLA-A*03 발현을 상실한 재발성 절제 불가능 또는 전이성 고형 종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*03 성인 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0752] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 면역 세포의 치료적 유효 용량이 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 면역 세포는 정맥 내 주사에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 면역 세포는 복강 내 주사에 의해 투여된다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^6$ 세포, 약 $1X10^6$ 세포, 약 $2X10^6$ 세포, 약 $3X10^6$ 세포, $4X10^6$ 세포, 약 $5X10^6$ 세포, 약 $6X10^6$ 세포, 약 $7X10^6$ 세포, 약 $8X10^6$ 세포, 약 $9X10^6$ 세포, 약 $1X10^7$, 약 $2X10^7$, 약 $3X10^7$, 약 $4X10^7$, 약 $5X10^7$, 약 $6X10^7$, 약 $7X10^7$, 약 $8X10^7$, 약 $9X10^7$, 약 $1X10^8$ 세포, 약 $2X10^8$ 세포, 약 $3X10^8$ 세포, 약 $4X10^8$ 세포, 약 $5X10^8$ 세포, 약 $6X10^8$ 세포, 약 $7X10^8$ 세포, 약 $8X10^8$ 세포, 약 $9X10^8$ 세포, 약 $1X10^9$ 세포, 약 $2X10^9$ 세포, 약 $3X10^9$ 세포, 약 $3X10^9$ 세포, 약 $4X10^9$ 세포, 약 $5X10^9$ 세포, 약 $5X10^9$ 세포, 약 $6X10^9$ 세포, 약 $7X10^9$ 세포, 약 $8X10^9$ 세포, 약 $9X10^9$ 세포, 약 $1X10^{10}$ 세포, 약 $2X10^{10}$ 세포, 약 $3X10^{10}$ 세포, 약 $4X10^{10}$ 세포, 약 $5X10^{10}$ 세포, 약 $6X10^{10}$ 세포, 약 $7X10^{10}$ 세포, 약 $8X10^{10}$ 세포, 또는 약 $9X10^{10}$ 세포를 포함한다.

[0753] 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^6$ 세포 내지 약 $9X10^{10}$ 세포, 약 $1X10^6$ 세포 내지 약 $5X10^{10}$ 세포, 약 $2X10^6$ 세포 내지 약 $5X10^9$ 세포, 약 $3X10^6$ 세포 내지 약 $5X10^9$ 세포, 약 $4X10^6$ 세포 내지 약 $3X10^9$ 세포, 약 $5X10^6$ 세포 내지 약 $2X10^9$ 세포, 약 $6X10^6$ 세포 내지 약 $1X10^9$ 세포, $0.5X10^6$ 세포 내지 약 $6X10^9$ 세포, 약 $1X10^6$ 세포 내지 약 $5X10^9$ 세포, 약 $2X10^6$ 세포 내지 약 $5X10^9$ 세포, 약 $3X10^6$ 세포 내지 약 $4X10^9$ 세포, 약 $4X10^6$ 세포 내지 약 $3X10^9$ 세포, 약 $5X10^6$ 세포 내지 약 $2X10^9$ 세포, 약 $6X10^6$ 세포 내지 약 $1X10^9$ 세포, $0.5X10^6$ 세포 내지 약 $6X10^8$ 세포, 약 $1X10^6$ 세포 내지 약 $5X10^8$ 세포, 약 $2X10^6$ 세포 내지 약 $5X10^8$ 세포, 약 $3X10^6$ 세포 내지 약 $4X10^8$ 세포, 약 $4X10^6$ 세포 내지 약 $3X10^8$ 세포, 약 $5X10^6$ 세포 내지 약 $2X10^8$ 세포, 약 $6X10^6$ 세포 내지 약 $1X10^8$ 세포, 약 $7X10^6$ 세포 내지 약 $9X10^8$ 세포, 약 $8X10^6$ 세포 내지 약 $8X10^8$ 세포, 약 $9X10^6$ 세포 내지 약 $7X10^8$ 세포, 약 $1X10^7$ 세포 내지 약 $6X10^8$ 세포, 약 $2X10^7$ 세포 내지 약 $5X10^8$ 세포, 약 $7X10^6$ 세포 내지 약 $9X10^7$ 세포, 약 $8X10^6$ 세포 내지 약 $8X10^7$ 세포, 약 $9X10^6$ 세포 내지 약 $7X10^7$ 세포, 약 $1X10^7$ 세포 내지 약 $6X10^7$ 세포, 또는 약 $2X10^7$ 세포 내지 약 $5X10^7$ 세포를 포함한다.

[0754] 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^5$ 세포 내지 약 $9X10^{10}$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^6$ 세포 내지 약 $1X10^{10}$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^6$ 세포 내지 약 $5X10^9$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^6$ 세포 내지 약 $1X10^9$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^6$ 세포 내지 약 $6X10^8$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^6$ 세포 내지 약 $9X10^{10}$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^7$ 세포 내지 약 $1X10^{10}$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^7$ 세포 내지 약 $5X10^9$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^7$ 세포 내지 약 $1X10^9$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^7$ 세포 내지 약 $6X10^8$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^8$ 세포 내지 약 $9X10^{10}$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^8$ 세포 내지 약 $1X10^{10}$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^8$ 세포 내지 약 $5X10^9$ 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효 용량은 약 $0.5X10^8$ 세포 내지 약 $1X10^9$ 세포를 포함한다. 치료 용량에서 언급되는 용어 "약"은 예를 들어, ± $0.5X10^6$ 세포, ± $0.5X10^7$ 세포, 또는 ± $0.5X10^8$ 세포일 수 있다.

[0755] ***키트 및 제조품***

[0756] 본 개시내용은 본원에 기재된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 및 벡터, 및 본원에 기재된 수용체를 포함하는 면역 세포를 포함하는 키트 및 제조품을 제공한다. 일부 실시양태에서, 키트는 바이알, 주사기 및 사용 설명서와 같은 물품을 포함한다.

[0757] 일부 실시양태에서, 키트는 본 개시내용의 하나 이상의 수용체를 암호화하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함한다.

[0758] 일부 실시양태에서, 키트는 본원에 기재된 바와 같은 제1 및 제2 수용체를 포함하는 복수의 면역 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복수의 면역 세포는 복수의 T 세포를 포함한다.

[0759] 일부 실시양태에서, 키트는 사용 설명서를 추가로 포함한다.

[0760] **열거된 실시양태**

[0761] 본 개시내용은 다음의 예시적인, 열거된 실시양태를 참조하여 이해될 수 있다:

[0762] ***실시양태 세트 I***

[0763] I-1. 암 세포에서 이형접합성의 소실에 반응하는 면역 세포로서, 다음을 포함하는 면역 세포:

[0764] a. i. 암세포 특이적 항원, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원; 또는

[0765] ii. 메소텔린(MSLN), 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원

[0766] 으로부터 선택된 표적 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 수용체, 선택적으로 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 T 세포 수용체(TCR); 및

[0767] b. ICAM1, COMT 및 CXCL16으로부터 선택된 비-표적 항원, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체로서 비-표적 항원은 다형성을 포함하는, 제2 수용체, 선택적으로 억제성 키메라 항원 수용체.

[0768] I-2. 실시양태 I-1에 있어서, 비-표적 항원은 이형접합성의 소실(LOH)을 통해 암 세포로부터 소실되는, 면역 세포.

[0769] I-3. 실시양태 I-1 또는 I-2에 있어서, 비-표적 항원은 서열번호: 27과 적어도 95% 동일성을 공유하는 ICAM1 항원이고 다형성은 서열번호: 27의 위치 469에 K 또는 E를 포함하는, 면역 세포.

[0770] 4. 실시양태 I-1 또는 I-2에 있어서, 비-표적 항원은 서열번호: 28과 적어도 95% 동일성을 공유하는 COMT 항원이고 다형성은 서열번호: 28의 위치 158에 V 또는 M을 포함하는, 면역 세포.

[0771] 5. 실시양태 I-1 또는 I-2에 있어서, 비-표적 항원은 서열번호: 29와 적어도 95% 동일성을 공유하는 CXCL16 항원이고 다형성은

[0772] a. 서열번호: 29의 위치 142에서의 I 또는 T; 및

[0773] b. 서열번호: 29의 위치 200에서의 A 또는 V로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 세포.

[0774] 6. 실시양태 I-1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 비-표적 항원은 비-표적 세포에서 발현되는, 면역 세포.

[0775] 7. 실시양태 I-1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 비-표적 세포는 표적 항원 및 비-표적 항원 둘 모두를 발현하는, 면역 세포.

[0776] 8. 암 세포에서 단백질의 낮거나 없는 발현에 반응하는 면역 세포로서, 다음을 포함하는 면역 세포.

[0777] a. i. 암세포 특이적 항원, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원; 또는

[0778] ii. MSLN, 또는 주요 조직적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원

[0779] 으로부터 선택된 표적 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 수용체, 선택적으로 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 T 세포 수용체(TCR); 및

[0780] b. LRRN4 및 UPK3B로부터 선택된 비-표적 항원, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체로서 비-표적 항원은 비-표적 세포보다 암 세포에 의해 더 낮은 수준으로 발현되는, 제2 수용체, 선택적으로 억제성 키메라 항원 수용체.

[0781] 9. 실시양태 I-8에 있어서, 비-표적 항원은 암 세포에 의해 발현되지 않는, 면역 세포.

[0782] 10. 실시양태 I-9에 있어서, 비-표적 세포는 표적 항원 및 비-표적 항원 둘 모두를 발현하는, 면역 세포.

[0783] 11. 실시양태 I-1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 표적 항원은 암세포 특이적 항원인, 면역 세포.

[0784] 12. 실시양태 I-11에 있어서, 표적 항원은 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 암세포 특이적 항원의 펩티드 항원인, 면역 세포.

[0785] 13. 실시양태 I-1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 암 세포는 중피종암 세포, 난소암 세포, 자궁경부암 세포, 결장직장암 세포, 식도암 세포, 두경부암 세포, 신장암 세포, 자궁암 세포, 위암 세포, 췌장암 세포, 폐암 세포, 결장직장암 세포 또는 담관암종 세포인, 면역 세포.

[0786] 14. 실시양태 I-1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 암 세포는 MSLN을 발현하는, 면역 세포.

[0787] 15. 실시양태 I-1-14 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 암 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키는, 면역 세포.

[0788] 16. 실시양태 I-15에 있어서, 면역 세포는 T 세포인, 면역 세포.

[0789] 17. 실시양태 I-16에 있어서, T 세포는 CD8+ CD4- T 세포인, 면역 세포.

[0790] 18. 실시양태 I-1-17 중 어느 하나에 있어서, MSLN은 서열번호: 1 또는 서열번호: 2와 적어도 95% 동일성을 공유하는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0791] 19. 실시양태 I-1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체는 T 세포 수용체(TCR)인, 면역 세포.

[0792] 20. 실시양태 I-1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)인, 면역 세포.

[0793] 21. 실시양태 I-19 또는 I-20에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 항체 단편, 단일 사슬 Fv 항체 단편(scFv), β 사슬 가변 도메인(Vβ), 또는 TCR α 사슬 가변 도메인 및 TCR β 사슬 가변 도메인을 포함하는, 면역 세포.

[0794] 22. 실시양태 I-19 또는 I-20에 있어서, 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv를 포함하는, 면역 세포.

[0795] 23. 실시양태 I-22에 있어서, scFv는 서열번호: 3-6으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0796] 24. 실시양태 I-22에 있어서, scFv는 서열번호: 3-6으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어지는, 면역 세포.

[0797] 25. 암 세포에서 이형접합성의 소실에 반응하는 면역 세포로서, 다음을 포함하는 면역 세포:

[0798] a. 메소텔린(MSLN), 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 수용체, 선택적으로 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 T 세포 수용체(TCR); 및

[0799] b. 비-표적 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체로서 비-표적 항원은 HLA-A*02를 포함하는, 제2 수용체, 선택적으로 억제성 키메라 항원 수용체.

[0800] 26. 실시양태 I-25에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 항체 단편, 단일 사슬 Fv 항체 단편(scFv), β 사슬 가변 도메인(Vβ), 또는 TCR α 사슬 가변 도메인 및 TCR β 사슬 가변 도메인을 포함하는, 면역 세포.

[0801] 27. 실시양태 I-25에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv를 포함하는, 면역 세포.

[0802] 28. 실시양태 I-27에 있어서, scFv는 서열번호: 3-6으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0803] 28. 실시양태 I-27에 있어서, scFv는 서열번호: 3-6으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어지는, 면역 세포.

[0804] 29. 실시양태 I-25 내지 28 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 항체 단편, 단일 사슬 Fv 항체 단편(scFv), β 사슬 가변 도메인(Vβ), 또는 TCR α 사슬 가변 도메인 및 TCR β 사슬 가변 도메인을 포함하는, 면역 세포.

[0805] 30. 실시양태 I-25 내지 28 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 scFv를 포함하는, 면역 세포.

[0806] 31. 실시양태 I-30에 있어서, scFv는 서열번호: 30-41 중 어느 하나와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0807] 32. 실시양태 I-30에 있어서, scFv는 서열번호: 30-41 중 어느 하나의 서열을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어지는, 면역 세포.

[0808] 33. 실시양태 I-25 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 42-53으로 이루어진 군으로부터 선택된 CDR을 포함하는, 면역 세포.

[0809] 34. 실시양태 I-25 내지 33 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

[0810] 35. 실시양태 34에 있어서, LILRB1 세포내 도메인은 서열번호: 65와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0811] 36. 실시양태 I-25 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

[0812] 37. 실시양태 I-36에 있어서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 74와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0813] 38. 실시양태 I-25 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함하는, 면역 세포.

[0814] 39. 실시양태 I-38에 있어서, LILRB1 힌지 도메인은 서열번호: 73, 서열번호: 66, 서열번호: 67, 서열번호: 81-84와 또는 서열번호: 90-91과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0815] 40. 실시양태 I-25 내지 39 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인, 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

[0816] 41. 실시양태 I-40에 있어서, LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인은 서열번호: 69 또는 서열번호: 69와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0817] 42. 실시양태 I-25 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 암 세포는 중피종암 세포, 난소암 세포, 자궁경부암 세포, 결장직장암 세포, 식도암 세포, 두경부암 세포, 신장암 세포, 자궁암 세포, 위암 세포, 췌장암 세포, 폐암 세포, 결장직장암 세포 또는 담관암종 세포인, 면역 세포.

[0818] 43. 상기 암 세포는 결장직장암 세포이다.

[0819] 44. 실시양태 I-25 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 암은 MSLN을 발현하는, 면역 세포.

[0820] 45. 실시양태 I-25 내지 44 중 어느 하나에 있어서, 암 세포는 HLA-A*02를 발현하지 않는, 면역 세포.

[0821] 46. 실시양태 I-25 내지 45 중 어느 하나에 있어서, 비-표적 세포는 MSLN 및 HLA-A*02를 발현하는, 면역 세포.

[0822] 47. 실시양태 I-25 내지 46 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 표적 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키는, 면역 세포.

[0823] 48. 실시양태 I-47에 있어서, 면역 세포는 T 세포인, 면역 세포.

[0824] 49. 실시양태 I-48에 있어서, T 세포는 CD8+ CD4- T 세포인, 면역 세포.

[0825] 50. 실시양태 I-25 내지 49 중 어느 하나에 있어서, MSLN은 서열번호: 1과 적어도 95% 동일성을 공유하는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0826] 51. 실시양태 I-25 내지 50 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 TCR인, 면역 세포.

[0827] 52. 치료적 유효량의 실시양태 I-1 내지 51 중 어느 하나의 면역 세포를 포함하는, 약제학적 조성물.

[0828] 53. 실시양태 I-52에 있어서, 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

[0829] 54. 실시양태 I-52 또는 I-53에 있어서, 암 치료에서 약제로서 사용하기 위한, 약제학적 조성물.

[0830] 55. 다음을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 시스템:

[0831] a. i. 암세포 특이적 항원, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원; 또는

[0832] ii. MSLN, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원

[0833] 으로부터 선택된 표적 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 수용체, 선택적으로 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 T 세포 수용체(TCR); 및

[0834] b. ICAM1, COMT 및 CXCL16로부터 선택된 비-표적 항원, 또는 주요 조직 적합 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체로서 비-표적 항원은 다형성을 포함하는, 2 수용체, 선택적으로 억제성 키메라 항원 수용체.

[0835] 56. 다음을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 시스템:

[0836] a. i. 암세포 특이적 항원, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원; 또는

[0837] ii. MSLN, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원

[0838] 으로부터 선택된 표적 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 수용체, 선택적으로 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 T 세포 수용체(TCR); 및

[0839] b. LRRN4 및 UPK3B로부터 선택된 비-표적 항원, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체로서 비-표적 항원은 비-표적 세포보다 암 세포에 의해 더 낮은 수준으로 발현되는, 제2 수용체, 선택적으로 억제성 키메라 항원 수용체.

[0840] 57. 다음을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 시스템:

[0841] a. MSLN, 또는 주요 조직 적합성 복합체 클래스 I(MHC-I)과 복합체를 이루는 이의 펩티드 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 수용체, 선택적으로 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 T 세포 수용체(TCR); 및

[0842] b. 비-표적 항원에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체로서 비-표적 항원은 HLA-A*02를 포함하는, 제2 수용체, 선택적으로 억제성 키메라 항원 수용체.

[0843] 58. 실시양태 I-55 내지 57 중 어느 하나의 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 벡터.

[0844] 59. 대상체에서 복수의 암세포를 사멸시키고/시키거나 암을 치료하는 방법으로서, 대상체에게 유효량의 실시양태 I-1 내지 51 중 어느 하나의 면역 세포 또는 실시양태 I-52 내지 54 중 어느 하나의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0845] 60. 실시양태 I-59에 있어서, 복수의 암세포는 표적 항원을 발현하는, 방법.

[0846] 61. 실시양태 I-59 또는 I-60에 있어서, 복수의 암세포는 비-표적 항원을 발현하지 않는, 방법.

[0847] 62. 복수의 면역 세포를 제조하는 방법으로서,

[0848] a. 복수의 면역 세포를 제공하는 단계, 및

[0849] b. 상기 복수의 면역 세포를 실시양태 I-55 내지 57 중 어느 하나의 폴리뉴클레오티드 시스템 또는 실시양태 I-58의 벡터로 형질전환시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0850] 63. 실시양태 I-1내지 51 중 어느 하나의 면역 세포 또는 실시양태 I-52 내지 54 중 어느 하나의 약제학적 조성물을 포함하는, 키트.

[0851] 62. 실시양태 I-63에 있어서, 사용 설명서를 추가로 포함하는, 키트.

[0852] ***실시양태 세트 II***

[0853] 1. 면역 세포로서,

[0854] (a) 메소텔린(MSLN)에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 수용체; 및

[0855] (b) HLA-A*03에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체

[0856] 를 포함하며,

[0857] 상기 제1 수용체는 MSLN에 반응하는 활성화제 수용체이고; 상기 제2 수용체는 HLA-A*03에 반응하는 억제 수용체인, 면역 세포.

[0858] 2. 실시양태 II-1에 있어서, HLA-A*03은 이형접합성의 소실을 통해 MSLN+ 암 세포에서 소실된, 면역 세포.

[0859] 3. 실시양태 II-1 또는 2에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 6에 개시된 바와 같은 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 6 또는 표 7의 CDR에 대해 최대 1, 2, 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0860] 4. 실시양태 II-1 또는 2에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 (i) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 693; (ii) 서열번호: 638, 645, 650, 658, 677, 및 694; (iii) 서열번호: 638, 645, 650, 659, 678, 및 695; (iv) 서열번호: 638, 645, 650, 660, 678, 및 696; (v) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 697; (vi) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 698; (vii) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 699; (viii) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 700; (ix) 서열번호: 638, 645, 650, 662, 680, 및 701; (x) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 702; (xi) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 703; (xii) 서열번호: 640, 647, 652, 657, 676, 및 704; (xiii) 서열번호: 641, 648, 653, 663, 681, 및 705; (xiv) 서열번호: 638, 645, 650, 664, 682, 및 706; 또는 (xv) 서열번호: 1260-1265의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 (i) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 693; (ii) 서열번호: 638, 645, 650, 658, 677, 및 694; (iii) 서열번호: 638, 645, 650, 659, 678, 및 695; (iv) 서열번호: 638, 645, 650, 660, 678, 및 696; (v) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 697; (vi) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 698; (vii) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 699; (viii) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 700; (ix) 서열번호: 638, 645, 650, 662, 680, 및 701; (x) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 702; (xi) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 703; (xii) 서열번호: 640, 647, 652, 657, 676, 및 704; (xiii) 서열번호: 641, 648, 653, 663, 681, 및 705; (xiv) 서열번호: 638, 645, 650, 664, 682, 및 706; 또는 (xv) 서열번호: 1260-1265의 CDR에 대해 최대 1, 2, 또는 3개의 치환, 결실, 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0861] 5. 실시양태 II-1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 (i) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 693; (ii) 서열번호: 638, 645, 650, 658, 677, 및 694; (iii) 서열번호: 638, 645, 650, 659, 678, 및 695; (iv) 서열번호: 638, 645, 650, 660, 678, 및 696; (v) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 697; (vi) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 698; (vii) 서열번호: 638, 645, 650, 657, 676, 및 699; (viii) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 700; (ix) 서열번호: 638, 645, 650, 662, 680, 및 701; (x) 서열번호: 639, 646, 651, 657, 676, 및 702; (xi) 서열번호: 638, 645, 650, 661, 679, 및 703; (xii) 서열번호: 640, 647, 652, 657, 676, 및 704; (xiii) 서열번호: 641, 648, 653, 663, 681, 및 705; 또는 (xiv) 서열번호: 638, 645, 650, 664, 682, 및 706의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3을 포함하는, 면역 세포.

[0862] 6. 실시양태 II-1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 1260-1265의 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3을 포함하는, 면역 세포.

[0863] 7. 실시양태 II-1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 5에 개시된 폴리펩티드 서열; 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열로부터 선택된 폴리펩티드 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0864] 8. 실시양태 II-1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 615-628 또는 서열번호: 1259, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열 중 어느 하나를 포함하는, 면역 세포.

[0865] 9. 실시양태 II-1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 615-628 중 어느 하나를 포함하는, 면역 세포.

[0866] 10. 실시양태 II-1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체의 세포외 리간 결합 도메인은 서열번호: 1259를 포함하는, 면역 세포.

[0867] 11. 실시양태 II-1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)인, 면역 세포.

[0868] 12. 실시양태 II-1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 2에 개시된 바와 같은 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3; 또는 표 2의 CDR에 대해 최대 1, 2 또는 3개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 CDR 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0869] 13. 실시양태 II 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 표 3에 제시된 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 부분 및 표 4에 제시된 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 부분; 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0870] 14. 실시양태 II-1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 233 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 가변 중쇄(VH) 부분, 및 서열번호: 279 또는 이와 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 가변 경쇄(VL) 부분을 포함하는, 면역 세포.

[0871] 15. 실시양태 II-1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 3-6, 80 및 154-215로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0872] 16. 실시양태 II-1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체의 세포외 리간드 결합 도메인은 서열번호: 171의 scFv 서열; 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0873] 17. 실시양태 II-1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체는 힌지 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 포함하는, 면역 세포.

[0874] 18. 실시양태 II-17에 있어서, 힌지 도메인은 CD8α 힌지 도메인을 포함하는, 면역 세포.

[0875] 19. 실시양태 II-18에 있어서, CD8α 힌지 도메인은 서열번호: 7의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0876] 20. 실시양태 II-11 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 막횡단 도메인은 CD28 막횡단 도메인을 포함하는, 면역 세포.

[0877] 21. 실시양태 II-20에 있어서, CD28 막관통 도메인은 서열번호: 11의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0878] 22. 실시양태 II-11 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 세포내 도메인은 CD28 공동 자극 도메인, 4-1BB 공동 자극 도메인, 및 CD3ζ 활성화 도메인을 포함하는, 면역 세포.

[0879] 23. 실시양태 II-22에 있어서, 세포내 도메인은 서열번호: 285의 서열, 또는 이와 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0880] 24. 실시양태 II-1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체는 서열번호: 303의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0881] 25. 실시양태 II-1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

[0882] 26. 실시양태 II-25에 있어서, LILRB1 세포내 도메인은 서열번호: 70과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 70과 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0883] 27. 실시양태 II-1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

[0884] 28. 실시양태 II-27에 있어서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열번호: 74와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 74와 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0885] 29. 실시양태 II-1 내지 28 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

[0886] 30. 실시양태 II-29에 있어서, LILRB1 힌지 도메인은 서열번호: 73과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적

어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 73과 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0887] 31. 실시양태 II-1 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 LILRB1 세포내 도메인, LILRB1 막관통 도메인, LILRB1 힌지 도메인, 이들 중 임의의 것의 기능적 변이체, 또는 이들의 조합을 포함하는, 면역 세포.

[0888] 32. 실시양태 II-31에 있어서, LILRB1 힌지 도메인, LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인은 서열번호: 71, 또는 서열번호 71과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 동일한 서열, 또는 서열번호: 71과 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0889] 33. 실시양태 II-1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 제2 수용체는 서열번호: 1268의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0890] 34. 실시양태 II-1 내지 33 중 어느 하나에 있어서, MSLN+ 암 세포는 중피종암 세포, 난소암 세포, 자궁경부암 세포, 결장직장암 세포, 식도암 세포, 두경부암 세포, 신장암 세포, 자궁암 세포, 위암 세포, 췌장암 세포, 폐암 세포, 결장직장암 세포 또는 담관암종 세포인, 면역 세포.

[0891] 35. 실시양태 II-34에 있어서, MSLN+ 암 세포는 중피종암 세포, 난소암 세포, 자궁경부암 세포, 자궁암 세포, 위암 세포, 췌장암 세포 또는 폐 선암종 세포인, 면역 세포.

[0892] 36. 실시양태 II-1 내지 35 중 어느 하나에 있어서, MSLN+ 암 세포는 HLA-A*03을 발현하지 않는 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포인, 면역 세포.

[0893] 37. 실시양태 II-36에 있어서, MSLN+/HLA-A*03- 암 세포는 HLA-A*03의 소실을 야기하는 HLA-A에서의 이형접합성의 소실에 의해 MSLN+/HLA-A*03+ 세포로부터 유래되는, 면역 세포.

[0894] 38. 실시양태 II-1 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 이형접합성의 소실이 소실된 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키는, 면역 세포.

[0895] 39. 실시양태 II-1 내지 38 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 이형접합성의 소실에 의해 HLA-A*03이 소실되지 않은 MSLN+ 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키지 않는, 면역 세포.

[0896] 40. 실시양태 II-1 내지 39 중 어느 하나에 있어서, 면역 세포는 T 세포인, 면역 세포.

[0897] 41. 실시양태 II-40에 있어서, T 세포는 CD8+ CD4- T 세포 또는 CD8- CD4+ T 세포인, 면역 세포.

[0898] 42. 실시양태 II-1 내지 41 중 어느 하나에 있어서, MHC 클래스 I 유전자의 발현 및/또는 기능이 감소되거나 제거된, 면역 세포.

[0899] 43. 실시양태 II-42에 있어서, MHC 클래스 I 유전자는 베타-2-마이크로글로불린(B2M)인, 면역 세포.

[0900] 44. 실시양태 II-43에 있어서, 간섭 RNA를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 추가로 포함하며, 간섭 RNA는 B2M mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0901] 45. 실시양태 II-44에 있어서, 간섭 RNA는 표 13에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열, 또는 이에 대해 최대 1, 2, 3, 또는 4개의 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0902] 46. 실시양태 II-44 또는 II-45에 있어서, 간섭 RNA는 B2M mRNA의 RNAi-매개 분해를 유도할 수 있는, 면역 세포.

[0903] 47. 실시양태 II-46에 있어서, 간섭 RNA는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)인, 면역 세포.

[0904] 48. 실시양태 II-47에 있어서, shRNA는

[0905] (a) 5' 단부에서 3' 단부로 B2M mRNA의 서열에 상보적인 서열을 갖는 제1 서열; 및

[0906] (b) 5' 단부에서 3' 단부로 제1 서열에 상보적인 서열을 갖는 제2 서열

[0907] 을 포함하며,

[0908] 상기 제1 서열 및 제2 서열은 shRNA를 형성하는, 면역 세포.

[0909] 49. 실시양태 II-47 또는 II-48에 있어서, shRNA는GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호:

349) 또는 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350)의 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 서열에 의해 암호화되는, 면역 세포

[0910] 50. 실시양태 II-43에 있어서, B2M을 암호화하는 서열에 대해 하나 이상의 변형을 포함하며, 하나 이상의 변형은 B2M의 발현을 감소시키고/시키거나 이의 기능을 제거하는, 면역 세포.

[0911] 51. 실시양태 II-50에 있어서, 하나 이상의 변형은 B2M을 암호화하는 내인성 유전자의 하나 이상의 불활성화 돌연변이를 포함하는, 면역 세포.

[0912] 52. 실시양태 II-51에 있어서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 결실, 삽입, 치환, 또는 프레임시프트 돌연변이를 포함하는, 면역 세포.

[0913] 53. II-51 또는 II-52에 있어서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 B2M을 암호화하는 내인성 유전자의 서열을 특이적으로 표적화하는 적어도 하나의 가이드 핵산(gNA)과 복합체를 이루는 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제를 사용하여 도입되는, 면역 세포.

[0914] 54. 실시양태 II-53에 있어서, gNA는 표 12에 제시된 서열의 군으로부터 선택된 서열, 또는 이에 대해 최대 1, 2, 3, 또는 4개의 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0915] 55. 실시양태 II-42에 있어서, MHC 클래스 I 유전자는 HLA-A*03인, 면역 세포.

[0916] 56. 실시양태 II-55에 있어서, HLA-A*03 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 포함하는 간섭 RNA를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 추가로 포함하는, 면역 세포.

[0917] 57. 실시양태 II-56에 있어서, 간섭 RNA는 HLA-A*03 mRNA의 RNA 간섭(RNAi)-매개 분해를 유도할 수 있는, 면역 세포.

[0918] 58. 실시양태 II-57에 있어서, 간섭 RNA는

[0919] (a) 5' 단부에서 3' 단부로 HLA-A*03 mRNA의 서열에 상보적인 서열을 갖는, 제1 서열; 및

[0920] (b) 5' 단부에서 3' 단부로 제1 서열에 상보적인 서열을 갖는, 제2 서열

[0921] 을 포함하는 짧은 헤어핀 RNA (shRNA)이며,

[0922] 상기 제1 서열 및 제2 서열은 shRNA를 형성하는, 면역 세포.

[0923] 59. 실시양태 II-55에 있어서, HLA-A*03을 암호화하는 내인성 유전자의 서열에 대한 하나 이상의 변형을 포함하며, 하나 이상의 변형은 HLA-A*03의 발현을 감소시키고/시키거나 이의 기능을 제거하는, 면역 세포.

[0924] 60. 실시양태 II-59에 있어서, 하나 이상의 변형은 HLA-A*3을 암호화하는 내인성 유전자의 하나 이상의 불활성화 돌연변이를 포함하는, 면역 세포.

[0925] 61. 실시양태 II-59 또는 II-60에 있어서, 하나 이상의 불활성화 돌연변이는 HLA-A*02를 암호화하는 내인성 유전자의 서열을 특이적으로 표적화하는 적어도 하나의 가이드 핵산(gNA)과 복합체를 이루는 핵산 가이드된 엔도뉴클레아제를 사용하여 도입되는, 면역 세포.

[0926] 62. 실시양태 II-1 내지 61 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체는 서열번호: 164의 서열을 포함하고, 제2 수용체는 서열번호: 52의 서열, 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

[0927] 63. 실시양태 II-1 내지 60 중 어느 하나에 있어서, 면역 세포는 자가유래인, 면역 세포.

[0928] 64. 실시양태 II-1 내지 60 중 어느 하나에 있어서, 면역 세포는 동종이계인, 면역 세포.

[0929] 65. 치료적 유효량의 II-1 내지 62 중 어느 하나의 면역 세포를 포함하는, 약제학적 조성물.

[0930] 66. 실시양태 II-63에 있어서, 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

[0931] 67. II-63 또는 II-64에 있어서, MSLN+ 암 치료에서 약제로서 사용하기 위한, 약제학적 조성물.

[0932] 68. 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템으로서,

[0933] (a) 메소텔린(MSLN)에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 수용체; 및

[0934] (b) HLA-A*03에 특이적인 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 수용체

[0935] 를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하며,

[0936] 상기 제1 수용체는 MSLN+ 암 세포 상의 MSLN에 반응하는 활성화제 수용체이고; 상기 제2 수용체는 HLA-A*03에 반응하는 억제 수용체인,

[0937] 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

[0938] 69. 실시양태 II-1 내지 62 중 어느 하나의 면역 세포를 생성하는데 사용하기 위한, 제1 수용체 및 제2 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

[0939] 70. 실시양태 II-66 또는 II-67에 있어서, B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

[0940] 71. 실시양태 II-68에 있어서, 제1 수용체, 제2 수용체 및 B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열은 동일한 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

[0941] 72. 실시양태 II-68 또는 II-69에 있어서,

[0942] a. B2M에 특이적인 shRNA를 암호화하는 서열은

[0943] GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC(서열번호: 349) 또는 GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC(서열번호: 350) 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

[0944] 제1 수용체를 암호화하는 서열은 서열번호: 303의 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 서열을 포함하고; 제2 수용체를 암호화하는 서열은 서열번호: 1268의 서열, 또는 이와 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 시스템.

[0945] 73. 실시양태 II-66 내지 70 중 어느 하나의 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 벡터.

[0946] 74. HLA-A*03 유전자좌에서 이형접합성이 소실된 MSLN+ 암 세포를 사멸시키는 방법으로서, 대상체에게 유효량의 실시양태 II-1 내지 62 중 어느 하나의 면역 세포 또는 실시양태 II-63 내지 65 중 어느 하나의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0947] 75. HLA-A*03 유전자좌에서 이형접합성이 소실된 MSLN+ 종양을 갖는 대상체에서 MSLN+ 암을 치료하는 방법으로서, 대상체에게 유효량의 실시양태 II-1 내지 62 중 어느 하나의 면역 세포 또는 실시양태 II-63 내지 65 중 어느 하나의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0948] 76. 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서,

[0949] 대상체의 정상 세포 및 복수의 암세포의 HLA-A 유전자형 또는 발현을 결정하는 단계;

[0950] 선택적으로, 대상체의 복수의 암세포에서 MSLN의 발현을 결정하는 단계; 및

[0951] 정상 세포가 HLA-A*03을 발현하고 복수의 암세포가 HLA-A*03을 발현하지 않고, 복수의 암세포가 MSLN-양성인 경우, 대상체에게 유효량의 실시양태 II-1 내지 62 중 어느 하나의 면역 세포 또는 실시양태 II-63 내지 65 중 어느 하나의 약제학적 조성물을 투여하는 단계

[0952] 를 포함하는, 방법.

[0953] 77. 실시양태 II-74에 있어서, 대상체는 MSLN(MSLN+)을 발현하고 HLA-A*03 발현을 상실한 악성종양을 갖는 이형

접합성 HLA-A*03 환자인, 방법.

[0954] 78. 실시양태 II-74에 있어서, 대상체는 MSLN을 발현하고 HLA-A*03 발현을 상실한 재발성 절제 불가능 또는 전이성 고형 종양을 갖는 이형접합성 HLA-A*03 환자인, 방법.

[0955] 79. 실시양태 II-74 내지 76 중 어느 하나에 있어서, 암은 중피종암, 난소암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 두경부암, 신장암, 자궁암, 위암, 췌장암, 폐암, 결장직장암 또는 담관암종을 포함하는, 방법.

[0956] 80. 실시양태 II-77에 있어서, 암은 대상체에서 재발되고/되거나, 암은 이전에 투여된 하나 이상의 항암 요법에 대해 불응성이고/이거나, 암은 전이성인, 방법.

[0957] 81. 실시양태 II-74 내지 78 중 어느 하나에 있어서, 암 세포는 HLA-A*03을 발현하지 않는 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포를 포함하는, 방법.

[0958] 82. 실시양태 II-79에 있어서, MSLN+/HLA-A*03- 암 세포는 HLA-A*03의 소실을 야기하는 HLA-A에서의 이형접합성의 소실에 의해 MSLN+/HLA-A*03+ 세포로부터 유래되는, 방법.

[0959] 83. 실시양태 II-74 내지 80 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 MSLN+/HLA-A*03- 암 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키는, 방법.

[0960] 84. 실시양태 II-74 내지 81 중 어느 하나에 있어서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 함께 HLA-A*03을 소실하지 않은 MSLN+ 세포의 존재 하에 면역 세포를 특이적으로 활성화시키지 않는, 방법.

[0961] 85. 실시양태 II-74 내지 82 중 어느 하나에 있어서, 실시양태 II-1 내지 58 중 어느 하나의 면역 세포 또는 실시양태 II-59 내지 61 중 어느 하나의 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 크기를 감소시키는, 방법.

[0962] 86. 실시양태 II-83에 있어서, 종양은 약 5%, 약 10%, 약 15%, 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 100% 감소되는, 방법.

[0963] 87. 실시양태 II-83에 있어서, 종양은 제거되는, 방법.

[0964] 88. 실시양태 II-83 또는 II-84에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 성장을 정지시키는, 방법.

[0965] 89. 실시양태 II-74항 내지 86 중 어느 하나에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 종양의 수를 감소시키는, 방법.

[0966] 90. 실시양태 II-74 내지 87 중 어느 하나에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체에서 암 세포를 선택적으로 사멸시키지만 정상 세포는 사멸시키지 않는, 방법.

[0967] 91. 실시양태 II-88에 있어서, 사멸된 세포의 적어도 약 60%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 65%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 70%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 75%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 80%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 85%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 90%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 95%가 암 세포이거나, 사멸된 세포의 약 100%가 암 세포인, 방법.

[0968] 92. 실시양태 II-88에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 대상체의 암 세포의 적어도 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90% 또는 전부를 사멸시키는, 방법.

[0969] 93. 실시양태 II-74항 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 면역 세포 또는 약제학적 조성물의 투여는 제1 활성화제 수용체를 포함하지만 제2 억제 수용체를 포함하지 않는 다른 동등한 면역 세포의 투여보다 대상체에 대해 더 적은 부작용을 초래하는, 방법.

[0970] 94. 복수의 면역 세포를 제조하는 방법으로서,

[0971] (a) 복수의 면역 세포를 제공하는 단계, 및

[0972] (b) 상기 복수의 면역 세포를 실시양태 II-66 내지 70 중 어느 하나의 폴리뉴클레오티드 시스템, 또는 실시양태 II-71의 벡터로 형질전환시키는 단계

[0973] 를 포함하는, 방법.

[0974] 95. 실시양태 II-1 내지 62 중 어느 하나의 면역 세포 또는 실시양태 II-63 내지 65 중 어느 하나의 약제학적 조성물을 포함하는, 키트.

[0975] 96. 실시양태 II-98에 있어서, 사용 설명서를 추가로 포함하는, 키트.

[0976] **실시예**

[0977] 다음 실시예는 단지 예시를 위한 것이며 본 발명의 범위를 제한하지 않는다. 실시예 전체에서, 용어 "차단제 항원"은 비-표적 항원의 실시양태를 기술하기 위해 사용된다.

[0978] ***실시예 1: 차등적으로 발현되는 차단제의 식별***

[0979] 후보 차단제 표적을 생물정보학 파이프라인을 사용하여 식별하였다. 요약하면, 공개적으로 이용 가능한 발현 데이터베이스를 하기 기재된 바와 같이 정상 결장 조직에 비해 종양에서 발현이 상실된 유전자에 대해 검색하였다. 이들 유전자를 막 단백질과 TCGA-MESO 데이터세트(중피종)에서의 발현에 대해 필터링하였다. 이 공정의 도표를 도 14에 도시한다. 후보 차단제 표적은 건강한 조직의 중피에서 발현되지만, 난소암 및 췌장암을 포함하는 메소텔린(MSLN) 양성 암 및 폐암 및 결장직장암의 약 3/4에서 발현되지 않는다.

[0980] 요약하면, 예측되는 세포 표면 단백질을 식별하기 위해 전체 인간 단백질 세트를 필터링하였다. 이러한 단백질을 암유전체지도(The Cancer Genome Atlas; TCGA) 데이터베이스를 사용하여 발현에 대해 조사하였다. 중피종에서 후보 유전자의 발현을 조사하였고, 발현이 2 TPM(킬로베이스 백만개당 전사체)보다 크거나 50% 초과의 샘플에서 5 TPM보다 큰 유전자를 추가 분석을 위해 포함시켰다. 결장직장, 난소, 췌장 및 폐 선암종 종양에서 후보 유전자의 발현 또한 평가하였고, 이들 종양 유형에서 발현이 2 TPM 미만인 유전자를 추가 분석을 위해 포함시켰다. 이들 유전자의 요약을 도 1에 나타낸다. 도 2는 정상 조직에서의 MSLN의 RNA 발현을 나타낸다(Genotype-Tissue Expression, GTEx 프로젝트, gtexportal.org/home의 데이터). 메소텔린은 정상 지방, 나팔관, 폐 및 침샘 조직에서 발현된다. 따라서 MSLN CAR 또는 TCR T 세포가 이러한 조직을 표적으로 삼는 것을 예방할 수 있는 후보 차단제는 MSLN을 발현하는 건강 조직에서도 발현되어야 한다.

[0981] 종양 대 정상 조직에서의 MSLN 발현을 조사하였다(도 3, TCGA 데이터베이스). 다양한 세포주에서 MSLN 발현을 또한 조사하였다(도 4, Cancer Cell Line Encyclopedia, 또는 CCLE). 도 4에 나타낸 세포주 발현 등급 순서는 도 3에 나타낸 MSLN 종양 등급 발현과 대략적으로 상관관계가 있었다.

[0982] LRRN4 및 UPK3B가 후보 차단제 표적으로 식별되었다. 도 5는 GTex 포탈(www.gtexportal.org/home/)로부터 정상 조직에서의 LRRN 발현을 보여주는 반면, 도 6 및 7은 TCGA 샘플에서의 LRRN4 발현을 나타내고, 도 8은 CCLE 세포주에서의 LRRN4 발현을 나타낸다. 도 5-7에서 볼 수 있는 바와 같이, MSLN과 마찬가지로 LRRN4는 지방 및 폐 조직에서 높게 발현된다. 더욱이, LRRN4는 다수의 류신 풍부 반복부(LRR) 및 피브로넥틴 III형 도메인을 함유하는 큰 세포외 도메인을 갖는다(도 9).

[0983] ***실시예 2: 이형접합성의 소실로 인해 암 세포에서 소실된 후보 차단제 표적의 식별***

[0984] MSLN 양성 암에서 이형접합성의 소실로 인해 소실된 후보 차단제 표적을 생물정보학 파이프라인을 사용하여 식별하였다.

[0985] 다음 데이터베이스를 사용하여 후보 차단제 표적을 식별하였다: 공개, 집단 빈도, 분자 결과 및 게놈 매핑 정보와 함께 인간 단일 뉴클레오티드 변이 및 소규모 삽입 및 결실을 포함하는 단일 뉴클레오티드 다형성 데이터베이스인 dbSNP. 공통 변이는 NCBI에서 적어도 두 명의 무관한 개체가 마이너 대립유전자를 갖는 것과 적어도 하나의 주요 모집단에서 0.01 이상의 마이너 대립유전자 빈도(MAF)를 갖는 것으로 정의하였다. 0.1 이상의 MAF를 공통 변이에 대한 기준으로 사용하였다. Uniprot(Universal Protein Resource)는 EMBL-EBI, SIB 및 PIR에서 호스팅하는 단백질 서열 및 주석 데이터의 공급원으로 사용하였다. GTEx(The Genotype-Tissue Expression)는 조직 특이적 유전자 발현 및 조절을 위한 공개 자원으로 사용하였다. 여기에는 거의 1000명의 개체에 걸쳐 54개의 질환이 없는 조직 부위의 샘플이 포함되어 있다. TCGA(암유전체지도)는 20,000개 초과의 원발 암 및 33개의 암 유형에 걸쳐 일치하는 정상 샘플에 대한 공급원으로 사용하였다. CCLE(Cancer cell line Encyclopedia)는 57개의 결장직장암(CRC) 세포주에 대한 정보를 포함한다. Xena UCSC는 TCGA 및 GTEx 발현 데이터를 재정규화하였다(FPKM). 광범위한 GDAC Firehose Legacy 데이터는 복제 수 분석에 사용하였다.

[0986] NCBI dbSNP 데이터베이스를 다운로드하고 공통 변이를 검색하였다. 높은 이형접합성의 소실(0.5 이상)을 갖는

종양 복제 수 포털의 검색을 기반으로 식별된 염색체의 변이체만을 포함시켰고, 0.1 미만의 마이너 대립유전자 빈도를 가진 변이체를 제거하였다. VEP(변이체 효과 예측기(Variant Effect Predictor))를 사용하여 단백질 코딩 영역에 있는 미스센스 변이체를 필터링하였다. 중피종에서 고도로 발현되지 않는 유전자(TCGA-MESO 발현 수준 <5 TPM)와 마찬가지로 막관통 도메인이 없는 유전자를 제거하였다. LOH 빈도가 0.5 이하인 유전자를 제거하였다. 골지, ER, 핵, 세포질, 미토콘드리아, 나선, 리소좀과 프로펩티드로 발현된 유전자를 제거하였다. TCGA 복제 수 포털에서 LOH 빈도를 확인하였다.

[0987] 필터를 통과한 유전자는 Ensembl Genome Browser 또는 VEP 분석 출력의 다른 변이체와 유전자의 변이 위치에 대해 확인하였다. 11개의 유전자가 모든 필터를 통과하였다. 이 공정의 요약은 도 13에 나타낸다.

[0988] 후보 차단제 표적 ICAM1, COMT 및 CXCL16을 식별하였다. ICAM1, COMT 및 CXCL16에 대한 다양한 암에서 LOH의 빈도를 요약하여 하기 표 17에 나타낸다.

[0989] 표 17: LOH 빈도

			LOH 빈도	
		ICAM1	**COMT**	**CXCL16**
난소 (전체)		0.33	0.64	0.74
췌장 (전체)		0.15	0.25	0.48
중피종 (전체)		0.09	0.7	0.21
폐 (3/4)		0.46	0.3	0.58
결장직장 (3/4)		0.12	0.33	0.58
혈액암				0.1
AML				0.07
변이체		K/E	V/M	I/T
MAF		0.36	0.37	0.46

[0990]

[0991] 표 18: ICAM1, COMT 및 CXCL16 변이체의 요약

유전자 명칭	변이체	단백질 위치	변화	MAF
CXCL16	rs2277680, rs1050998	1. 200, 2. 142	1. A/V, 2. I/T	1. 0.4615, 2. 0.4633
COMT	rs4680	158	V/M	0.369
ICAM1	rs5498	469	K/E	0.359

[0992]

[0993] ***실시예 3: 차단제 리간드 결합 도메인의 식별***

[0994] 후보 차단제 항원에 대한 공개적으로 이용 가능한 항체는 CDR 서열이 알려지지 않은 경우 시퀀싱한다. 후보 차단제 표적에 대한 항체가 이용 가능하지 않는 경우, 이러한 항체는 마우스, 랫트 또는 토끼를 정제된 단백질(예를 들어, ICAM1, CXCL16 및 COMT1)로 면역화하여 생성한다. 면역화된 동물의 혈청을 사용하여 차단제 표적에 결합하기 위한 mAb를 스크리닝한다. 차단제 표적에 대한 항체는 또한 huTARG™ 시스템을 사용하여 생성한다. 그런 다음 원하는 특이성을 가진 항체를 단리하고 시퀀싱하여 CDR 서열을 결정한다.

[0995] 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 scFv를 생성하기 위해 차단제 표적에 대한 항체의 CDR 서열을 사용한다. 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 억제 수용체를 생성하기 위해 후보 scFv를 억제제 수용체 힌지 또는 막관통 도메인에 융합한다. 표적 항원에 결합하는 scFv에 대한 양성 대조군으로서 사용하기 위한 전장 활성화제 수용체를 생성하기 위해 후보 scFv를 또한 활성화제 수용체 힌지 또는 막관통 도메인(예를 들어, CAR)에 융합한다. 억제 수용체와 관련하여 작동하는 후보 scFv의 능력은 NFAT-루시퍼라제 리포터 검정을 사용하여 저캇 세포에서 검정한다.

[0996] ***실시예 4: HLA-A*02 차단제는 저캇 세포의 MSLN 활성화제 매개 활성화를 차단할 수 있다.***

[0997] 세포 배양

[0998] NFAT 루시퍼라제 리포터를 암호화하는 저캇 세포는 BPS Bioscience로부터 수득하였다. 배양물에서, 저캇 세포를 10% FBS, 1% Pen/Strep 및 0.4mg/mL G418/제네티신이 보충된 RPMI 배지에서 유지하였다. 이 연구에 사용된 다른 모든 세포주는 ATCC에서 수득하였으며, ATCC에 의해 제안된 바와 같이 유지하였다.

[0999] 저캇 세포 형질감염

[1000] 저캇 세포는 다음 설정을 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 100uL 형식 네온 전기천공 시스템(Thermo Fisher Scientific)을 통해 일시적으로 형질감염시켰다: 3 펄스, 1500V, 10msec. 1e6개의 세포당 1-3ug의 활성화제 CAR 또는 TCR 작제물 및 1-3ug의 차단제 작제물 또는 공벡터로 공동-형질감염을 수행하고 20% 열-불활성화 FBS 및 0.1% Pen/Strep이 보충된 RPMI 배지에 회수하였다.

[1001] 저캇-NFAT-루시퍼라제 활성화 연구

[1002] 저캇 세포를 10% 열-불활성화 FBS 및 0.1% Pen/Strep이 보충된 15uL의 RPMI에 재현탁하고, 펩티드-로딩된 비드에 첨가하고 6시간 동안 공동 배양하였다. ONE-Step 루시퍼라제 검정 시스템(BPS Bioscience)을 사용하여 저캇 발광을 평가하였다. 검정은 기술적 중복으로 수행하였다.

[1003] 1차 T 세포 형질도입, 확장 및 농축

[1004] 동결된 PBMC를 37℃ 수조에서 해동하고 1% 인간 혈청이 포함된 LymphoONE(Takara)에서 1e6개의 세포/mL로 배양하고 IL-15(10ng/mL) 및 IL-21(10ng/mL)이 보충된 1:100의 T 세포 TransAct(Miltenyi)을 사용하여 활성화하였다. 24시간 후, 렌티바이러스를 5의 MOI로 PBMC에 첨가하였다. PBMC를 2-3일 추가적으로 배양하여 세포가 TransAct 자극 하에 확장되도록 하였다. 확장 후, 활성화제 및 차단제로 형질도입된 1차 T 세포는 제조업체의 지침에 따라 항-PE 마이크로비드(Miltenyi)를 사용하여 농축하였다. 요약하면, 1차 T 세포를 MACS 완충액(PBS 중 0.5% BSA + 2mM EDTA)에서 4℃에서 30분 동안 1:100 희석으로 CD19-Fc(R&D Systems)와 함께 인큐베이션하였다. 세포를 MACS 완충액으로 3회 세척하고 MACS 완충액에서 4℃에서 30분 동안 2차 항체(1:200)에서 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 항-PE 마이크로비드에서 인큐베이션하고 LS 컬럼(Miltenyi)을 통과시켰다.

[1005] 1차 T 세포 시험관 내 세포독성 연구

[1006] pMHC 표적을 이용한 세포독성 연구를 위해, 농축된 1차 T 세포를 레닐라 루시퍼라제(Biosettia) 및 GFP 또는 RFP를 발현하는 SiHa 또는 HeLa 세포와 함께 인큐베이션하였다. 살아 있는 루시퍼라제-발현 SiHa 또는 HeLa 세포를 레닐라 루시퍼라제 리포터 검정 시스템(Promega)을 사용하여 정량화하였다. 농축된 1차 T 세포를 SiHa 또는 HeLa("종양" 세포) 또는 HLA-A*02 형질도입된 SiHa 또는 HeLa 세포("정상" 세포)와 함께 인큐베이션하였다. GFP 또는 RFP 및 레닐라 루시퍼라제(Biosettia)를 안정적으로 발현하는 WT "종양" SiHa 또는 HeLa 세포 또는 RFP 및 루시퍼라제(Biosettia)를 안정적으로 발현하는 HLA-A*02 "정상" SiHa 또는 HeLa 세포를 IncuCyte 라이브 셀 이미저(live cell imager)를 사용하여 표지되지 않은 1차 세포와 함께 영상화하였다.

[1007] MSLN CAR 활성화제 및 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체를 발현하는 저캇 이펙터 세포의 활성화를 NFAT 루시퍼라제 검정을 사용하여 검정하였다.

[1008] 저캇 세포를 1:4 비율의 활성화제:차단제 DNA로 형질감염시키고, 활성화를 무세포 비드 기반 검정으로 검정하였다(도 10a). 비드에는 활성화제 항원 또는 활성화제 및 차단제 항원이 로딩되었고, 비드 대 저캇 세포의 비율은 다양하였다. 무세포 비드 기반 검정에서, pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체는 세포가 *시스*로 pMHC HLA-A*02 차단제 및 MSLN 활성화제를 보유하는 비드와 접촉할 때 저캇 세포의 활성화를 차단할 수 있었다. 비드 상의 pMHC HLA-A*02 차단제의 존재는 MSLN CAR의 E_{MAX}를 12X 이상으로 이동시킬 수 있었다(도 10a).

[1009] 1:4 DNA 비율의 동일한 활성화제 및 차단제로 형질감염된 활성화 저캇 세포를 만성 골수성 백혈병 세포주 K562를 사용하여 활성화에 대해 검정하였다. K562는 활성화제 항원인 MSLN을 발현한다. 활성화제 및 차단제 항원 둘 모두를 발현하기 위해 HLA-A*02로 형질도입된 K562 세포(MSLN+ HLA-A*02+) 및 활성화제를 발현하지만 차단제 항원은 발현하지 않는 비형질도입된 K562(MSLN+ HLA-A*02-)에 대한 저캇 이펙터 세포의 반응을 검정하였다. 도 10b에서 볼 수 있는 바와 같이, K562 세포에 의한 HLA-A*02+의 발현은 MSLN CAR E_{MAX}를 5배 초과로 이동시킬 수 있었다.

[1010] MSNL scFv CAR을 통한 활성화를 차단하는 pMHC HLA-A*02 억제 수용체의 능력은 또한 이펙터 1차 T 세포 및 SiHa 또는 HeLa 표적 세포를 사용하여 검정하였다. SiHa 및 HeLa 세포는 내인성적으로 MSLN을 발현하고, HLA-A*02 억

제 수용체 표적을 발현하도록 형질도입되었다. 1차 이펙터 T 세포의 활성화는 IFNγ의 유도 배수를 살펴봄으로써 검정하였다. 도 11에 나타낸 바와 같이, pMHC HLA-A*02 LIR-1 억제 수용체는 1차 T 세포에 HLA-A*02를 발현하는 SiHa 또는 HeLa 표적 세포를 제시할 때 1차 T 세포의 활성화를 차단할 수 있었다(각각 10X 및 5X 초과 억제).

[1011] pMHC HLA-A*02 억제 수용체는 또한 T 세포에 MSLN을 발현하지만 HLA-A*02는 발현하지 않는 SiHa 세포를 제시할 때 MSLN scFv CAR 및 pMHC HLA-A*02 LIR-1 억제 수용체 둘 모두를 발현하는 T 세포에 의한 사멸을 억제할 수 있었다(도 12).

[1012] ***실시예 5: HLA-A*02 차단제는 K562 및 HeLa 표적 세포를 사용하여 MSLN에 대한 MSLN CAR 활성화제를 억제한다.***

[1013] *세포 배양*

[1014] MSLN CAR 활성화제 및 HLA-A02 LIR-1 억제 수용체를 저캇 이펙터 세포 및 K562 표적 세포를 사용하여 조사하였다(도 15a). 차단제 표적 HLA-A*02를 발현하는 HeLa 세포를 사멸시키는 MSLN CAR(2개의 상이한 MSLN 리간드 결합 도메인 포함)을 발현하는 MSLN CAR T 세포의 능력도 검정하였다(도 15b-15c). MSLN 리간드는 100,000개의 에피토프/세포 영역으로 확장될 수 있는 표면 항원을 제시한다. A 대 B 모듈 발현의 비율은 일시적 형질감염 검정에서 상이한 DNA 농도를 사용하여 변화시켰다. 활성화제 및 억제 수용체 시스템은 낮거나 높은 표적 밀도를 수용할 수 있을 만큼 충분히 유연하여, 원칙적으로 pMHC 표적뿐만 아니라 비-pMHC 표면 항원에 대한 최적화를 허용한다.

[1015] NFAT 루시퍼라제 리포터를 암호화하는 저캇 세포는 BPS Bioscience로부터 수득하였다. 이 연구에 사용된 다른 모든 세포주는 ATCC로부터 수득하였다. 배양물에서, 저캇 세포는 10% FBS, 1% Pen/Strep 및 0.4mg/mL G418/제네티신이 보충된 RPMI 배지에서 유지하였다. K562 및 HeLa 세포는 ATCC에서 제안한 바와 같이 유지하였다.

[1016] *MSLN 항원 결합 도메인*

[1017] MSLN-활성화 CAR scFv는 Beatty, 등 WO2015/090230A1에 기재된 바와 같은 인간 M5(LBD1) 및 BioLuminate, 2019(BioLuminate, 버전 3.6, 버전 3.6 ed. Schrödinger, LLC, 뉴욕주 뉴욕) 및 US 6,809,184 B1에 기재된 바와 같은 인간화 SS1(LBD2)로부터 유래되었다.

[1018] *저캇 세포 형질감염 및 활성화*

[1019] 저캇 세포는 다음 설정을 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 100uL 형식 네온 전기천공 시스템(Thermo Fisher Scientific)을 통해 일시적으로 형질감염시켰다: 3 펄스, 1500V, 10msec. 공동-형질감염은 1e6개의 세포당 1-3ug의 활성화제 작제물 및 1-3ug의 차단제 작제물 또는 공벡터로 수행하였고 20% 열-불활성화 FBS 및 0.1% Pen/Strep이 보충된 RPMI 배지에서 회수하였다. 차단제 표면 발현을 확인하기 위해, 저캇 세포를 형질감염 18-24시간 후 1% BSA가 포함된 PBS에서 10ug/mL 스트렙타비딘-PE-HLA-A*02-pMHC 사량체로 4℃에서 60분 동안 염색하고 유세포분석법(BD FACS Canto II)으로 특징화하였다. 저캇 세포 활성화는 실시예 4에 기재된 바와 같이 NFAT-루시퍼라제 검정 시스템을 사용하여 평가하였다.

[1020] *1차 T 세포 형질도입, 확장 및 농축*

[1021] Leukopak은 AllCells®에서 구입하였다. 수집 프로토콜 및 공여자 사전 동의는 생명윤리위원회(Institutional Review Board; IRB)의 엄격한 감독하에 승인받았다. HIPAA 준수 및 승인된 프로토콜 또한 따랐다. 동결된 PBMC를 실시예 4에 기재된 바와 같이 해동하고 배양하였다. 세포를 각각의 렌티바이러스, 즉 활성화제 또는 차단제 수용체를 포함하는 렌티바이러스 벡터에 대해 MOI = 5에서 공동-형질도입하였다. PBMC는 TransAct 자극 하에서 세포가 확장되도록 2-3일 추가로 배양하였다. 확장 후, 활성화제 및 차단제로 형질도입된 1차 T 세포는 제조업체의 지침에 따라 항-PE 마이크로비드(Miltenyi)를 사용한 양성 선택에 의해 차단제 양성 T 세포에 대해 농축하였다. 요약하면, 1차 T 세포를 MACS 완충액(PBS 중 0.5% BSA + 2mM EDTA)에서 10ug/mL 스트렙타비딘-PE-HLA-A*02-pMHC 사량체와 함께 4℃에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 MACS 완충액으로 3회 세척하고 LS 컬럼(Miltenyi)을 통과시켜 비형질도입된 세포와 활성화제-단독 세포로부터 차단제 양성 세포(차단제-단독 및 활성화제 + 차단제 세포의 혼합물)를 분리하였다.

[1022] *1차 T 세포 시험관 내 세포독성 연구*

[1023] pMHC 표적을 사용한 세포독성 연구를 위해, 농축된 1차 T 세포를 레닐라 루시퍼라제(Biosettia)를 발현하는 K562 또는 HeLa 표적 세포와 함께 인큐베이션하였다. HLA-A*02 양성인 표적 세포는 또한 GFP 및 반딧불이 루시퍼라제(Biosettia)를 발현하고, HLA-A*02 음성인 표적 세포는 RFP 및 반딧불이 루시퍼라제를 발현하였다. 표적 세포는 IncuCyte 라이브 셀 이미저를 사용하여 표지되지 않은 1차 T 세포와 함께 영상화하였다. IncuCyte 영상화 소프트웨어를 사용하여 시간 경과에 따른 살아있는 표적 세포의 형광 강도를 정량화하였다.

[1024] ***실시예 6: 2세대 및 3세대 CAR 아키텍처에서의 마우스 SS1 MSLN 항원 결합 도메인 활성화제 및 HLA-A*02 차단제***

[1025] 원래, MSLN을 표적화하는 인간화 M5 및 SS1 scFv를 3세대 CAR 아키텍처(CD28, 4-1BB 및 CD3 제타)와 함께 사용하였다. 뮤린 SS1 scFv 항원 결합 도메인 및 2세대 CAR 아키텍처(4-1BB 및 CD3제타 세포내 도메인)를 사용하는 효과를 검정하였다.

[1026] HLA-A*02- 공여자 T 세포를 MSLN 3세대 CAR 활성화제(CD28, 4-1BB 및 CD3 제타 세포내 도메인을 갖는 CAR) 및 PA2.1 항원 결합 도메인을 사용하는 HLA-A*02 scFv LIR-1 차단제로 형질도입하였다. 인간화 M5, 인간화 SS1 및 뮤린 SS1 scFv를 갖는 MSLN CAR 활성화제를 검정하였다(표 1). HLA-A*02 차단제 서열은 표 5에 기재되어 있다. 실시예 4 및 5에 기재된 바와 같이 T 세포를 활성화제 및/또는 차단제 작제물로 형질도입하고, 배양하고, 농축하였다. T 세포를 형질도입 후 14일차에 사용하였고, 1:1의 이펙터: 표적 비율로 MSLN + HeLa 표적 세포와 함께 배양하였다. 실시예 4 및 5에 기재된 바와 같이 세포독성을 검정하였다. 도 16은 HeLa 세포가 또한 HLA-A*02를 발현할 때 MSLN 3세대 CAR을 발현하는 T 세포에 의한 HeLa 세포의 사멸을 억제제 수용체가 효과적으로 차단할 수 있었음을 나타낸다. 또한, 도 16은 뮤린 SS1 3세대 CAR(우측 상단 플롯, 박스)이 인간화 M5 및 인간화 SS1 CAR보다 더 나은 창을 제공한다는 것을 나타낸다. 참고로, 도 16에서, C-0883은 양성 대조군으로 사용된 HLA-A*02 CAR이며, 추가적인 서열은 표 19에 기재되어 있다.

[1027] MSLN 활성화제 및 HLA-A*02 LIR1 차단제를 발현하는 T 세포가 MSLN+ HLA-A*02- Capan 세포를 선택적으로 사멸시키는 능력을 또한 검정하였다(도 17). 실시예 4 및 5에 기재된 바와 같이 T 세포를 활성화제 및/또는 차단제 수용체 작제물로 형질도입하고, 배양하고, 농축하였다. T 세포를 형질도입 후 14일차에 사용하였고, 1:1의 이펙터:표적 비율로 Capan 표적 세포와 함께 배양하였다. 실시예 4 및 5에 기재된 바와 같이 세포독성을 검정하였다. 도 17은 Capan 세포가 또한 HLA-A*02를 발현할 때 MSLN 3세대 CAR을 발현하는 T 세포에 의한 Capan 세포의 사멸을 억제제 수용체가 효과적으로 차단할 수 있었음을 나타낸다.

[1028] 뮤린 SS1 MSLN1 scFv를 또한 2세대 CAR(4-1BB 및 CD3 제타 세포내 도메인을 갖는 CAR)에서 검정하였다. 도 18은 mSS1 2세대 CAR을 발현하는 T 세포에 의한 MSLN+ HLA-A*02+_HeLa 세포 및 HCT116 야생형 세포(MSLN 및 HLA-A*02 둘 모두를 천연적으로 발현함)의 사멸이 HLA-A*02 scFv LIR-1 억제 수용체에 의해 효과적으로 차단되었음을 나타낸다. 도 18에서 볼 수 있는 바와 같이, 2세대 mSS1 CAR은 BB7.2 scFv 항원 결합 도메인을 갖는 억제 수용체보다 PA2.1 scFv 항원 결합 도메인을 갖는 억제 수용체에 의해 더 효과적으로 차단되었다. 억제 수용체 내 짧은 LIR-1 힌지 서열 및 긴 LIR-1 힌지 서열의 효과, 및 HLA-A*02 scFv 내 VH 및 VL 도메인의 배열을 또한 검정하였다.

[1029] 뮤린 SS1 scFv를 갖는 2세대 CAR의 발현 또한 FACS를 통해 확인하였고, 그 결과를 도 19에 나타낸다. SS1 항원 결합 도메인은 재조합 가용성 MSLN 리간드를 사용하여 염색하였다.

[1030] 표 19: 작제물의 서열

명칭	아미노산 서열	뉴클레오티드 서열
PA2.1.14 (VL:VH) scFv LIR1 sHTICD	TEFTLTISSLQPDDFATYYCFQGSHVPRTFGQGTKV EVKGGGGSGGGGSGGGGSGGQVQLVQSGAEVKKPGS SVKVSCKASGYTFTSYHIHWVRQAPGQGLEWIGWIY PGNVNTEYNEKFKGKATITADESTNTAYMELSSLRS EDTAVYYCAREEITYAMDYWGQGTLVTVSSVVSGPS GGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHL GVVIGILVAVILLLLLLLLFLILRHRRQGKHWTST QRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEEN LYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKH SRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEA AASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPA VPSIYATLAIH (서열번호: 85)	(서열번호: 1252)
PA2.1.14 (VL:VH) scFv LIR1 HTICD	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRSSQSIVHSNGNT YLEWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPARFSGSGS GTEFTLTISSLQPDDFATYYCFQGSHVPRTFGQGTK VEVKGGGGSGGGGSGGGGSGGQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGYTFTSYHIHWVRQAPGQGLEWIGWI YPGNVNTEYNEKFKGKATITADESTNTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREEITYAMDYWGQGTLVTVSSYGSQS SKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSG PEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVILLLL LLLLLFLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGP EPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVE MDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLS GEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLH SLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH (서열번호: 86)	(서열번호: 1253)
MSLN_SsI CD8_HT 41BB CD3z	QVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNW VKQSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTV DKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDY WGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPAI MSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRW IYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSVEAEDD ATYYCQQWSGYPLTFGAGTKLEITTTPAPRPPTPAP TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIW APLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열번호: 87)	(서열번호: 1254)
PA2.1.14 scFv LIR1 sHTICD	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYHIHW VRQAPGQGLEWIGWIYPGNVNTEYNEKFKGKATITA DESTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREEITYAMDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPS TLSASVGDRVTITCRSSQSIVHSNGNTYLEWYQQKP GKAPKLLIYKVSNRFSGVPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCFQGSHVPRTFGQGTKVEVKVVSGP SGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRH LGVVIGILVAVILLLLLLLLFLILRHRRQGKHWTS TQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEE NLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVK HSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTE AAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSP AVPSIYATLAIH (서열번호: 88)	(서열번호: 1255)

[1031]

PA2.1.14 scFv LIR1 HTICD	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYHIHW VRQAPGQGLEWIGWIYPGNVNTEYNEKFKGKATITA DESTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREEITYAMDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPS TLSASVGDRVTITCRSSQSIVHSNGNTYLEWYQQKP GKAPKLLIYKVSNRFSGVPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCFQGSHVPRTFGQGTKVEVKYGSQS SKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSG PEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVILLLL LLLLLFLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGP EPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVE MDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLS GEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLH SLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH (서열번호: 89)	(서열번호: 258)

[1032]

[1033] ***실시예 7: 차단 활성에 대한 LIR-1 힌지의 효과 검정***

[1034] KRAS TCR 활성화제를 발현하는 저캇 세포에 의한 사멸을 차단하는 HLA-A*02 scFv LIR-1 억제 수용체의 능력에 대한 상이한 LIR-1 힌지의 효과를 상기 기재된 저캇 NFat 루시퍼라제 검정을 사용하여 검정하였다. 더 짧은

LIR-1 힌지를 갖는 인간화 PA2.1 scFv LIR-1 수용체 및 인간화 BB7.2 scFv LIR-1을 이전에 기재된 바와 같이 저캇 세포에서 검정하였고, 그 결과를 도 20a-20b에 나타낸다. 저캇 세포를 상기 기재된 방법과 같이, 다양한 LIR-1 유래 힌지를 갖는 HLA-A*02 scFv LIR-1 억제 수용체(인간화 PA2.1 또는 인간화 BB7.2) 및/또는 KRAS TCR 활성화제 수용체로 형질감염시켰으며, HLA-A11 양성 또는 HA-A11 및 HLA-A*02 양성인 T2 표적 세포와 공동 배양하였다. 더 짧은 힌지 및 더 긴 힌지를 갖는 억제 수용체는 둘 다 유사하게 기능하였다(도 20a-b). 마우스 PA2.1 scFv 및 약간 더 긴 힌지를 갖는 억제 수용체는 또한 T2-저캇 검정에서 더 짧은 LIR-1 힌지와 유사하게 기능하는 것으로 검정되었다(도 21a-b). 힌지 서열은 도 20b 및 도 21b에서 검은색으로 나타내며, 회색 SS는 항원 결합 도메인과 힌지 사이의 링커를 나타내고, 회색 VIGIL은 LIR-1 막관통 도메인의 시작을 나타낸다. 억제 수용체의 힌지, 막관통 도메인 및 세포내 도메인은 모두 LIR-1에서 유래되었다. 도 20a-20b 및 21a-21b는 LIR-1 억제 수용체에 부정적인 영향을 미치지 않으면서 LIR-1 힌지 길이가 변할 수 있음을 나타낸다. LIR-1 억제 수용체를 암호화하는 핵산 서열을 렌티바이러스 벡터로 패키징하여 전달하는 경우 더 짧은 힌지가 유리할 수 있다.

[1035] ***실시예 8: HLA 게이트 안전 메커니즘을 통합한 메소텔린 특이적 CAR-T 세포 치료법은 종양 세포를 선택적으로 사멸시킨다***

[1036] 메소텔린(MSLN)은 폐암 및 기타 많은 고형 종양에서 발현되는 전형적인 종양연관 항원이다. 그러나, MSLN은 주요 내부 기관의 표면을 둘러싸고 윤활하는 정상 중피에서도 발현된다. 이 정상적인 발현은 MSLN-지시 치료제에 대해 심각한 염증을 일으킬 위험이 크다. 이 실시예는 암 세포의 HLA 유전자좌에서 공통 LOH를 활용하여 T 세포가 종양과 정상 조직의 차이를 인식할 수 있도록 하는 이중-수용체(Tmod) 시스템을 기재한다. 본 실시예에 기재된 MSLN CAR Tmod 작제물로 조작된 T 세포는 (i) MSLN-활성화된 CAR; 및 (ii) HLA-A*02에 의해 개폐되는 억제 수용체를 함유한다. 이론에 얽매이지 않고, Tmod 시스템은 시험관 내 혼합 세포 집단과 이종이식편 모델에서도 "정상" 세포를 확실하게 보호한다. MSLN CAR은 또한 다른 HLA 클래스 I 차단제와 함께 쌍을 이룰 수 있어 HLA-A*02 이형접합체 이외의 환자에게로 접근 방식을 확장할 수 있다. MSLN CAR Tmod 작제물로 예시된 Tmod 메커니즘은 이전에 가능했던 것보다 더 안전하고 효과적인 방법으로 MSLN과 같은 고형 종양 항원을 활용하는 대체 경로를 제공할 수 있다. 메소텔린(MSLN)은 1992년에 암 표적으로 제안되었지만[1], MSLN을 활용하는 실행 가능한 치료법은 아직 없다. 대부분의 중피종에서 발현될 뿐만 아니라 난소, 자궁경부, 자궁, 위, 췌장 및 폐 선암종의 큰 하위 집합에서도 발현된다[2]. 정상 성인에서, MSLN은 그 자체가 중요하지 않을 수 있는 조직인 중피에만 존재한다[2,3]. 그러나, MSLN을 표적화하는 면역요법은 중요한 내부 기관을 둘러싸고 있는 MSLN(+) 중피 세포에 대한 염증 공격의 위험이 있다[4]. MSLN에 대한 여러 연구 치료제, 예를 들어, 면역독소 접합체[5, 6], 항체-약물 접합체[7], 이중특이성 항체[8], CAR-T[9] 및 하이브리드 TCR-scFv[10]가 테스트되었다. 지금까지 전신 투여된 모든 활성 치료제는 독성이 있었다. 최근 흉막내 주입을 통해 MSLN CAR-T를 전달하는 접근법이 보고되었다[11].

[1037] 이 실시예는 치료제의 국소 투여에 의존하지 않고 대신 LOH를 이용하는 MSLN(+) 암을 치료하는 예시적인 방법을 기재한다. 이 접근법은 HLA-A*02 대립유전자를 발현하는 정상 세포에 대한 이펙터 기능을 차단하는 LIR-1 기반 억제 수용체와 MSLN-표적화된 CAR을 쌍으로 이루게 함으로써 정상 조직에 대한 전신 독성을 피하고자 한다(**도 22a-22b**). 이러한 이중 수용체 작제물은 MSLN(+) 종양에 HLA-A*02 대립유전자의 LOH를 갖는 유전적으로 정의된 암 환자를 치료하기 위한 것이다. LOH에 의해 유발된 종양 대 정상 조직의 HLA-A*02 발현 차이는 종양 사멸에 대한 높은 선택성을 부여하는 것으로 여겨지는 이펙터 세포에 대한 전부 또는 전무(all-or-nothing) 입력을 생성한다.

[1038] **결과**

[1039] **강력하고 선택적인 MSLN CAR의 단리 및 특징화**

[1040] CAR에서 기능하는 강력하고 선택적인 MSLN-지시 리간드-결합 도메인(LBD)을 식별하기 위해, IgG 항체(mAb) 또는 scFv를 암호화하는 포유류 표면 디스플레이 라이브러리를 스크리닝하였다(**도 23a-23b**). FACS를 통해 MSLN에 대해 염색된 라이브러리 내 세포를 농축하기 위해 형광색소로 표지된 가용성 비오티닐화된 MSLN을 프로브로 사용하였다. 음성 프로브로서, 가용성 CEA 및 EGFR의 혼합물을 사용하여 비특이적 결합 특성을 갖는 mAb 또는 scFv를 암호화하는 세포를 고갈시켰다. MSLN-결합에 대한 2회 농축 후, 62개의 개별 LBD를 선택하고, scFv CAR로 전환하고, 저캇 세포에서 표면 발현을 확인하고, 고체 상태 저캇 세포 검정에서 기능적 활성에 대해 평가하였다(**도 23c-23d**). 이 단계에서는 추가 기능 특징화를 위해 가장 민감하고 선택적인 결합제의 하위 집합을 선택할

수 있었다.

[1041] 62개의 결합제 대부분이 MSLN을 나타내는 세포 표면에 대한 기능적 반응을 초래했지만 추가 특징화를 위해 6개를 선택하였으며; 결합제 CDR(중쇄(HC) CDR 및 경쇄(LC) CDR)의 서열은 표 2, 표 3(중쇄; VH) 및 표 4(경쇄; VL)에 제공한다. 각각의 경우에, 중쇄 및 경쇄가 유사성을 공유하기 때문에 HC-CDR 또는 VH는 원하는 발현 및 결합 활성을 확인하기 위한 일상적인 테스트를 통해 임의의 LC-CDR 또는 VL과 쌍을 이룰 수 있다.

[1042] 단일 사슬 가변 단편(scFv)은 VH-VL scFv를 형성하기 위해 VH와 VL 세그먼트 사이에 링커(예를 들어, GGGGSGGGGSGGGGSGG(서열번호: 152) 또는 또 다른 적합한 링커)를 삽입함으로써 생성할 수 있거나; 또는 VL-VH scFv는 대안적으로 작제할 수 있다. 경쇄는 높은 서열 유사성을 갖고; 완전한 항체를 생성하기 위한 VL 및 VH의 페어링은 과도한 실험 없이 결정하였다. 예시적인 scFv는 표 1에 제공하고, 예시적인 중쇄 및 경쇄는 표 3 및 4에 제공하며, 예시적인 CDR 서열은 표 2에 제공한다. MSLN scFv를 사용하는 예시적인 키메라 항원 수용체의 서열은 하기 표 20에 제공한다.

[1043] 표 20 : 단일 사슬 가변 단편(scFv)을 포함하는 수용체의 서열

#	서열 번호	수용체 서열
1	286	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAP GKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCTTDLPKLRNFHIWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP TRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
2	287	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAP GKGLEYVSAISSNGGSTYYANSVKGRFTISRDNSKNTLYLQM GSLRAEDMAVYYCASLEYHGFRQYGLRYWHWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTP APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFW VLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTP

[1044]

#	서열 번호	수용체 서열
		RRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
3	288	QLQLQESGSGLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGYSWSWIRQPP GKGLEWIGYIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVDRSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCASIKFWFAGINYFFPWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
4	289	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAP GKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCASGFLGMGSNFIWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
5	290	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHP GKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSLVTISVDTSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCASGDRARYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
6	291	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAP GKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARYPRGYHQMVDAFDIWGQGTMVTVSS

[1045]

[1046]

#	서열 번호	수용체 서열
		GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPA PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWV LVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPR RPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR
7	292	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPG KGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARVRFLAARTTIPEANFLWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP TRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
8	293	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARVLSRARFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
9	294	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARLRGRVFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHY QPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA

[1047]

#	서열 번호	수용체 서열
		EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
10	295	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPG KGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARIKFTSFLYVHGFLWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
11	296	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWVRQA PGQRLEWMGWINAGNGNTKYSQKFQGRVTITRDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARGQRWLYLGGIRRHWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPA PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWV LVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPR RPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR
12	297	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTA ADTAVYYCAREWIPSRPYYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
13	298	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCARESTGTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI

[1048]

#	서열 번호	수용체 서열
		ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
14	299	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQAP GKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTALYHCARERYRRVLHWYFDLWGRGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVL VVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRR PGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQL YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
15	300	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQAT GQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYM ELSSLRSEDTAVYYCAREPDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
16	301	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCAREHMGTIPYYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR

#	서열 번호	수용체 서열
17	302	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCAREEFGYGDVLYWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
18	303	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCAREDVVKGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
19	304	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCAREDFSHKLGYFQHWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
20	305	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDYDYVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQ PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACY SLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPY

[1049]

[1050]

#	서열 번호	수용체 서열
		APPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
21	306	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCARDRRDWDWFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
22	307	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPP GKGLEWIGEIYHSGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCARDQQALKYRVDWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
23	308	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAP GQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYM ELRSLRSDDTAVYYCARDLTLGCFDYWGQGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
24	309	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAP GKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDGSNSWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL

[1051]

#	서열 번호	수용체 서열
		NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
25	310	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARAFLFLSFSVWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
26	311	EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQAP GKGLEWVSLISWDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQM NSLRTEDTALYYCAKGIFYSSKEDFDYWGQGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
27	312	EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQAP GKGLEWVSLISWDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQM NSLRTEDTALYYCAKDIWIFYSSNPKPTVYWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVL VVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRR PGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQL YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE

[1052]

#	서열 번호	수용체 서열
		LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
28	313	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAP GQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSFDTSVSTAYLQI CSLKAEDTAVYYCARKDQTLTYGNWFDPWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS ISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVV VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPG PTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYN ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR
29	314	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGSYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSV TAADTAVYYCARDHYERGLYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHY QPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
30	315	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARYMYNWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWL AWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
31	316	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDRRPAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIA

#	서열 번호	수용체 서열
		SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHY QPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
32	317	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCAVHLKRRPYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
33	318	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCASVHKKPIFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
34	319	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCASTSRRCTFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR

[1053]

[1054]

#	서열 번호	수용체 서열
35	320	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCASTSPRPLFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
36	321	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCASPYQVRGVYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
37	322	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCASPYKKRRTVFDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
38	323	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCASLQRGLALFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH

#	서열 번호	수용체 서열
		YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
39	324	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCASILSVPYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAW YQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHY QPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
40	325	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCASGWIRVPLRLPLFQHWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIS SALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP TRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
41	326	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARVTIFAIFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAW YQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHY QPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
42	327	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARVGRGFVHFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGG

[1055]

[1056]

#	서열 번호	수용체 서열
		GGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
43	328	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARTSRGLCVLFDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
44	329	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARSGPSSYWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
45	330	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARNIYMGGIWFDPWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM

[1057]

#	서열 번호	수용체 서열
		AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
46	331	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARLTVRTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
47	332	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARLRTAHLDFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
48	333	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDLIFPVVFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
49	334	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDGYRKYGYVFFDIWGQGTMVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIS SALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT

#	서열 번호	수용체 서열
		PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP TRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
50	335	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDGRYRRFWHAFDIWGQGTMVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIS SALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP TRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
51	336	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARAHIRGYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALA WYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
52	337	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCATWMGGGGRWYFDLWGRGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIS SALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP TRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR

[1058]

[1059]

#	서열 번호	수용체 서열
53	338	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARTSRTTWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAP TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
54	339	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKWMGGGGRLYFDLWGRGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIS SALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP TRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
55	340	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKWGGRLYWYFDLWGRGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISS ALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
56	341	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKVIRQLWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAP TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH

#	서열 번호	수용체 서열
		YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
57	342	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKVFANSWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAP TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
58	343	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKVDRTTWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAP TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
59	344	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKRWGKDGPYWYFDLWGRGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQG ISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVV VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPG PTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYN ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR
60	345	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKRRDSYGPYWYFDLWGRGTLVTVSSGGG

[1060]

#	서열 번호	수용체 서열
		GSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIS SALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP TRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
61	346	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKNRPPPGYWYFDLWGRGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISS ALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
62	347	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKGRRFSWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAP TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR

[1061]

[1062] 6개의 결합제를 3세대(Gen3) 키메라 항원 수용체(CAR1-CAR6)[표 1-4 및 20에서 각각 #16, 17, 18, 29, 55 및 59에 상응함]로 발현시켰고, 이를 저캇 기능 검정에서 문헌의 항-MSLN scFv(SS1, M5 및 m912)와 비교하였다. CAR은 다양한 민감도(EC_{50}) 및 최대 반응(E_{max})을 나타냈다(**도 24a**). SS1(Gen2)을 제외한 모든 작제물은 Gen3이었다. 저캇 세포 용량 반응(RLU)을 측정하여 6시간 공동 배양 검정에서 민감도를 평가하였다: **(1)** 적정 MSLN-암호화 mRNA를 사용하여 HEK293 세포를 형질감염시켰고; **(2)** QIFIKIT(정량 분석 키트, Agilent®)를 사용하여 유세포 분석 기반 표면 발현을 MSLN 분자수/세포로 전환하였으며; **(3)** 6개의 신규 및 3개의 벤치마크 CAR의 분자수/세포 민감도(EC50)는 용량 반응 곡선을 피팅하여 계산하였다. 검정 검출 한계 미만의 민감도를 갖는 CAR의 경우, EC50은 <3000개의 MSLN 분자/세포로 보고하였다. 각 작제물에 대한 최대 신호(E_{max}) 또한 기록하였다. 실험을 1-4회 반복하였다.

[1063] 표 21은 형질도입된 1차 T 세포에 의한 HeLa 세포의 선택성 창 및 사멸 효율을 나타낸다. 활성화제 및 차단제+1차 T 세포로 MSLN+ A2- 및 MSLN+ A2+ HeLa 세포를 사멸시키는 것 사이의 선택성 창의 정량화. 사멸 효율은 활성화제+(단독) T 세포와 비교하여 활성화제 및 차단제+ T 세포에 의한 MSLN+ A2- HeLa 세포의 사멸 차이를 기재한다. 두 측정값 모두 관찰된 최대 사멸율의 80%에 상응하는 시간까지 계산된다.

[1064] 표 21

활성화제	E:T (HeLa 표적)	80% 최대 사멸까지의 시간 (h)	선택성 창	사멸 효율
hM5 CAR	4:1	28	6.9	1.2
mSS1 CAR	4:1	44	6.2	1.1
CAR 18	4:1	24	21.4	1.1
CAR 29	4:1	20	7.0	1.0
hM5 CAR	2:1	64	5.5	0.8
mSS1 CAR	2:1	72+	n/d	0.7
CAR 18	2:1	56	20.3	0.8
CAR 29	2:1	44	7.6	0.9

[1065]

[1066] n/d = 전반적으로 불량한 사멸로 인해 결정되지 않음

[1067] 6개의 결합제(CAR1-6)를 저캇 기능 검정에서 문헌의 벤치마크 MSLN scFv(SS1, M5 및 m912)와 비교하였다[12-14]. Gen2 SS1을 제외한 모두는 Gen3 CAR로 발현시켰다. MSLN(+) 표적 세포의 경우, 합성 MSLN mRNA로 형질감염된 HEK293 세포를 사용하였다. CAR은 다양한 민감도(EC_{50}) 및 최대 반응(E_{max})을 나타냈다(**도 24a**). 6개의 결합제 중 CAR 16을 제외한 모든 결합제는 hM5 및 sSS1보다 높은 민감도를 나타낸다.

[1068] 요컨대, 항-MSLN 결합제를 식별하기 위한 광범위한 캠페인을 통해 NGS 스크린에서 식별된 수백 개의 서열을 얻었고, 모두 MSLN에 결합하는 62개의 후보 작제물이 생성되었다. 이들 중 6개는 우수한 활성을 나타냈다. CAR 18 및 CAR 29는 비교 CAR 작제물에 대해 우수한 민감도를 입증하였다.

[1069] 이전 연구는 E_{max}가 수용체의 표면 발현과 관련이 있고 EC_{50}이 이의 결합 및 신호전달 특성, 특히 LBD와 관련이 있다고 제안하였다[15,16]. EC_{50}은 표준 곡선 및 필요한 QIFIKIT 방법론을 사용하여 저캇 세포의 발광에 의해 측정된 상대 반응에서 절대 분자수/세포로 전환되었다[27]. 벤치마크 CAR 중 하나(m912)는 ~80K개의 분자/세포로 추정되는 EC_{50}으로 낮은 기능적 민감도를 나타냈다. 다른 벤치마크 및 신규한 CAR에 대한 EC_{50}은 ~6K개 분자/세포의 하향 범위였다. 저캇 세포에서 CAR로 검정된 몇몇 신규한 LBD는 검출 한계 미만의 EC50을 가졌다(<3K개의 분자/세포). 선택성의 지표로서, CAR3 및 벤치마크 M5를 MSLN(+) 및 (-) 세포주 패널에 대한 반응성에 대해 테스트하였다. 두 CAR 모두 MSLN-특이적 활성화를 나타냈고 MSLN(-) 주에 대해 불활성이었다(**도 24b 및 25a**).

[1070] **MSLN Tmod 작제물은 저캇 및 1차 T 세포에서 HLA-A*02 항원에 의해 효율적으로 차단된다**

[1071] CAR이 이전에 저캇 및 1차 T 세포에서 기능적 반응을 억제하는 것으로 나타났던 A*02-지시 억제 수용체 또는 "차단제"와 쌍을 이룬 Tmod 작제물의 성분으로 CAR1-6 및 벤치마크 CAR을 테스트하였다[18]. 이러한 차단제는 ITIM-함유 LIR-1 단백질의 힌지, 막관통 및 세포내 도메인에 융합된 A*02-결합 scFv를 포함하였다(**도 22b**). 표적 세포로서 MSLN 표면 발현을 특징으로 하는 세포주를 사용하였다(**도 25a 및 25b, 도 26a 및 26b**). 모든 CAR은 A*02-지시 LIR-1 차단제에 의해 리간드-의존 방식으로 차단되었다(**도 27a**). 높은 민감도, 선택성 및 A*02 차단제와의 효과적인 기능적 페어링의 조합으로 인해, CAR3을 추가 연구를 위해 MSLN Tmod 리드 활성화제 작제물로 선택하였다.

[1072] MSLN CAR3 Tmod 작제물을 저캇 세포에서 활성화 및 차단 민감도에 대한 일련의 정량적 mRNA 적정 실험에서 자세히 조사하였다(**도 27b 및 27c**). 표적 세포의 경우, 대부분의 다른 암 세포주와 마찬가지로 내인성 MSLN을 발현하는 자궁경부 암종 HeLa 세포주를 사용하였다. 이러한 주는 HLA-A*02(-)이다. MSLN 수준을 대조하기 위해, CRISPR에 의해 MSLN이 불활성화된 변이체를 생성하였다. mRNA 적정 실험은 MSLN CAR3 Tmod 작제물에 대한 EC_{50} 및 IC_{50}의 추정을 가능하게 하였으며 이들 매개변수를 고품질 공개 데이터베이스에서 유래된 정상 및 종양 조직에 대한 항원의 발현 수준과 관련하여 검토하였다(**도 28a**).

[1073] 이러한 비교를 하기 위해, 첫 번째 단계로 MSLN mRNA와 표면 단백질 수준 사이의 상관관계를 확립하였다(**도 25b**). HLA-A에 대해서도 동일한 작업을 수행하였고 정보를 MSLN Tmod 작제물의 EC_{50} 및 IC_{50}과 비교하여 상이한 조직의 HLA-A 및 MSLN 수준을 플롯팅하는 데 사용하였다. 대부분의 정상 조직은 MSLN Tmod의 EC_{50}보다 훨씬 낮은 수준의 MSLN을 발현하였다. 대조적으로, 폐를 포함한 특정 조직은 Tmod 작제물의 EC_{50} 보다 훨씬 높은 수준에서 MSLN을 발현하였고, 따라서 효과적인 차단제가 없는 고위험으로 간주되었다. 그러나, 이러한 위험에 처한 조직은 또한 Tmod IC_{50} 초과의 HLA-A 수준을 발현하며, 이는 Tmod의 A*02-표적 LIR-1 차단제 성분에 의해 세포독성으로부터 보호될 것임을 시사한다. 기능 검정에서 정상 및 종양 조직을 모델링하는 데 사용되는 세포주(트랜스제닉 HLA-A*02 HeLa 및 MS751 포함)도 그래프에 나타낸다.

[1074] 그런 다음 MSLN CAR3 Tmod 작제물의 거동을 1차 T 세포에서 테스트하였다. 세포독성이 주요 판독값이었고, IFN-γ 분비가 2차 측정값이었다. 표적 세포는 다음과 같은 HeLa 세포 및 변이체였다: (i) 차단 항원 없는 종양 세포를 모델링한 천연 MSLN(+)A*02(-) HeLa 세포; 및 (ii) 정상 중피 세포를 모델링한 트랜스제닉 A*02(+) 변이체 HeLa 세포. 상이한 작제물 및 표적 세포의 조합은 모든 MSLN CAR Tmod 작제물이 종양 세포를 강력하게 사멸시키고 A*02-리간드-의존 방식으로 사멸을 차단함을 입증하였다(**도 28b**). 비교를 위해 문헌으로부터의 2개의 다른 MSLN CAR(SS1 및 M5)을 사용하였다(**도 29a**). 세포독성은 IFN-γ 방출(**도 29b**) 및 T 세포 활성화(**도 29c**)에 의해 반영되었다. 따라서, HLA-A*02-지시 차단제 및 상이한 MSLN CAR 활성화제로 구성된 Tmod 작제물은 저캇 및 1차 T 세포 검정 둘 모두에서 MSLN(+)A*02(-) 표적 세포에 대해 높은 효능 및 특이성을 나타냈다.

[1075] **<u>MSLN CAR3 Tmod 작제물은 혼합 세포 및 연속 배양물에서 선택적이고 가역적인 세포 독성을 매개한다</u>**

[1076] 암 세포 요법과 관련하여 중요한 MSLN CAR3 Tmod 작제물의 다양한 기타 특성을 테스트하였다. 작제물은 종양 및 정상 표적 세포의 혼합 배양물에서 항원 선택적 세포 독성을 매개하였다: RFP로 표지된 천연 MSLN(+)HLA-A*02(-) HeLa 세포를 GFP로 표지된 MSLN(+)A*02(+) 세포와 상이한 농도로 혼합하였다. 이러한 공동 배양물을 상이한 수용체 작제물로 조작된 T 세포에 노출시키고 영상화하였다. CAR-단독 작제물은 무차별적으로 사멸시킨 반면, Tmod 작제물은 천연 HeLa 종양 세포만을 사멸시켰고, A*02(+) 세포는 무해하게 남겼다(**도 30a**). 선택성은 9:1의 정상:종양 세포 비율에서도 검출 가능하였다(**도 30b**, **도 31a 및 31b**).

[1077] ON(활성 사멸) 상태와 OFF(차단됨) 상태 사이를 전환하는 Tmod 세포의 능력을 세포독성 검정을 판독값으로 사용하여 검사하였다. 이러한 실험에서, 형질도입된 T 세포를 표적 세포의 한 배치에서 다른 배치로 옮겼다(**도 32a, 도 33a**). Tmod 세포는 정지 상태인 정상 세포에 2일 동안 노출된 후 활성화 및 사멸 능력을 나타냈다. 그 반대도 마찬가지였다. 종양 세포를 사멸시키는 데 관여하는 Tmod 세포는 빠르게 OFF 상태로 전환할 수 있었고 이동 후 휴지 기간 없이 정상 세포 사멸을 자제할 수 있었다. 상태를 전환하는 기능은 총 4일에 걸쳐 2주기 동안 유지되었다.

[1078] 일부 암 환자의 혈액에 높은 수준(중앙값 ~200ng/ml; 범위 20-2,000ng/ml[19])으로 존재하는 가용성 MSLN(sMSLN)이 MSLN CAR3 Tmod 세포를 방해하는지 여부를 조사하였다. 500ng/ml로 배양물에 첨가된 sMSLN은 CAR 또는 Tmod T 세포의 기능에 영향을 미치지 않았다(**도 33b 및 33c**).

[1079] 마지막으로, CAR3 및 CAR3 Tmod 세포는 IFN-γ에 의한 표적 세포의 제2 억제 자극인 PD-L1의 상향 조절에 다르게 반응하지 않았으며, 이는 차단제 기능이 체크포인트 활성화에 의해 크게 영향을 받지 않는다는 것을 시사한다(도 40). 동시에, 이러한 결과는 MSLN CAR3 Tmod가 종양 및 정상 세포의 혼합 배양물에서 선택적이고 가역적인 세포독성을 매개하고 일부 암 환자의 혈액에서 관찰되는 수준에서 sMSLN에 의해 영향을 받지 않는다는 것을 시사하였다. 이러한 모든 기능은 선별된 암 환자에게 안전하고 효과적일 가능성이 있는 세포 요법과 일치한다.

[1080] **<u>MSLN CAR3 Tmod 세포는 검출 가능한 오프-타겟 활성을 표시하지 않는다</u>**

[1081] MSLN CAR3 Tmod 세포의 오프-타겟 반응성을 체계적으로 조사하기 위해, 저캇 세포 활성화를 대부분의 성인 유전자 발현을 포함하도록 선택된 표적 세포주 패널로 테스트하였다(Wang 등, 준비 중; 방법 참조). 이펙터 세포가 MSLN(+) 세포주에 의해 활성화될 수 있음을 확인하기 위해 양성 대조군을 사용하였고, 반응에 대한 기준선을 설정하기 위해 음성 대조군을 사용하였다(**도 26b**; **도 32b**). ~1,000개의 분자/세포로 추정되는 검정의 높은 민감도에도 불구하고 CAR3 Tmod 저캇 세포에서 검출 가능한 반응이 촉발되지 않았다.

[1082] **MSLN CAR3 Tmod 작제물은 이종이식편 모델에서 종양 세포의 선택적인 사멸을 매개한다**

[1083] MSLN CAR3 Tmod 세포의 생체 내 거동을 조사하기 위해, 마우스 이종이식편 모델을 사용하였다. 면역손상된(NSG) 마우스에서 HeLa 세포가 잘 성장하지 않아 또 다른 자궁경부암 세포주인 MS751을 이식되는 표적 세포로 개발하였다. 천연 MSLN을 활성화제 항원으로 사용하고 차단제 항원 HLA-A*02를 정상 조직 수준에 더 근접하도록 유전자 전달에 의해 조작하였다. 이러한 생체 내 실험에서 HLA-A*02의 CRISPR 녹아웃에 의해 생성된 MSLN(+)A*02(-) MS751 세포는 종양을 모델링하는 반면 MSLN(+)A*02(+) 트랜스제닉 변이체는 정상 세포를 모델링하였다.

[1084] 종양 생존 및 성장의 독립적인 판독값으로서 생체발광을 가능하게 하기 위해 세포주를 루시퍼라제로 조작하였다. 마우스(10 마리/코호트)에 대해, 각각의 코호트의 절반의 마우스에는 왼쪽 옆구리에 종양 세포를 이식하고 오른쪽 옆구리에 정상 세포를 이식하고 옆구리 성장 편차를 대조하기 위해 나머지 절반에는 그 반대를 이식하였다(**도 34a**). 이종이식편의 부피가 ~100-150 mm^3에 도달한 후, 마우스에 2E7개의 총 T 세포/마우스를 꼬리 정맥을 통해 주입하였다. 짧은 지연 후, CAR 및 Tmod 작제물 둘 모두 캘리퍼 및 생체발광 강도에 의해 측정하여 MSLN(+)A*02(-) 종양 세포를 동일하게 잘 사멸시켰다(**도 34b 및 34c**, **도 35b 및 35c**). CAR-단독 T 세포가 동일한 효과로 종양 및 정상 둘 모두를 사멸시킨 반면, Tmod 세포는 종양 이식편만을 사멸시켰으며, 이는 시험관내 세포독성을 반영한다(**도 14a**). Tmod 세포의 존재하에, 정상 세포 이식편은 형질도입되지 않은 T 세포 또는 식염수로 처리된 대조군의 이식편과 유사하게 성장하였다. 이러한 결과는 포유류 신체에서 MSLN Tmod 시스템의 선택성을 극적으로 입증하였으며, 이는 관찰된 다른 활성화제-차단제 쌍과 일치한다(Sandberg 등, 투고됨; [18]).

[1085] **MSLN CAR Tmod 플랫폼의 확장**

[1086] HLA-A*02-표적화 차단제의 사용은 차단제가 자가유래 T 세포에서 생산된 내인성 HLA-A*02 분자에 의해 *시*스로 결합될 수 있는 가능성을 높인다. 실제로, 감소된 차단제 결합이 천연 저캇 A*02(-) 세포와 비교하여 형질감염된 트랜스제닉 A*02(+) 저캇 세포에서 HLA-A*02 사량체로 관찰되었다(**도 36**). HLA-A*02(-) 공여자 T 세포와 비교하여 MSLN CAR3 Tmod 또는 SS1 Tmod 작제물로 형질도입된 HLA-A*02(+) 공여자로부터의 1차 T 세포에서 유사한 감소가 관찰되었다(**도 36, 도 37a**). 더 중요하게는, 이러한 감소된 결합은 A*02(-) 대응물에 비해 A*02(+) 저캇 및 1차 T 세포 둘 모두에서 불량한 차단제 기능으로 전환되었다(**도 36, 도 37b 및 37c**). 이러한 관찰은 시스-결합이 A*02-지시 차단제를 활용하는 자가유래 MSLN CAR3 Tmod 생성물에 대해 어떻게 문제를 제기할 수 있는지를 보여주었다.

[1087] 이 문제를 해결하기 위해, 발명자는 내인성 β2 마이크로글로불린(B2M)의 shRNA 또는 CRISPR 불활성화를 기반으로 솔루션을 개발하였다. B2M은 모든 HLA 클래스 I 발현에 필요하기 때문에 이 접근법은 HLA-A*02의 시스-결합 효과를 완화할 것으로 예상되었다. 예측된 바와 같이, 1차 T 세포에서 B2M의 녹아웃 또는 녹다운은 차단제 결합 및 기능을 A*02(-) 공여자 T 세포에 필적하는 수준으로 회복시켰다(**도 37a-37f**). 따라서, 시스-결합의 shRNA- 또는 CRISPR-매개 폐기는 HLA-A*02(-) 공여자에서의 기능과 구분할 수 없는 HLA-A*02(+) 공여자에서의 기능적 특성을 가진 MSLN Tmod 세포를 생산하였다. 흥미롭게도, CAR3이 인간화 scFv를 함유한 차단제와 쌍을 이루었을 때, 차단제 기능은 시스-결합 솔루션이 없는 경우에도 주로 유지되었다(도 37f). 이러한 결과는 환자의 T 세포에서 A*02의 발현을 감소시키기 위한 방법을 사용한다면 MSLN CAR3 Tmod 작제물이 동종이계 세포 치료 및 자가유래 생성물에 적합할 수 있음을 시사한다.

[1088] **MSLN CAR3는 HLA-A*11-지시 차단제와 쌍을 이룰 수 있다**

[1089] A*02-지시 차단제를 활용하는 MSLN CAR3 Tmod 작제물의 인상적인 성능은 CAR3가 다른 HLA 클래스 I 대립유전자에 의해 개폐되는 차단제와 쌍을 이룰 수 있음을 시사하였다. 사실이라면, Tmod 플랫폼을 HLA-A*02에 대해 이형접합성이 아닌 집단의 >60%로 추정되는 수치의 환자를 치료하는 데 사용할 수 있다[20]. MSLN Tmod 시스템의 모듈성 개념 증명을 위해, 아시아 인구에서 가장 흔한 클래스 I 대립유전자인 HLA-A*11을 연구하였다[20]. A*11-선

택적 scFv에 대한 스크리닝을 MSLN scFv의 단리에 대해 기재된 것과 동일한 방법을 사용하여 수행하였다(하기 방법 참조). 포유류 scFv-디스플레이 라이브러리를 사용하는 일련의 농축 단계는 여러 A*11-특이적 scFv를 생성하였다(**도 38a**).

[1090] 하나의 고성능 scFv(A*11-LBD4 서열번호: 1269)를 LIR-1에 융합하였고 저캇 세포에서 MSLN CAR3 활성화제와 쌍을 이루었다. 이 A*11 차단제는 mRNA 적정 실험으로부터 ~37,000개의 분자/세포로 추정되는 IC_{50}으로 우수한 기능을 입증하였다(**도 38b**). 마지막으로, A*11 차단제와 쌍을 이루는 MSLN CAR3는 차단제 항원으로서 HLA-A*02를 이용하는 MSLN CAR3 Tmod 작제물에 필적하는 효능 및 차단으로 저캇 세포 및 1차 T 세포에서 우수하게 기능하는 것으로 확인되었다(**도 39a-39c**). 이러한 결과에 힘입어 본 발명자는 A*03(서열번호: 1268) 및 B*07(서열 번호: 1270)을 표적화하는 2개의 다른 항-HLA-I 모노클로날 항체를 scFv로 전환시키고 이들을 MSLN Tmod 차단제로서 테스트하였다(**도 39a**). 이러한 발견은 Tmod 시스템이 하나의 활성화제와 여러 차단제의 페어링을 수용할 수 있을 만큼 충분히 모듈화되어 있어 더 많은 환자에게 세포 치료 플랫폼의 접근성을 확장할 수 있음을 시사한다.

[1091] ***고찰***

[1092] 성인 신체의 MSLN 분포[1, 2, 4]를 고려할 때, 차단제가 MSLN 표적 활성화제와 함께 우수하게 기능하는 것이 중요하다. 본원에 기재된 A*02 차단제의 특성은 광범위한 MSLN 항원 수준에 걸쳐 CAR에서 발생하는 활성화 신호를 억제할 것임을 시사한다. 또한 차단제는 오프-타겟을 포함하는 CAR에 의해 촉발되는 T 세포 활성화의 다른 공급원을 억제할 가능성이 있다. HLA 차단제 항원은 유핵 세포에서 편재적으로 발현되기 때문에 LOH로 선택된 종양에서와 같이 차단제 항원이 없는 경우를 제외하고는 모든 상황에서 억제 신호를 제공해야 한다. 차단제는 또한 자극이 정상 세포 또는 세포 단편과 수반되는 경우 T 세포 요법에서 관찰되는 지속적인 독성 원인인 사이토카인 방출 증후군[14, 33]을 예방할 수 있다.

[1093] 본원에 기재된 MSLN 치료 후보는 차단제-항원 대립유전자에 대한 생식계열 이형접합성이고 종양이 LOH를 통해 이 대립유전자를 소실한 환자의 선별이 필요하다. 다행스럽게도, DNA 시퀀싱 기술의 엄청난 힘을 활용하는 이러한 진단 검사가 최근 개발되었다[27-29]. DNA-서열-기반 LOH 검출은 종양에서 대부분의 클론 대 하위 클론 LOH 사례를 구별할 수 있는 충분한 민감도를 가지고 있으므로 치료의 혜택을 받을 가능성이 가장 높은 환자를 더 정확히 선별해 낸다. 이 진단 방법은 종양의 게놈 서열을 이용하기 때문에 모든 대립유전자 변이를 검출하고 HLA-A*02에 제한되지 않는다. 본원에 기재된 리드 MSLN Tmod 작제물은 HLA-A*02(+) 환자의 하위 집합에 적용할 수 있다. Tmod 플랫폼을 다른 환자에게 확장하려는 목표를 가지고, 본 발명자는 MSLN CAR3 활성화제가 HLA-A*11을 포함한 3개의 다른 HLA-I 대립유전자 생성물에 대한 차단제와 쌍을 이룰 수 있음을 보여주었다. A*11은 대부분의 아시아인 인구에서 가장 빈번한 HLA-I 대립유전자이며 미국 이외의 세계 일부 지역에서 혜택을 받을 수 있는 중요한 기회를 나타낸다. 실제로, 세계에서 가장 흔한 HLA-I 대립유전자 중 6-8개에 대한 차단제 모음으로, 현재 고형 종양 사망률의 >15%로 추정되는 HLA 유전자좌에 LOH가 있는 대부분의 고형 종양을 다루는 것이 가능해야 한다[22, 30]. 또한, 본 발명자는 병행 연구에서 HLA-A*02 차단제가 또 다른 잘 알려진 종양 연관 항원인 CEA에 대한 CAR을 포함하여 다른 활성화제와 효과적으로 쌍을 이룰 수 있음을 보여주었다(Sandberg 등, 준비중; 31).

[1094] 모듈식 Tmod 시스템은 치료 방식 중에서 고유한 세포의 능력을 활용하여 여러 신호를 조정된 반응으로 통합하므로 고형 종양 요법의 근본적인 장애물을 해결할 수 있는 수단을 제공한다[18, 21, 22]. 치료제는 종양에 접근하고 세포 치료제가 효과적임이 입증된 혈액암에 존재하지 않는 장벽을 극복해야 한다[23]. T 세포는 활성 혈관외 유출 및 생체 분포에 대한 자연적 메커니즘을 가지고 있다는 점에서 항체를 포함한 대부분의 다른 방식에 비해 이점이 있다(검토에 대해서는 Mastrogiovanni 등 [24] 참조). 또한, LOH를 이용하는 본원에 기재된 Tmod 접근법은 대부분의 표적의 정상 조직 발현에 의해 제기된 고형 종양 치료제에 대한 주요 제약을 완화한다. 균질하지 않은 것으로 악명이 높지만, 대부분의 유전적 변경은 신생물의 기초 세포에서 발생하고 모든 후손에 존재한다[25]. 이러한 균질 돌연변이에는 LOH가 포함되며, 이러한 클론 LOH가 진단 테스트를 통해 종양에 존재하는 이후의 변경과 구별될 수 있다면 HLA 유전자좌의 LOH 이종성이 내성의 원인이 되어서는 안된다[26]. 대부분의 신생 항원을 생성하는 단일 뉴클레오티드 치환과 달리 LOH는 돌이킬 수 없는 사건이며 치료를 통해 강한 선택적 압력이 가해진 후에도 안정적이어야 한다. 마지막으로, 체크포인트 억제제의 사용이 보편화됨에 따라 HLA-I 소실률이 증가하여 MSLN Tmod 치료제의 혜택을 받을 수 있는 환자 풀이 더욱 확대될 것이다[34].

[1095] **재료 및 방법**

[1096] ***세포주 배양***

[1097] 세포주는 ATCC(American Type Culture Collection)에서 구입하였고 제조업체의 지침에 따라 처리하였다: T2, Shp77, Raji, MS751, A-375, A-498, SW982, SW480, HeLa, NIH-OVCAR-3, HepG2, NCI-H508, LNCaP 클론 FGC, K562, U2OS, BB7.1 및 GAP A3 하이브리도마. NFAT 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 저캇 세포는 BPS Bioscience로부터 수득하였고 10% 열-불활성화(HIA) FBS(56℃에서 1시간 동안 불활성화됨), 1% 페니실린 및 스트렙토마이신(pen/strep) 및 0.4 mg/ml 제네티신이 보충된 RPMI에서 유지하였다. 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)는 Stem Cell Technologies로부터 수득하여 5% HIA 인간 AB 혈청이 보충된 X-VIVO 15(Lonza)에서 해동하고 제조업체에서 권장하는 대로 T Cell TransAct(Miltenyi Biotec)로 활성화하였다. CAR 또는 CAR Tmod 단일 벡터 작제물의 렌티바이러스 형질도입(달리 언급되지 않는 한, 도 1b 참조)은 활성화 24시간 후에 수행하였고 배양물은 1% HIA 인간 AB 혈청 및 300 IU/mL IL-2가 보충된 LymphoONE T 세포 확장 배지(Takara Bio)에서 유지하였다.

[1098] ***분자 클로닝 및 mRNA 시험관 내 전사***

[1099] 활성화 및 차단 CAR 작제물은 이전에 기재된 바와 같이 설계 및 구성하였다[9]. 요약하면, 항-MSLN scFv LBD를 CD8α 힌지, CD28 막관통(TM), 및 CD28, 4-1BB 및 CD3ζ 세포내 도메인(ICD)에 융합시켜 활성화 CAR을 생성하였다. 차단 CAR은 LIR-1의 힌지, TM 및 ICD 도메인에 모노클로날 항체 PA2.1[32], GAPA3[36](서열번호: 1259) 또는 BB7.1[37](서열번호: 1257) 각각으로부터 유래된 항-HLA-A*02, A*03 또는 B*07 scFv LBD를 융합하여 생성하였다. 골든 게이트 클로닝을 사용하여 유전자 세그먼트를 조합하고 렌티바이러스 발현 벡터에서 인간 EF1α 프로모터의 다운스트림에 삽입하였다.

[1100] 메신저 RNA(mRNA) 제조를 위해 PCR을 사용하여 시험관 내 합성 mRNA에 사용되는 DNA 주형을 생성하였다. 요약하면, N-말단 프라이머를 통해 T7 프로모터를 도입하였고 N- 및 C-말단 프라이머 둘 모두에 공통 오버행 영역을 사용하였다. PCR 생성물은 T7 ARCA mRNA 키트(New England Biolabs, E2060S)를 사용하여 시험관 내 전사(IVT)를 위한 주형으로 사용하였다. IVT 반응물은 1x ARCA/NTP 믹스, 1.25mM Ψ-UTP(TriLink), 25ug PCR 생성물 주형 및 1x T7 RNA 중합효소를 포함하였다. IVT 반응물을 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션한 다음, 2uL의 DNase I(New England Biolabs, M0303S)를 각 반응물에 첨가하고 37℃에서 15분 동안 인큐베이션하였다. IVT 반응물에 65uL 물, 10uL 10x 폴리아데닐화 반응 완충액(NEB M0276S) 및 5uL 폴리아데닐화 효소(NEB M0276S)를 첨가하여 총 부피가 ~100uL가 되도록 하였다. 반응물을 37℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 Monarch RNA 클린업 키트(T2040L)를 사용하여 생성물을 세척하였다.

[1101] ***포유류 디스플레이를 사용한 MSLN 및 HLA-A*11 결합제 생성***

[1102] HuTARG 포유류 디스플레이 기술을 사용한 결합제 생성은 이전에 기재되었다(특허 번호: US 8,012,714 B2; Wang 등, 발행 중). MSLN 결합제 생성을 위해, 가용성 MSLN(카탈로그 번호 MSN-H82E9) 및 무관한 오프-타겟 단백질인 EGFR 및 CEA를 Acro Biosystems에서 구입하였다. HuTARG 라이브러리는 형광 활성화 세포 분류(FACS)를 사용하여 일련의 온-타겟 농축 및 오프-타겟 고갈을 거쳤다. HLA-A*11 결합제 생성 캠페인도 유사하게 수행하였다. HuTARG 라이브러리는 HLA-A*11:01 사량체를 사용한 온-타겟 농축 및 4개의 관련 없는 HLA 클래스 I 사량체 풀을 사용한 오프-타겟 고갈을 거쳤다. 두 캠페인의 최종 라운드에서 온- 및 오프-타겟 결합 세포를 수집하고 RNA를 cDNA로 역전사하였다. 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 단편을 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 사용하여 증폭하고 차세대 시퀀싱(NGS)으로 시퀀싱하였다. 입력 및 출력 NGS 계수를 비교하여 관심있는 결합제를 선택하였다.

[1103] ***MSLN 표면 정량화***

[1104] 표면 메소텔린 분자를 정량화하기 위해, 부착 세포를 먼저 DPBS로 한 번 세척한 다음 Versene으로 한 번 세척하였다. 세포를 Versene으로 코팅하고 37℃에서 ~15분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 완전한 분리를 촉진하기 위해 플라스크를 세게 두드렸다. 그런 다음 세포를 1:2 비율(Versene:DPBS)의 DBPS로 희석하고 계수하였다. 300,000개의 세포를 500xg에서 5분 동안 원심분리하였다. 세포를 300 uL 1x FACS 완충액(DPBS + 1% BSA)에 재현탁시켰다. 100uL의 분취량을 2개의 v-바닥 웰에 나누었다. 세포를 100uL FACS 완충액으로 한 번 더 세척한 다음, 얼음 위에서 30분 동안 10ug/mL의 항-MSLN 항체(R&D Systems, 클론 618923) 100uL로 염색하였다. 1차 염색 후, 세척을 위해 QIFIKIT(Agilent)의 50uL 보정 비드를 첨가하였다. 혼합물을 100uL FACS 완충액으로 2회

세척한 다음, FACS 완충액에 2000x로 희석된 100uL 항-마우스 F(ab')2-염소 Alexa Fluor 647(Invitrogen) 항체로 얼음 위에서 45분 동안 염색하였다. 염색된 세포 및 비드를 100 uL FACS 완충액으로 2회 세척한 다음, 100 uL FACS 완충액에 재현탁하여 형광을 측정하였다. QIFIKIT(Agilent)에서 제공한 제조업체의 프로토콜에 따라 각 비드 집단의 형광 강도의 중앙값 대 분자 수를 플롯팅하는 보정 곡선을 플롯팅하였다. 내인성 MSLN 분자 수는 QIFIKIT 비드로 생성된 보정 곡선에 세포의 형광 강도의 중앙값을 피팅하는 방식으로 결정하였다.

[1105] ***MSLN 활성화제 및 다양한 차단제 민감도 결정***

[1106] 활성화제 또는 차단제 민감도를 결정하기 위해, 항원을 다양한 농도의 항원(-) 세포주로 적정하였다. 그런 다음 표준 곡선을 사용하는 유세포 분석법 및 QIFIKIT 방법론[17]을 사용하여 절대 분자수/세포를 계산할 수 있었다. 저캇 세포에서 발현되는 활성화제 또는 차단제 각각의 EC_{50} 또는 IC_{50} 값을 발광에 의해 측정하였다. 구체적으로, 4D 뉴클레오펙션 키트(Lonza)를 사용하여 항원 mRNA로 HEK293T 또는 HeLa 세포 형질감염을 수행하였다. 단일 항원 적정(즉, MSLN, HLA-A*02, HLA-A*11, HLA-A*03, HLA-B*07)의 경우, mRNA는 HEK293T 또는 HeLa 세포에 대해 각각 보충 용액(완전 완충액)이 보충된 SE 또는 SF 완충액에 1000 ng/uL로 희석하였다. 희석된 mRNA는 스톡 mRNA를 동일한 부피의 완전 완충액에 13회 첨가함으로써 연속적으로 2x 희석하였으며, 15번째 웰에는 첨가된 mRNA가 전혀 없었다. 표적 세포는 TrypLE Express(Gibco)를 사용하여 플라스크에서 분리시켰다. 적절한 수의 세포를 수확한 다음 완전 완충액에 11.1e6개의 생존 세포/mL로 재현탁하였다. 22.5 uL의 재현탁된 세포를 2.5 uL의 연속적으로 희석된 mRNA에 첨가하여 25 uL 세포 및 mRNA 혼합물의 최종 부피를 얻었다. 20 uL의 이 샘플을 HEK293T 세포용 CM-130 프로그램 또는 HeLa 세포용 CN-114 프로그램을 사용하는 4D 뉴클레오펙터를 사용하여 재핑(zapped)하였다. 세포를 280uL의 MEM + 10% FBS + 0.1% P/S로 옮겼다. 15 uL의 희석된 세포를 384-웰 플레이트로 옮기고 37℃, 5% CO_2에서 18-24시간 동안 인큐베이션하였다. 나머지 희석된 세포를 96-웰 플레이트로 옮기고 다음날 상기 기재된 바와 같이 QIFIKIT를 사용하여 표면 항원 발현의 분석을 위해 보관하였다. 동시에, 저캇-NFAT 루시퍼라제 이펙터 세포는 다음 매개변수를 사용하는 네온 전기천공 시스템을 사용하여 1e6개의 세포당 1ug의 적절한 CAR DNA 또는 1e6개의 세포당 4ug의 CAR Tmod DNA(달리 언급되지 않는 한 단일 벡터 작제물)로 형질감염시켰다: 1500V, 10ms, 3펄스. 형질감염된 세포를 20% 열-불활성화(HIA) FBS 및 0.1% pen/strep이 보충된 예열된 RPMI로 즉시 옮기고 37℃, 5% CO_2에서 18-24시간 동안 인큐베이션하였다. 다음으로, 저캇 세포를 계수하고 RPMI + 10% HIA FBS 및 0.1% pen/strep에 mL당 0.67e6개의 세포로 재현탁하였다. 그런 다음 15uL에 1e4개의 재현탁된 저캇 세포를 384-웰 플레이트에서 6시간 동안 형질감염된 세포와 공동 배양하였다. 루시퍼라제 활성은 ONE-Step 루시퍼라제 검정 시스템(BPS Bioscience)을 사용하여 측정하였다.

[1107] MSLN 및 HLA-A*02를 포함하는 표적 세포 공동-형질감염의 경우, mRNA 희석 단계에 대한 약간의 조정을 제외하고 상기 프로토콜을 사용하였다. HLA-A*02 및 MSLN을 암호화하는 mRNA는 각각 Aldevron 및 TriLink에서 제조하였다. 간단히 말해서, EC_{50} 곡선을 생성하기 위해, MSLN mRNA로 14-포인트 2x 연속 희석을 수행하였다. 이 연속 희석액은 MSLN mRNA의 최고 농도가 500ng/ul이고 A*02 mRNA 농도가 다음과 같도록 다양한 일정량의 A*02 mRNA의 4가지 희석액 각각과 조합하였다: 500ng/uL, 25ng/ul, 1.25ng/uL 및 0ng/uL. IC_{50} 곡선을 생성하기 위해, A*02 mRNA로 14-포인트 2x 연속 희석을 수행하였다. 이 일련의 희석액은 A*02 mRNA의 최고 농도가 500ng/uL이고 MSLN mRNA 농도가 다음과 같도록 다양한 일정량의 MSLN mRNA의 4가지 희석액 각각과 조합하였다: 125ng/uL, 25ng/ul, 5ng/uL 및 1ng/uL.

[1108] ***1차 T 세포 시험관 내 세포독성 검정***

[1109] Gen2 M5 CAR, MSLN CAR3 또는 CAR3 Tmod 단일 벡터 작제물로 형질도입된 1차 T 세포에 의한 MSLN(+)A*02(-)RFP(+) 종양 또는 MSLN(+)A*02(+)GFP(+) 정상 표적 세포의 사멸은 이전에 기재된 대로 평가하였다[9]. 요약하면, 2,000개의 표적 세포를 검은색 투명한 바닥의 384-웰 플레이트에서 웰당 25 uL의 완전한 LymphoOne 배지(1% HIA 인간 AB 혈청 함유)에 플레이팅하고 37℃에서 5% CO_2로 밤새 부착되도록 하였다. 혼합 배양 검정의 경우, 표적 세포를 접종하기 전에 원하는 비율로 미리 혼합하였다. 표적 세포 플레이팅 ~16-18시간 후, T 세포를 계수하고, 300xg에서 10분 동안 회전시키고, 효과적인 이펙터:표적(E:T) = 1:1(또는 원하는 E:T에 따라 다소 농축됨)을 위해 25 uL 완전 LymphoOne 배지에 2,000개의 CAR(+) 또는 Tmod(+) T 세포로 재현탁하고(추가 사이토카인이 부재하에) 표적 세포 위에 부드럽게 플레이팅하였다. sMSLN을 포함한 실험을 위해, T 세포를 표적 세

포로 플레이팅할 때 500ng/mL의 최종 농도를 위해 1000ng/mL(2x) 가용성 단량체 MSLN(Acro Biosystems)을 함유하는 LymphoOne 배지에 재현탁하였다. 각 샘플은 3중 웰에서 테스트하였다. 공동 배양 30분 이내에, 플레이트는 Incucyte 이미저를 사용하여 GFP(+) 또는 RFP(+) 표적 세포 발현에 대해 영상화하였으며 이후 최대 48시간 동안 2-4시간마다 일련의 이미지를 수득하였다. 표적 세포 영역(즉, 이미지당 GFP(+) 또는 RFP(+) 총 면적)의 정량화는 Incucyte 영상화 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 플레이팅 변동성은 웰당 시간 = 0에서 영역으로 정규화하여 설명하였다. 이어서, 사멸을 비형질도입 T 세포 웰로 정규화된 상응하는 비형질도입 T 세포 웰에 대한 CAR 또는 Tmod T 세포 웰 사이의 면적 차이로서 정량화하였다(% 사멸 = $(A_{\text{비형질도입}} - A_{\text{CAR 또는 Tmod}})/A_{\text{비형질도입}}$).

[1110] 1차 T 세포에서 HLA-A*11 차단제 평가를 위해, 천연 수준의 MSLN 및 트랜스제닉 HLA-A*11 항원을 발현하는 HeLa 표적 세포를 사용하여 상기 기재된 바와 같이 세포독성 검정을 수행하였다.

[1111] 공동 배양 48시간 후 사이토카인 분비 및 상대적인 T 세포 활성화를 추가로 평가하기 위해, 각 웰의 T 세포 함유 배지를 혼합하고 v-바닥 플레이트로 옮기고 400 xg에서 5분 동안 회전시켰다. 제조업체의 지시에 따라 BD 인간 IFN-γ 플렉스 키트를 사용하여 상청액을 수집하고 분비된 IFN-γ에 대해 추가 분석할 때까지 동결시켰다. 그런 다음 남은 T 세포를 인간 CD3에 대해 염색하고, 세척하고, 유세포측정법으로 전방 및 측면 산란을 특징화하였다[35].

[1112] ***반복 항원-챌린지 검정(RACA) 및 가역성 검정***

[1113] RACA 및 가역성 검정은 이전에 기재된 대로(Wang 등, 발행 중[18]) 약간의 변형을 거쳐 수행하였다. 간략하게, CAR 또는 Tmod 형질도입된 1차 T 세포는 효과적인 E:T = 1.2:1로 상기 기재된 바와 유사하게 MSLN(+)A*02(-) RFP(+) 종양 또는 MSLN(+)A*02(+) GFP(+) 정상 표적 세포와 공동 배양하였다. 1 라운드 이미지는 384-웰 플레이트 형식으로 48시간 동안 촬영하였다. 250,000개의 표적 세포와 300,000개의 CAR3(+) 또는 CAR3 Tmod(+) T 세포가 있는 병렬 6-웰 플레이트도 벌크 T 세포 단리 및 라운드 간 이동을 허용하도록 설정하였다. 48시간 후, T 세포 함유 배지를 부드럽게 혼합하고 원추형 튜브로 옮겼다. 살아있는 표적 세포와 맞물린 나머지 T 세포는 PBS 중 10mM EDTA + 0.5% BSA로 1분 동안 한 번 헹구어 더 해리하고 벌크 T 세포 분획과 조합하였다. 그런 다음 이 세포(표적 세포 잔해물 및 들어 올려진 표적 세포와 함께)를 회전시키고, 세척하고, 항-MSLN, 항-EGFR 및 항-N-카드헤린 PE-접합 항체 칵테일로 염색하여 바람직하지 않은 표적 세포를 염색하였다. 그런 다음 이러한 표적 세포를 항-PE MACS 비드에 접합한 다음 LS 컬럼을 통해 고갈시켜 깨끗한 T 세포 분획을 생성하였다. 그런 다음 T 세포를 계수하고 2 라운드(1 라운드와 유사)를 위해 신선한 종양 또는 정상 표적 세포에 재시딩하였다. 그런 다음 영상화 및 정량화를 1 라운드에서와 동일하게 진행하였다.

[1114] ***MSLN 녹아웃 세포주 생성***

[1115] 내인성 MSLN(+) 세포주에 대한 MSLN(-) 세포주 대조군을 개발하기 위해, 전장 MSLN을 표적으로 하는 CRISPR 전략을 활용하였다. 메소텔린의 상이한 엑손을 표적화하는 2개의 Alt-R CRISPR-Cas9 sgRNA는 Integrated DNA Technologies(IDT)로부터 수득하였으며, sgRNA_1은 엑손 2를 표적화하고 sgRNA_2는 엑손 16을 표적화한다. sgRNA는 뉴클레아제가 없는 물에서 재수화하여 Alt-R® S.p. HiFi Cas9 뉴클레아제 V3(IDT)과 조합하여 9:1 sgRNA:Cas9 몰비를 생성한다. 두 RNP 용액은 각각의 가이드가 Cas9와 독립적으로 복합체화할 수 있도록 별도로 실온에서 10-20분 동안 인큐베이션하였다. 이후 두 가이드의 RNP 복합체를 조합하고 제조업체의 지침에 따라 원하는 세포에 첨가하고 전기천공하였다. CRISPR 후, 세포를 확장하고 MSLN(-) 집단(R&D, 항-MSLN pAb 또는 클론 #618923)에 대해 분류하였다. 그 후 벌크-분류된 MSLN(-) 세포를 저캇 세포 기반 검정에서 MSLN 결합제에 대해 스크리닝하였다.

[1116] ***저캇 세포를 사용한 선택성 스크리닝***

[1117] MSLN CAR3 Tmod 세포의 오프-타겟 반응성을 탐색하기 위해, 저캇 세포 활성화를 다른 곳에서 기재한 것과 유사하게 성인 유전자 발현의 대부분을 포괄하도록 선택된 다양한 표적 세포주 패널에 대해 테스트하였다(Wang 등, 준비 중). 이펙터 세포가 MSLN(+) 세포주에 의해 활성화될 수 있음을 확인하기 위해 양성 대조군을 사용하였고, 반응에 대한 기준선을 설정하기 위해 음성 대조군을 사용하였다(세포주 특징화에 대해 도 26b 및 28a 참조). 간략하게, 저캇-NFAT-루시퍼라제 세포를 일시적으로 형질감염시켜 정확히 상기 기재된 바와 같이 CAR 또는 CAR3 Tmod를 발현시켰다. 동시에, 내인성 MSLN(+) 표적 세포는 상기 기재된 바와 같이 CRISPR을 사용하여 생성된 각각의 MSLN(-) 대조군 표적 세포와 함께 384-웰 플레이트 형식에 웰당 15 uL 완전 RPMI(10% FBS 및 1% P/S 함유)에 1e4개의 표적 세포로 플레이팅하였다. 형질감염 대략 18시간 후, 1e4개의 저캇 세포를 각각의 표적 세

포와 공동 배양하고 6시간 후 발광을 통해 Gen2 M5 CAR과 비교한 활성을 평가하였다. 루시퍼라제 활성은 ONE-Step 루시퍼라제 검정 시스템(BPS Bioscience)을 사용하여 측정하였다.

[1118] ***마우스 이종이식편 연구***

[1119] 맹검 생체 내 실험은 동물실험 윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee; IACUC) 승인 프로토콜에 따라 Explora BioLab에서 수행하였다. 5-6주령 암컷 NOD.Cg-Prkdcscid I12rgtm1Wjl Tg(HLA-A/H2-D/B2M)1Dvs/SzJ(NSG-HLA-A2/HHD) 마우스는 The Jackson Labs에서 구입하였다. 연구를 시작하기 전에 동물을 수용 환경에 적응시켰다. 동물(10 마리/코호트)은 100 uL로 메트리젤과 1:1로 혼합된 5e6개의 MS751 반딧불이 루시퍼라제(+) HLA-A KO 종양 또는 레닐라 루시퍼라제(+) A*02 트랜스제닉 정상 세포를 각 코호트에서 절반의 마우스의 오른쪽 및 왼쪽 옆구리 각각에 피하 이식하고 나머지 절반에는 옆구리 성장 편차를 대조하기 위해 그 반대로 이식하였다. 종양이 각각 평균 100-150mm^3(V=L x W x W/2)에 도달하면, 동물을 무작위로 5개 그룹(n = 10)으로 나누고 2e7개의 T 세포 또는 식염수 대조군을 꼬리 정맥을 통해 투여하였다. 주입 전에 T 세포는 ~60% CAR(+) 또는 Tmod(+)였다. T 세포 주입 후, 캘리퍼에 의한 이식편 측정은 연구 기간 동안 주당 3회, BLI는 주당 1회 수행하였다. 각 BLI 세션에서 RediJect Coelenterazine h 기질(PerkinElmer)을 먼저 주입하여 레닐라 루시퍼라제(+) 정상 세포를 시각화한 다음 6시간 후에 XenoLight D-루시페린 칼륨염(PerkinElmer)을 주입하여 반대 옆구리 상의 반딧불이 루시퍼라제(+) 종양 세포를 시각화하였다.

[1120] ***1차 T 세포에서 B2M의 CRISPR 녹아웃***

[1121] 동결된 PBMC를 해동하고 상기한 바와 같이 활성화시켰다. 형질도입은 MOI 10에서 렌티바이러스(Alstem)를 사용하여 활성화 24시간 후에 수행하였다. 형질도입 24시간 후, 1차 T 세포를 CRISPR-Cas9:sgRNA 복합체로 형질감염시켰다. 간략하게, 세포를 수집하고 PBS로 세척한 후 보충된 P3 뉴클레오펙션 완충액(Lonza)에 재현탁하였다. 20 pmol의 Cas9(Synthego)를 130 pmol B2M-표적화 sgRNA(Synthego)와 조합하고 세포에 첨가하기 전에 P3 뉴클레오펙션 완충액에서 인큐베이션하였다. 20 uL의 세포 및 리보핵단백질(RNP) 혼합물을 16-웰 뉴클레오큐베트 스트립(Nucleocuvette Strip)으로 옮기고 자극 T 세포 프로그램(EO-115)을 사용하여 4D 뉴클레오펙터로 전기천공하였다. 5% HIA 인간 AB 혈청 및 300 IU/mL IL-2가 보충된 X-VIVO 15(Lonza)의 100 uL 예열된 배지에서 세포를 회수하였다. PBMC는 1% HIA 인간 AB 혈청 및 300 IU/mL IL-2가 보충된 LymphoONE T세포 확장 배지(Takara Bio)에서 6일 동안 배양 및 확장하였다. 확장 후, LS 컬럼을 사용하여 단백질 L-비오틴:스트렙타비딘-PE에 대한 제조업체의 지침에 따라 항-PE 마이크로비드(Miltenyi)를 사용하여 양성으로 형질도입된 1차 T 세포를 농축하였다. 그런 다음 B2M KO 1차 T 세포의 세포독성을 상기 기재된 바와 같이 정확하게 평가하였다.

[1122] ***통계 분석***

[1123] GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 통계 분석을 수행하였다. 모든 저캇 세포-기반 시험관 내 연구(mRNA 적정 실험 포함)는 기술적 반복실험의 평균 ± 표준 편차(SD)로 표시하는 반면, 1차 T 세포-기반 시험관 내 연구는 기술적 3회 반복실험의 평균 ± SD로 표시한다. 해당되는 경우, 기술적 반복실험은 평균을 나타내는 막대와 함께 개별 데이터 포인트로 표시한다. 달리 명시되지 않는 한 모든 데이터는 최소 n=2 실험 반복을 나타낸다. 생체 내 연구에 대한 데이터는 평균 ± 평균의 표준 오차(SEM)로 표시한다. mRNA 적정 연구를 위해 곡선은 4-매개변수 비-선형 회귀 분석을 사용하여 피팅하였다. EC_{50} 및 IC_{50} 값은 곡선에서 직접 계산하였다. 별도의 언급이 없는 한, 독립표본 모수적 t 검정을 사용하여 직접 비교를 분석하였다.

[1124] **참조**

[1125] 1 Chang, K., Pai, L. H., Batra, J. K., Pastan, I. & Willingham, M. C. Characterization of the antigen (CAK1) recognized by monoclonal antibody K1 present on ovarian cancers and normal mesothelium. Cancer Res 52, 181-186 (1992).

[1126] 2 Hassan, R. 등. Mesothelin Immunotherapy for Cancer: Ready for Prime Time? J Clin Oncol 34, 4171-4179, doi:10.1200/JCO.2016.68.3672 (2016).

[1127] 3 Bera, T. K. & Pastan, I. Mesothelin is not required for normal mouse development or reproduction. Mol Cell Biol 20, 2902-2906, doi:10.1128/MCB.20.8.2902-2906.2000 (2000).

[1128] 4 O'Hara, M. H., Stashwick, C., Plesa, G. & Tanyi, J. L. Overcoming barriers of car T-cell therapy in patients with mesothelin-expressing cancers. Immunotherapy 9, 767-780, doi:10.2217/imt-

2017-0026 (2017).

[1129] 5 Chowdhury, P. S., Viner, J. L., Beers, R. & Pastan, I. Isolation of a high-affinity stable single-chain Fv specific for mesothelin from DNA-immunized mice by phage display and construction of a recombinant immunotoxin with anti-tumor activity. Proc Natl Acad Sci U S A 95, 669-674, doi:10.1073/pnas.95.2.669 (1998).

[1130] 6 Hassan, R. 등. Phase I study of SS1P, a recombinant anti-mesothelin immunotoxin given as a bolus I.V. infusion to patients with mesothelin-expressing mesothelioma, ovarian, and pancreatic cancers. Clin Cancer Res 13, 5144-5149, doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0869 (2007).

[1131] 7 Golfier, S. 등. Anetumab ravtansine: a novel mesothelin-targeting antibody-drug conjugate cures tumors with heterogeneous target expression favored by bystander effect. Mol Cancer Ther 13, 1537-1548, doi:10.1158/1535-7163.MCT-13-0926 (2014).

[1132] 8 Luke, J. J. 등. Phase I study of ABBV-428, a mesothelin-CD40 bispecific, in patients with advanced solid tumors. J Immunother Cancer 9, doi:10.1136/jitc-2020-002015 (2021).

[1133] 9 Beatty, G. L. 등. Activity of Mesothelin-Specific Chimeric Antigen Receptor T Cells Against Pancreatic Carcinoma Metastases in a Phase 1 Trial. Gastroenterology 155, 29-32, doi:10.1053/j.gastro.2018.03.029 (2018).

[1134] 10 Ding, J. 등. Abstract 2307: Preclinical evaluation of TC-210, a mesothelin-specific T cell receptor (TCR) fusion construct (TRuC™) T cells for the treatment of solid tumors. Cancer Research 79, 2307-2307, doi:10.1158/1538-7445.Am2019-2307 (2019).

[1135] 11 Adusumilli, P. S. 등. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cells for pleural cancers: Safety and preliminary efficacy in combination with anti-PD-1 agent. Journal of Clinical Oncology 37, 2511-2511, doi:10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.2511 (2019).

[1136] 12 Feng, Y. 등. A novel human monoclonal antibody that binds with high affinity to mesothelin-expressing cells and kills them by antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. Mol Cancer Ther 8, 1113-1118, doi:10.1158/1535-7163.MCT-08-0945 (2009).

[1137] 13 Klampatsa, A., Dimou, V. & Albelda, S. M. Mesothelin-targeted CAR-T cell therapy for solid tumors. Expert Opin Biol Ther 21, 473-486, doi:10.1080/14712598.2021.1843628 (2021).

[1138] 14 Tanyi, J. L. 등. Possible Compartmental Cytokine Release Syndrome in a Patient With Recurrent Ovarian Cancer After Treatment With Mesothelin-targeted CAR-T Cells. J Immunother 40, 104-107, doi:10.1097/CJI.0000000000000160 (2017).

[1139] 15 James, S. E. 등. Mathematical modeling of chimeric TCR triggering predicts the magnitude of target lysis and its impairment by TCR downmodulation. J Immunol 184, 4284-4294, doi:10.4049/jimmunol.0903701 (2010).

[1140] 16 Xu, H. 등. Structure-function relationships of chimeric antigen receptors in acute T cell responses to antigen. Mol Immunol 126, 56-64, doi:10.1016/j.molimm.2020.07.020 (2020).

[1141] 17 Smith, K. B. & Ellis, S. A. Standardisation of a procedure for quantifying surface antigens by indirect immunofluorescence. J Immunol Methods 228, 29-36, doi:10.1016/s0022-1759(99)00087-3 (1999).

[1142] 18 Hamburger, A. E. 등. Engineered T cells directed at tumors with defined allelic loss. Mol Immunol 128, 298-310, doi:10.1016/j.molimm.2020.09.012 (2020).

[1143] 19 Hassan, R. 등. Phase 1 study of the antimesothelin immunotoxin SS1P in combination with pemetrexed and cisplatin for front-line therapy of pleural mesothelioma and correlation of tumor response with serum mesothelin, megakaryocyte potentiating factor, and cancer antigen 125. Cancer 120, 3311-3319, doi:10.1002/cncr.28875 (2014).

[1144] 20 Gragert, L., Madbouly, A., Freeman, J. & Maiers, M. Six-locus high resolution HLA haplotype

frequencies derived from mixed-resolution DNA typing for the entire US donor registry. Hum Immunol 74, 1313-1320, doi:10.1016/j.humimm.2013.06.025 (2013).

[1145] 21 Fedorov, V. D., Themeli, M. & Sadelain, M. PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors divert off-target immunotherapy responses. Sci Transl Med 5, 215ra172, doi:10.1126/scitranslmed.3006597 (2013).

[1146] 22 Hwang, M. S. 등. Targeting loss of heterozygosity for cancer-specific immunotherapy. Proc Natl Acad Sci U S A 118, doi:10.1073/pnas.2022410118 (2021).

[1147] 23 Roex, G. 등. Chimeric Antigen Receptor-T-Cell Therapy for B-Cell Hematological Malignancies: An Update of the Pivotal Clinical Trial Data. Pharmaceutics 12, doi:10.3390/pharmaceutics12020194 (2020).

[1148] 24 Mastrogiovanni, M., Juzans, M., Alcover, A. & Di Bartolo, V. Coordinating Cytoskeleton and Molecular Traffic in T Cell Migration, Activation, and Effector Functions. Front Cell Dev Biol 8, 591348, doi:10.3389/fcell.2020.591348 (2020).

[1149] 25 Lopez, S. 등. Interplay between whole-genome doubling and the accumulation of deleterious alterations in cancer evolution. Nat Genet 52, 283-293, doi:10.1038/s41588-020-0584-7 (2020).

[1150] 26 Foo, J. & Michor, F. Evolution of acquired resistance to anti-cancer therapy. J Theor Biol 355, 10-20, doi:10.1016/j.jtbi.2014.02.025 (2014).

[1151] 27 Beaubier, N. 등. Clinical validation of the tempus xT next-generation targeted oncology sequencing assay. Oncotarget 10, 2384-2396, doi:10.18632/oncotarget.26797 (2019).

[1152] 28 Consortium, I. T. P.-C. A. o. W. G. Pan-cancer analysis of whole genomes. Nature 578, 82-93, doi:10.1038/s41586-020-1969-6 (2020).

[1153] 29 Ford, L., Wolford, J. E., Brown, S. M. & Randall, L. M. A profile on the FoundationFocus CDxBRCA tests. Expert Rev Mol Diagn 20, 285-292, doi:10.1080/14737159.2020.1701438 (2020).

[1154] 30 Beroukhim, R. 등. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. Nature 463, 899-905, doi:10.1038/nature08822 (2010).

[1155] 31 Gold, P. & Freedman, S. O. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J Exp Med 122, 467-481, doi:10.1084/jem.122.3.467 (1965).

[1156] 32 Parham, P. & Bodmer, W. F. Monoclonal antibody to a human histocompatibility alloantigen, HLA-A2. Nature 276, 397-399, doi:10.1038/276397a0 (1978).

[1157] 33. Tanyi, J. L. 등. Possible Compartmental Cytokine Release Syndrome in a Patient With Recurrent Ovarian Cancer After Treatment With Mesothelin-targeted CAR-T Cells. *J Immunother* **40**, 104-107 (2017).

[1158] 34. Montesion, M. 등. Somatic HLA Class I Loss Is a Widespread Mechanism of Immune Evasion Which Refines the Use of Tumor Mutational Burden as a Biomarker of Checkpoint Inhibitor Response. *Cancer Discov* **11**, 282-292 (2021).

[1159] 35. Bohmer 등., Forward light scatter is a simple measure of T-cell activation and proliferation but is not universally suited for doublet discrimination. Cytometry 79A(8):646-652 (2011).

[1160] 36. Berger 등. Monoclonal antibody to HLA-A3. Hybridoma 1(2):87-90 (1982).

[1161] 37. Brodsky 등., Monoclonal antibodies for analysis of the HLA system. Immunol Rev. 47:3-61 (1979).

[1162] ***실시예 9***

[1163] MSLN CAR A*03 Tmod 작제물도 기능 검정에서 테스트하였다(도 41-44).

[1164] 도 41은 저캇 세포 기능 검정에서 MSLN CAR A*03 Tmod 작제물의 특징화를 보여준다(왼쪽). MSLN 활성화제 CAR

(서열 번호: 303)을 A*03 차단제(mBA GAP-A3, 서열번호: 1268)(닫힌 원) 또는 공벡터 대조군(열린 원)과 쌍을 이루었다. CAR +/- 차단제를 발현하는 저캇 NFAT 루시퍼라제 세포를 A*03:01 mRNA의 적정으로 형질감염된 야생형 내인성 MSLN(+) HeLa 세포와 공동 배양하였다. 기능적 반응(상대 광 단위, RLU)은 6시간 공동 배양 후 평가하였다. 표면의 적정 항원 분자는 QIFIKIT를 사용하여 정량화하였다. IC50(분자수/세포) 값은 도면에 표시되어 있다. 오른쪽 패널은 저캇 세포에서 MSLN CAR 및 A*03 차단제와 쌍을 이룬 MSLN CAR의 발현을 보여준다.

[1165] 도 42는 MS751 표적 세포 상에서 5명의 상이한 공여자로부터의 1차 T 세포 내 MSLN CAR A*03 Tmod 작제물(mBAsh GAP-A3, 서열번호: 1268 및 β2M shRNA)의 기능적 특징화를 보여준다. MS751 종양 세포는 MSLN 항원을 발현한다. MS751 정상 세포는 MSLN 항원과 A*03 항원을 모두 발현한다. 각 공여자에 대한 종양 세포와 정상 세포 간의 선택성 창은 표에 표시되어 있다.

[1166] 도 43은 HeLa 표적 세포 상에서 5명의 상이한 공여자로부터의 1차 T 세포 내 MSLN CAR A*03 Tmod 작제물(mBAsh GAP-A3, 서열번호: 1268 및 β2M shRNA)의 기능적 특징화를 보여준다. HeLa 종양 세포는 MSLN 항원을 발현한다. HeLa 정상 세포는 MSLN 및 A*03 항원을 모두 발현한다. 각 공여자에 대한 종양 세포 대 정상 세포 간의 선택성 창은 표에 표시되어 있다.

[1167] 도 44a 및 도 44b는 Tmod 작제물(mBAsh(A3), 서열번호: 1268 및 β2M shRNA)가 이종이식 모델에서 종양 세포의 선택적 사멸을 매개한다는 것을 보여준다. 도 44a는 이중 옆구리 종양 및 정상 MS751 이종이식 모델의 개략도를 보여준다. 도 44b는 캘리퍼 측정으로 평가한 이종이식편 크기를 보여준다. 0일차 = 이종이식 주입. 수평 점선은 T 세포 주입 시간을 나타낸다.

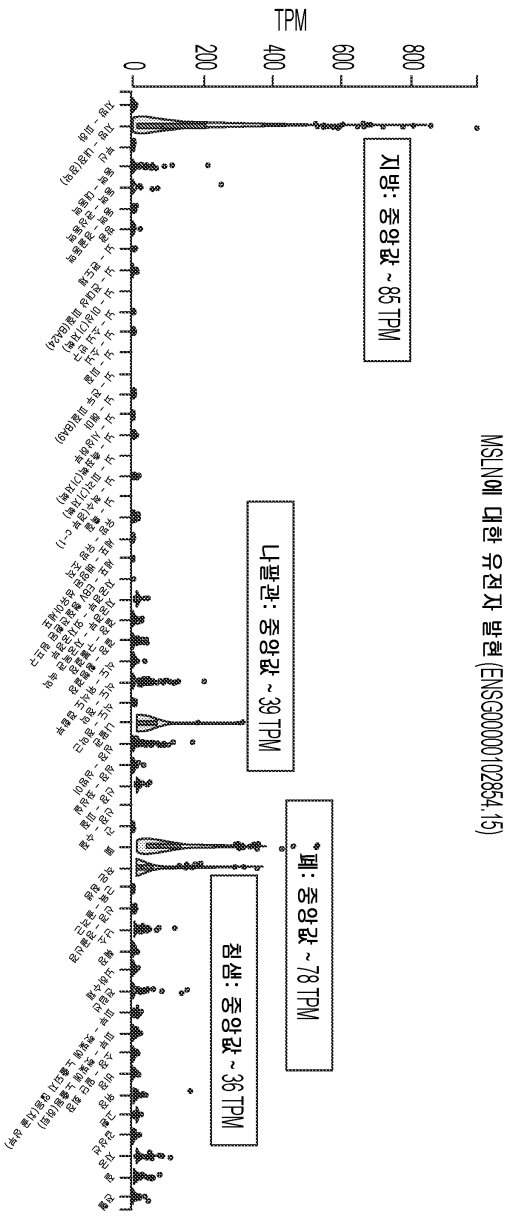
도면

도면1

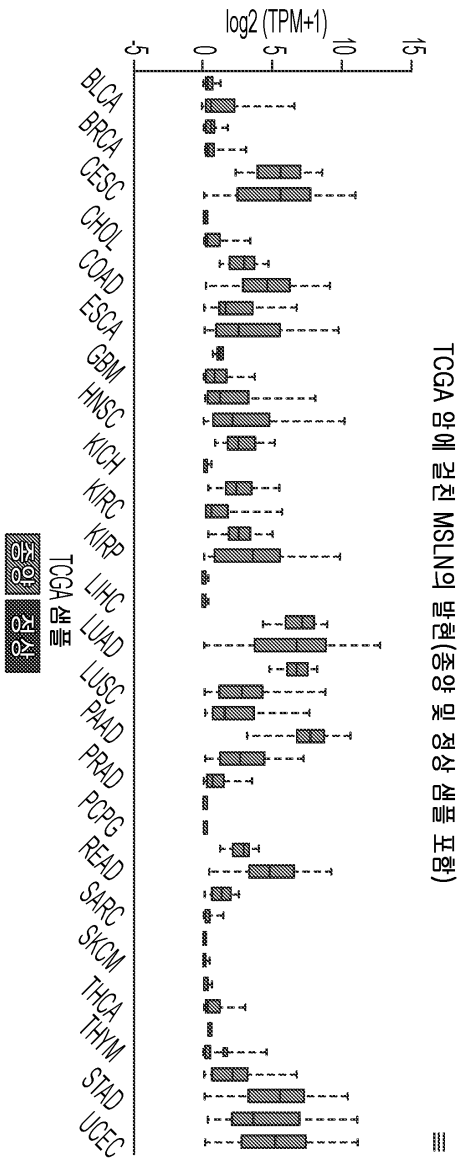
유전자	TCGA-COADREAD-Xena-중앙값-FPKM (383개의 샘플)	TCGA-OV-Xena-중앙값-FPKM (427개의 샘플)	TCGA-LUAD-Xena-중앙값-FPKM (515개의 샘플)	TCGA-PAAD-Xena-중앙값-FPKM (179개의 샘플)	TCGA-MESO-Xena-중앙값-FPKM (87개의 샘플)
VASN	1.7	5.1	3.5	3.7	5.1
TUSC3	1.8	5.0	4.8	4.9	5.3
VSIG4	1.8	3.8	4.5	4.0	5.0
CTXN1	0.3	6.6	2.1	2.1	5.0
NPR1	-0.4	5.2	1.2	1.3	5.5
HAS1	-3.0	-3.6	-2.7	-0.6	5.7
CD200	1.7	3.9	2.0	2.7	5.7
LRRN4*	-4.0	0.5	1.3	-1.8	5.0
UPK3B*	-1.5	6.3	0.7	0.6	9.2
PTGIS	-0.2	1.8	1.6	3.2	6.9
SCARA3	0.7	5.7	2.0	3.2	5.7
UPK1B	-10.0	2.4	-4.3	0.9	6.7
CLIC3	1.7	3.6	3.7	4.4	5.6

결장 선암종 난소 폐 선암종 췌장 선암종 중피종

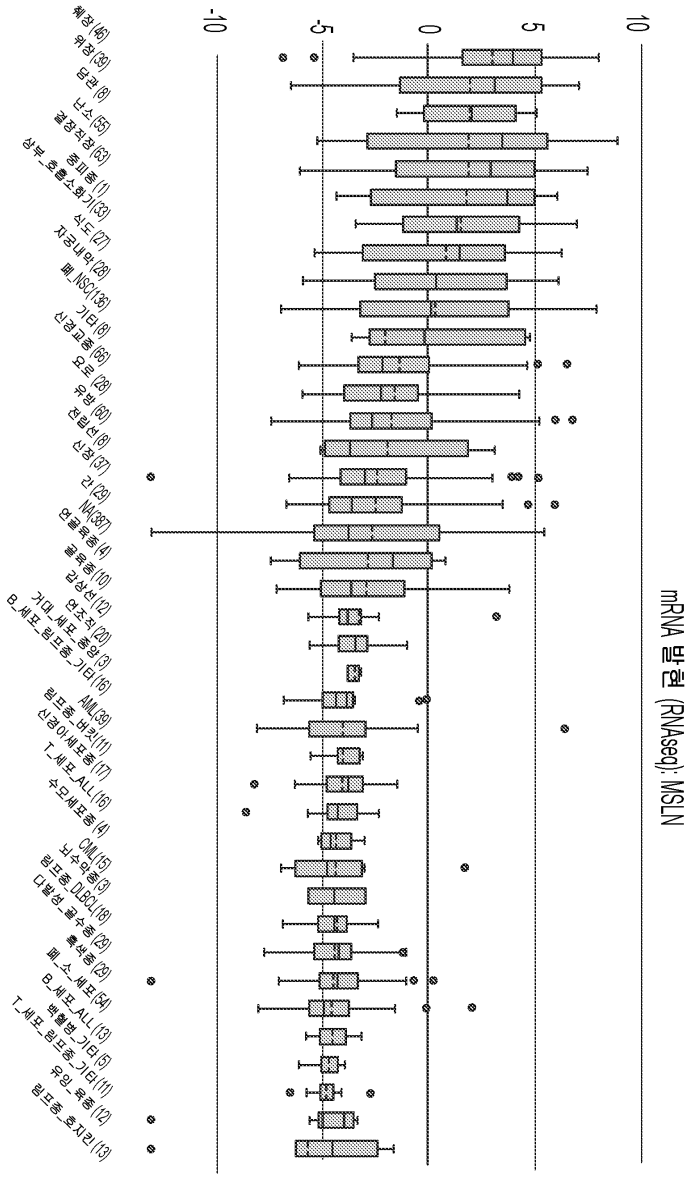
도면2


TPM
0
200
400
600
800
지방: 중앙값 ~ 85 TPM
나팔관: 중앙값 ~ 39 TPM
폐: 중앙값 ~ 78 TPM
혈액: 중앙값 ~ 36 TPM
MSLN에 대한 유전자 발현 (ENSG00000102854.15)

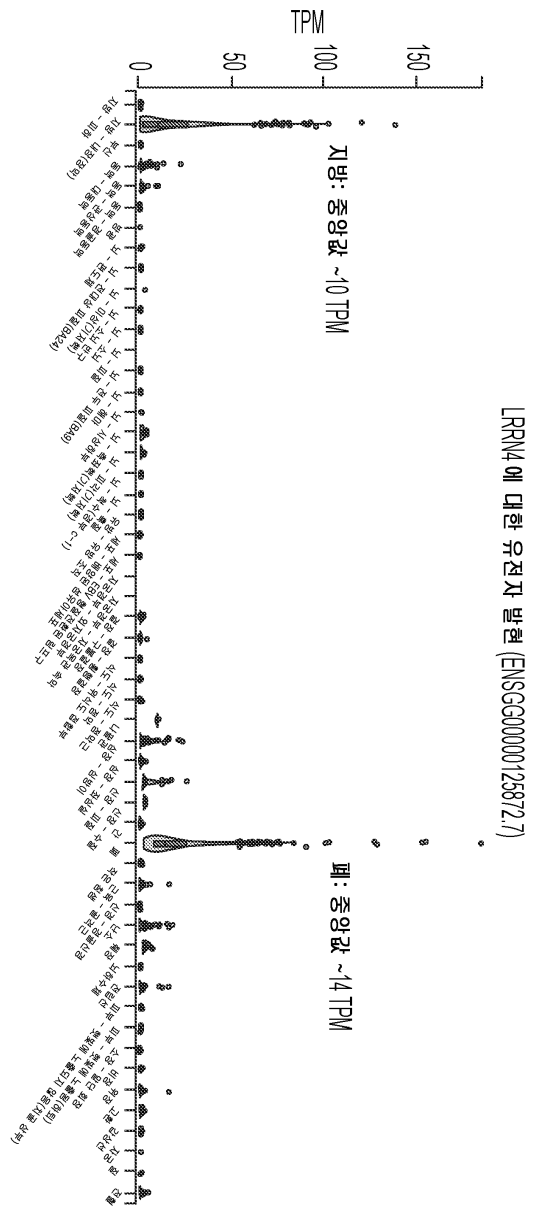
도면3


log2 (TPM+1)
-5
0
5
10
15
BLCA
BRCA
CESC
CHOL
COAD
ESCA
GBM
HNSC
KICH
KIRC
KIRP
LIHC
LUAD
LUSC
PAAD
PRAD
PCPG
READ
SARC
SKCM
THCA
THYM
STAD
UCEC
종양
정상
TCGA 샘플
TCGA 암에 걸친 MSLN의 발현(종양 및 정상 샘플 포함)

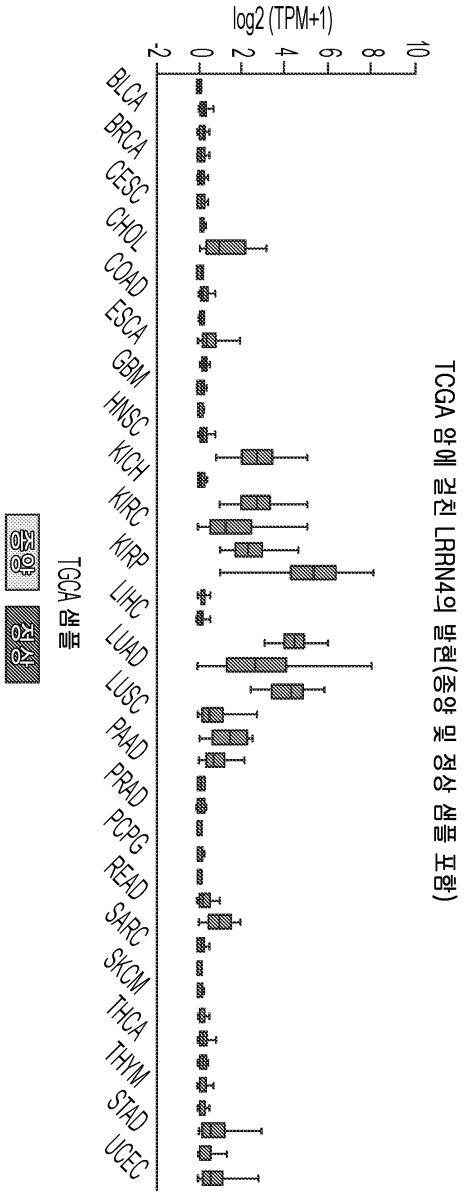
도면4


-10
-5
0
5
10
mRNA 발현 (RNAseq): MSLN
췌장 (45)
유방 (39)
담관 (8)
난소 (55)
결장직장 (63)
상부 호흡소화기 (53)
중피종 (1)
소도 (27)
자궁내막 (28)
폐_NSC (136)
기타 (8)
신경교종 (66)
요로 (28)
두경 (60)
전립선 (8)
신장 (37)
간 (29)
NA (387)
연골육종 (4)
골육종 (10)
갑상선 (12)
연조직 (20)
B_세포 림프종_형질 (3)
기타_세포 (16)
AML (39)
림프종_버킷 (11)
신경아세포종 (17)
T_세포_ALL (16)
수모세포종 (4)
CML (15)
뇌수막종 (9)
림프종 DLBCL (18)
다발성_골수종 (29)
흑색종 (29)
폐_소_세포 (54)
B_세포_ALL (13)
방광암_기타 (5)
T_세포 림프종_기타 (11)
유잉 육종 (12)
림프종_호지킨 (13)

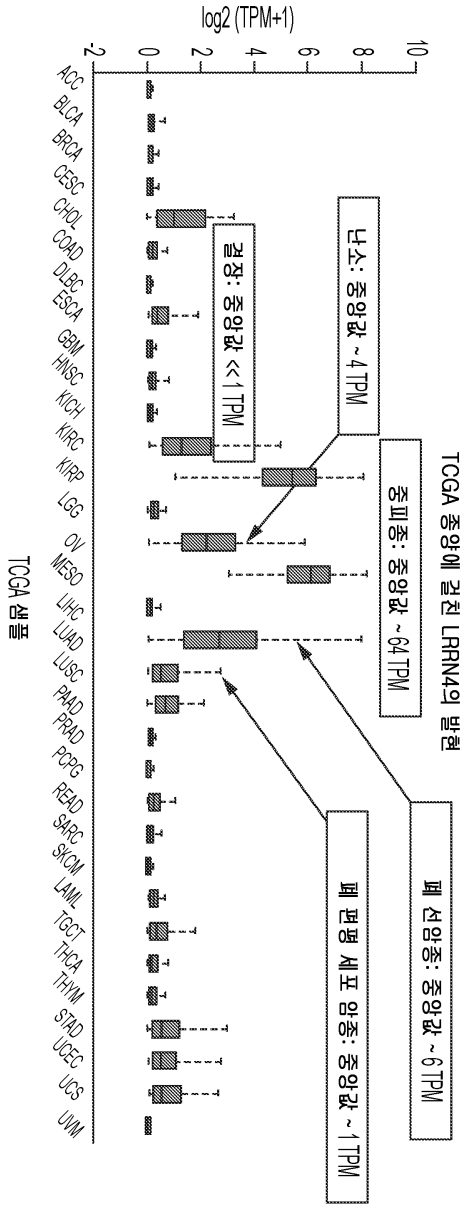
도면5


LRRN4에 대한 유전자 발현 (ENSG00000125872.7)
TPM
0
50
100
150
지방: 중앙값 ~10 TPM
폐: 중앙값 ~14 TPM

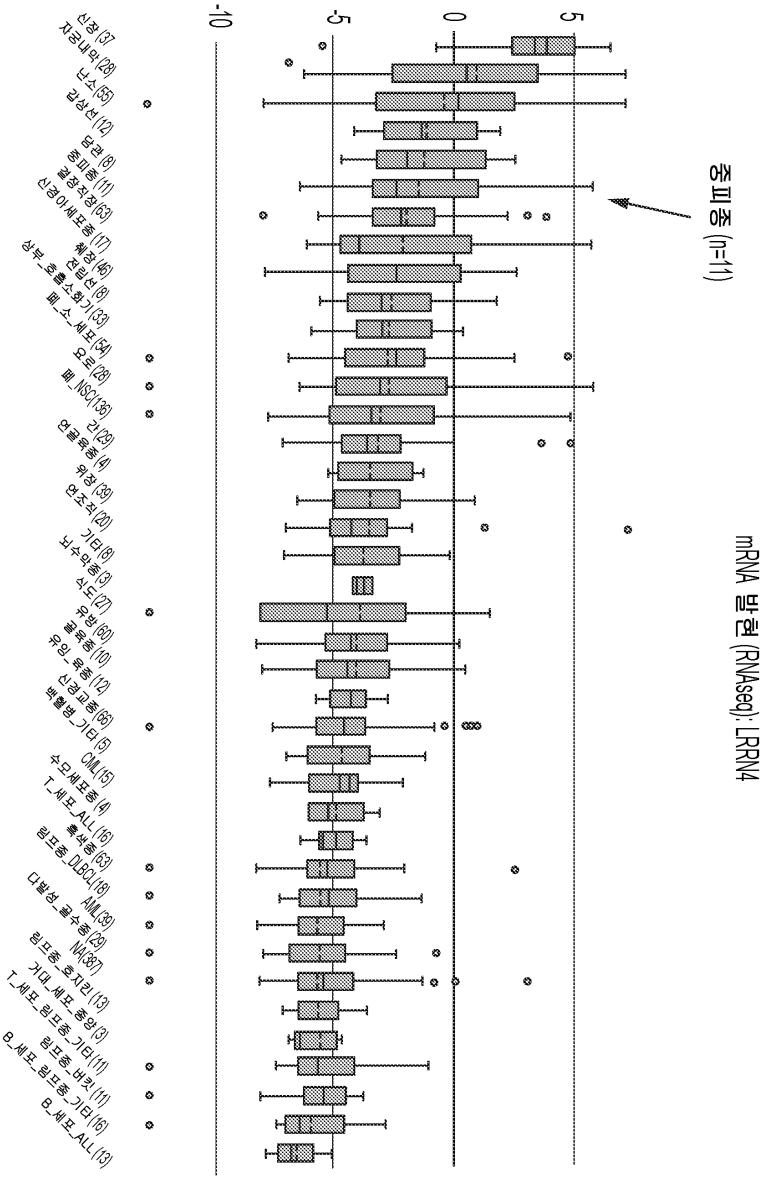
도면6


TCGA 암에 걸친 LRRN4의 발현(종양 및 정상 샘플 포함)
log2 (TPM+1)
-2
0
2
4
6
8
10
BLCA
BRCA
CESC
CHOL
COAD
ESCA
GBM
HNSC
KICH
KIRC
KIRP
LIHC
LUAD
LUSC
PAAD
PRAD
PCPG
READ
SARC
SKCM
THCA
THYM
STAD
UCEC
TCGA 샘플
종양
정상

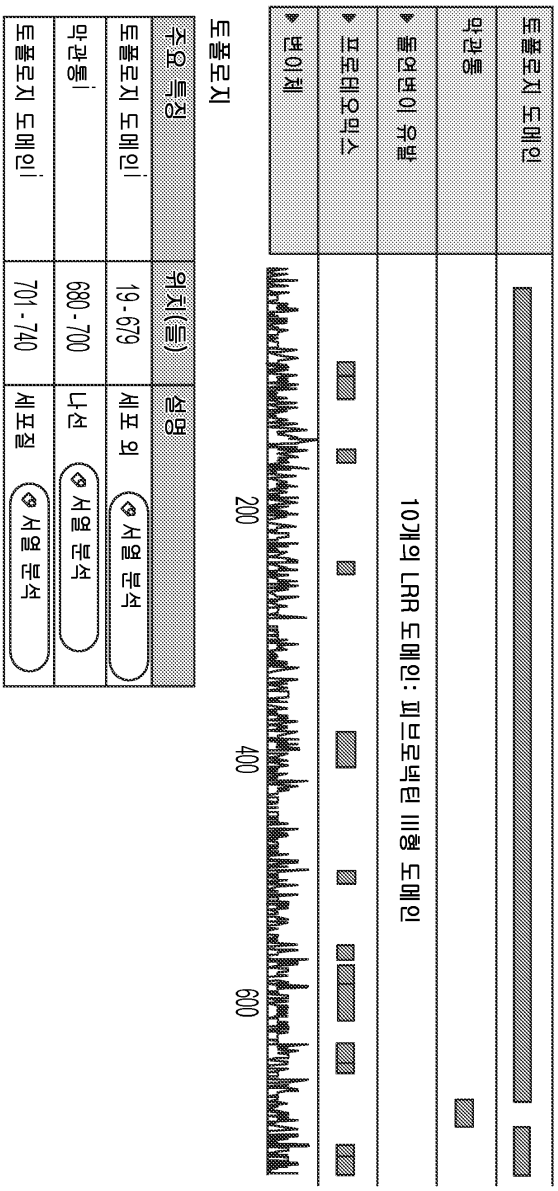
도면7


TCGA 중앙에 걸친 LRRN4의 발현
log2 (TPM+1)
-2
0
2
4
6
8
10
ACC
BLCA
BRCA
CESC
CHOL
COAD
DLBC
ESCA
GBM
HNSC
KICH
KIRC
KIRP
LGG
OV
MESO
LIHC
LUAD
LUSC
PAAD
PRAD
PCPG
READ
SARC
SKCM
LAML
TGCT
THCA
THYM
STAD
UCEC
UCS
UVM
TCGA 샘플
난소: 중앙값 ~ 4 TPM
결장: 중앙값 << 1 TPM
중피종: 중앙값 ~ 64 TPM
폐 선암종: 중앙값 ~ 6 TPM
폐 편평 세포 암종: 중앙값 ~ 1 TPM

도면8

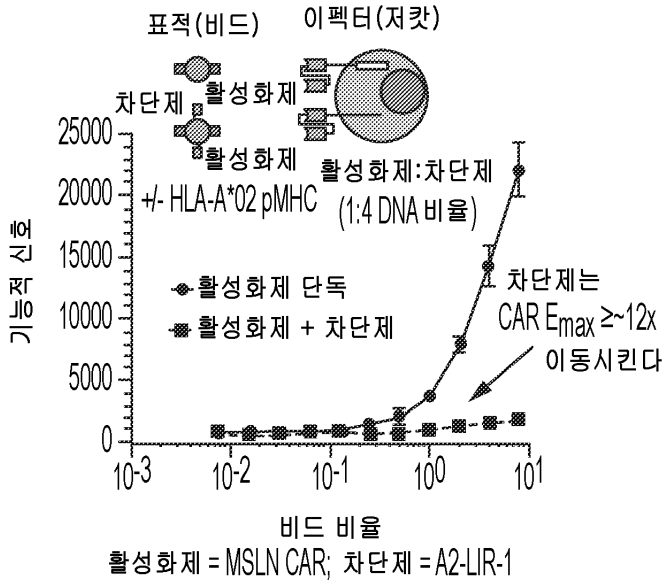

중피종 (n=11)
mRNA 발현 (RNAseq) LRRN4
-10
-5
0
5
신경 (37)
자궁내막 (28)
난소 (55)
갑상선 (12)
담관 (8)
흉미종 (11)
결장직장 (63)
신경아세포종 (17)
췌장 (46)
전립선 (8)
폐_스_세포 (33)
상부_호흡소화기 (54)
요로 (28)
폐_NSCI (138)
간 (29)
연골육종 (4)
위장 (39)
연조직 (20)
기타 (8)
뇌수막종 (9)
소뇌 (27)
유방 (60)
골육종 (10)
유잉_육종 (12)
신경교종 (88)
백혈병_기타 (5)
CML (15)
수모세포종 (4)
T_세포_ALL (16)
흑색종 (63)
림프종_DLBCL (16)
AML (38)
다발성_골수종 (29)
NA (387)
림프종_호지킨 (13)
거대_세포_림프종_종양 (3)
B_세포_림프종_기타 (11)
림프종_버킷 (11)
B_세포_ALL (13)

도면9

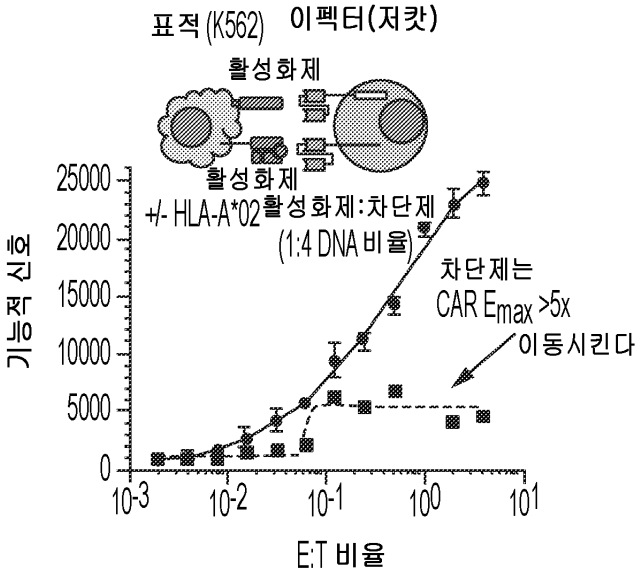


주요 특징	위치(크기)	분포
토폴로지 도메인	19-679	세포외
막관통	680-700	나선
토폴로지 도메인	701-740	세포질

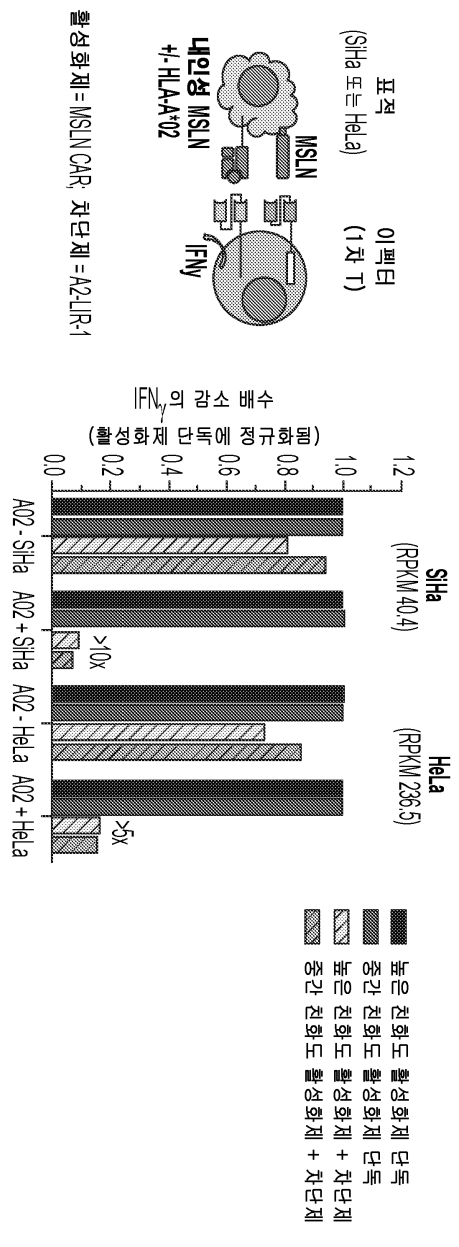
도면10a


표적(비드)
이펙터(저캇)
차단제
활성화제
활성화제
+/- HLA-A*02 pMHC
활성화제:차단제
(1:4 DNA 비율)
활성화제 단독
활성화제 + 차단제
차단제는
CAR Emax ≥~12x
이동시킨다
기능적 신호
25000
20000
15000
10000
5000
0
10-3
10-2
10-1
100
101
비드 비율
활성화제 = MSLN CAR; 차단제 = A2-LIR-1

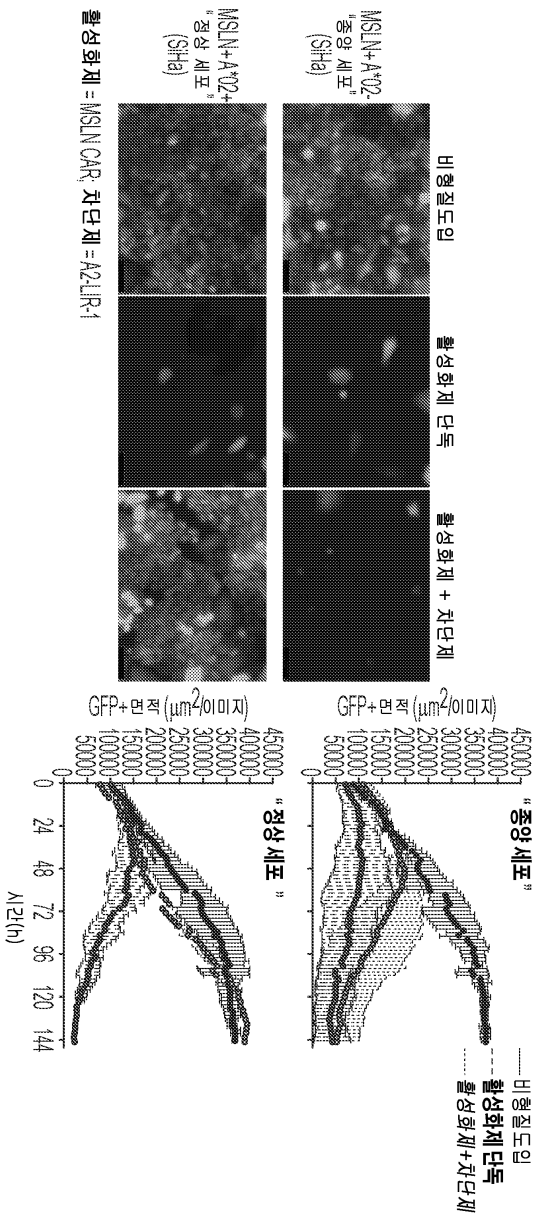
도면10b


표적(K562)
이펙터(저캇)
활성화제
활성화제
+/- HLA-A*02
활성화제:차단제
(1:4 DNA 비율)
차단제는
CAR Emax >5x
이동시킨다
기능적 신호
25000
20000
15000
10000
5000
0
10-3
10-2
10-1
100
101
E:T 비율

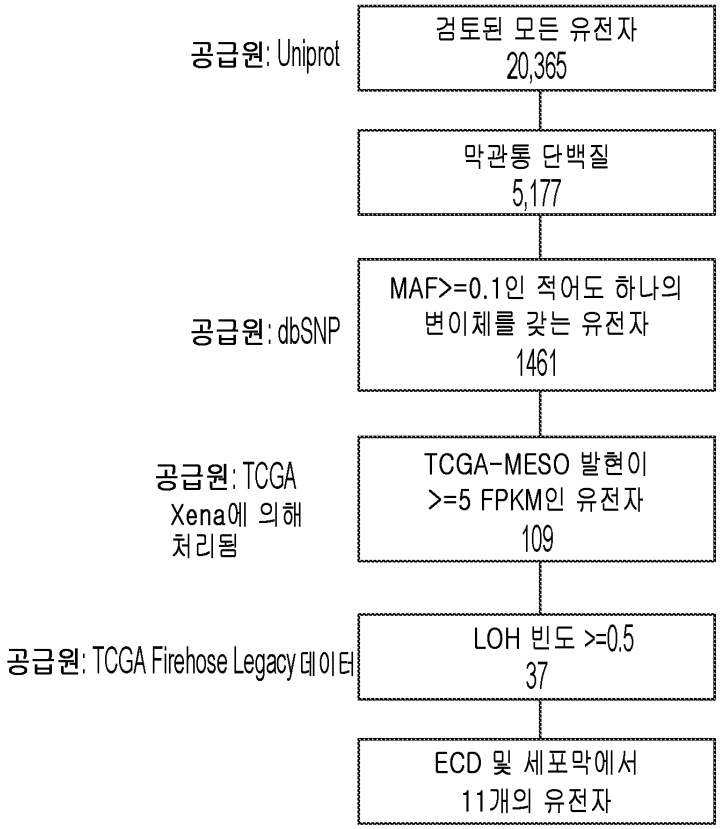
도면11


표적
(SiHa 또는 HeLa)
이펙터
(1차 T)
내인성 MSLN
+/- HLA-A*02
MSLN
IFNγ
활성화제 = MSLN CAR; 차단제 = A2-LIR-1
IFNγ의 감소 배수
(활성화제 단독에 정규화됨)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
SiHa
(RPKM 40.4)
HeLa
(RPKM 236.5)
A02 - SiHa
A02 + SiHa
A02 - HeLa
A02 + HeLa
>10x
>5x
높은 친화도 활성화제 단독
중간 친화도 활성화제 단독
높은 친화도 활성화제 + 차단제
중간 친화도 활성화제 + 차단제

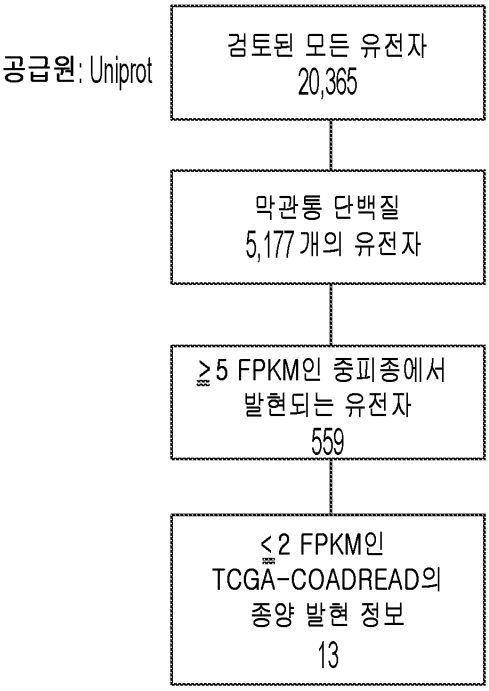
도면12


활성화제 = MSLN CAR; 차단제 = A2-LIR-1
MSLN+ A*02+ "정상 세포" (SiHa)
MSLN+ A*02- "종양 세포" (SiHa)
비형질도입
활성화제 단독
활성화제 + 차단제
GFP+ 면적 (μm²/이미지)
"정상 세포"
"종양 세포"
시간(h)
비형질도입
활성화제 단독
활성화제+차단제

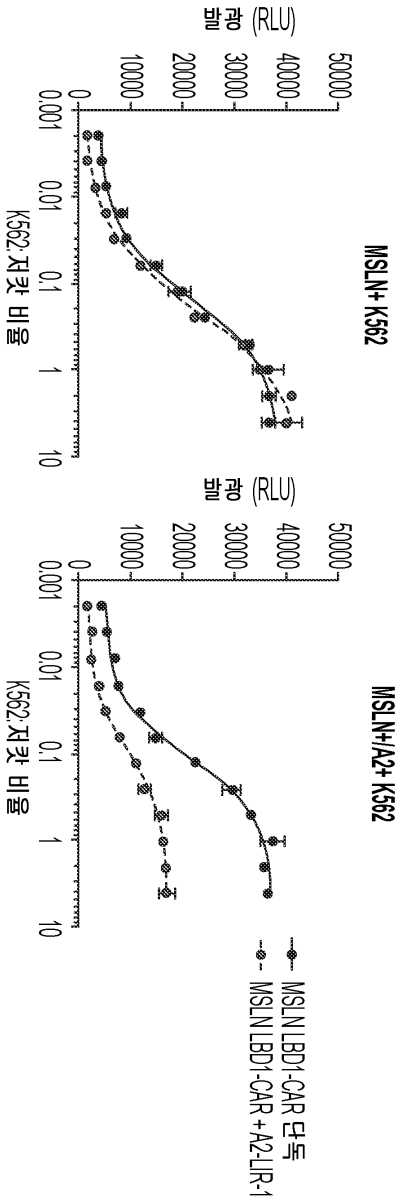
도면13


공급원: Uniprot
검토된 모든 유전자
20,365
막관통 단백질
5,177
공급원: dbSNP
MAF>=0.1인 적어도 하나의
변이체를 갖는 유전자
1461
공급원: TCGA
Xena에 의해
처리됨
TCGA-MESO 발현이
>=5 FPKM인 유전자
109
공급원: TCGA Firehose Legacy 데이터
LOH 빈도 >=0.5
37
ECD 및 세포막에서
11개의 유전자

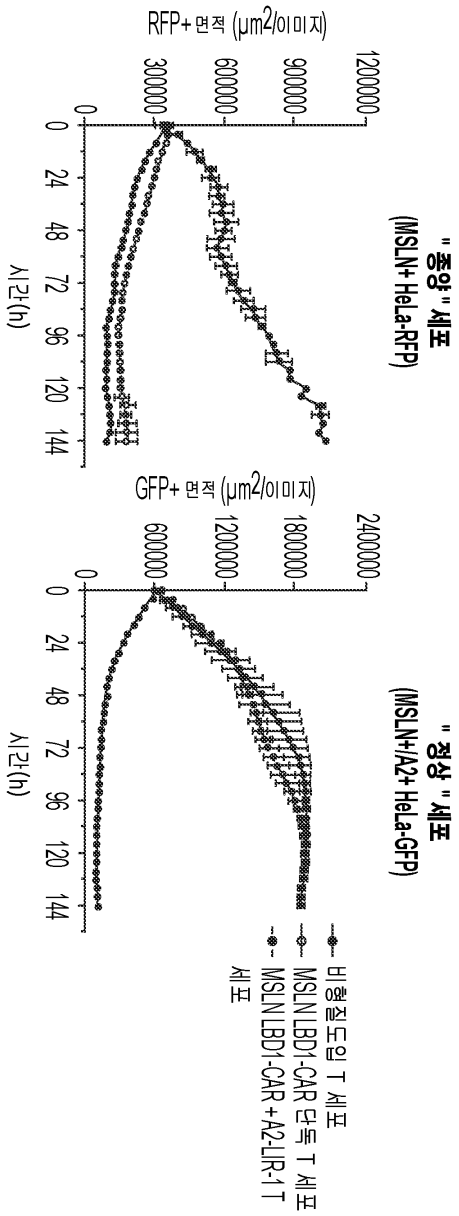
도면14


공급원: Uniprot
검토된 모든 유전자
20,365
막관통 단백질
5,177 개의 유전자
≥5 FPKM인 중피종에서
발현되는 유전자
559
≤2 FPKM인
TCGA-COADREAD의
종양 발현 정보
13

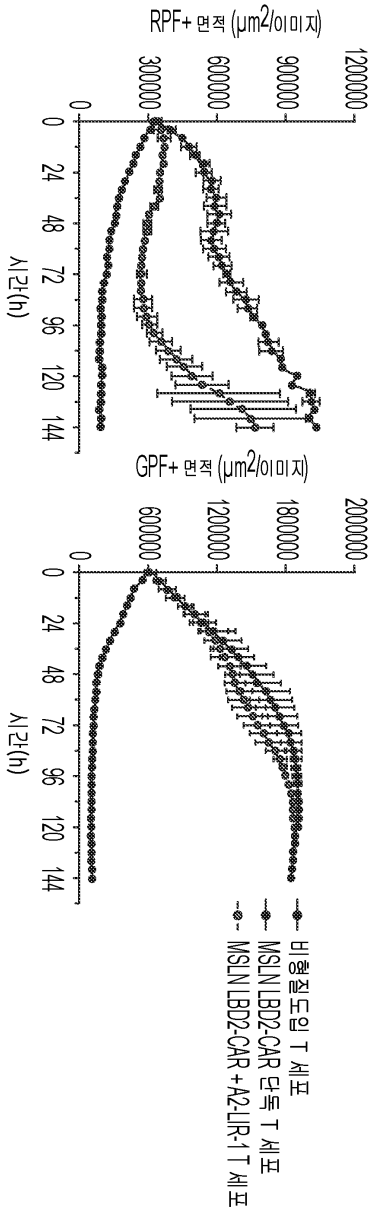
도면15a


MSLN+ K562
MSLN+/A2+ K562
발광 (RLU)
0
10000
20000
30000
40000
50000
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
K562:저캇 비율
MSLN LBD1-CAR 단독
MSLN LBD1-CAR +A2-LIR-1

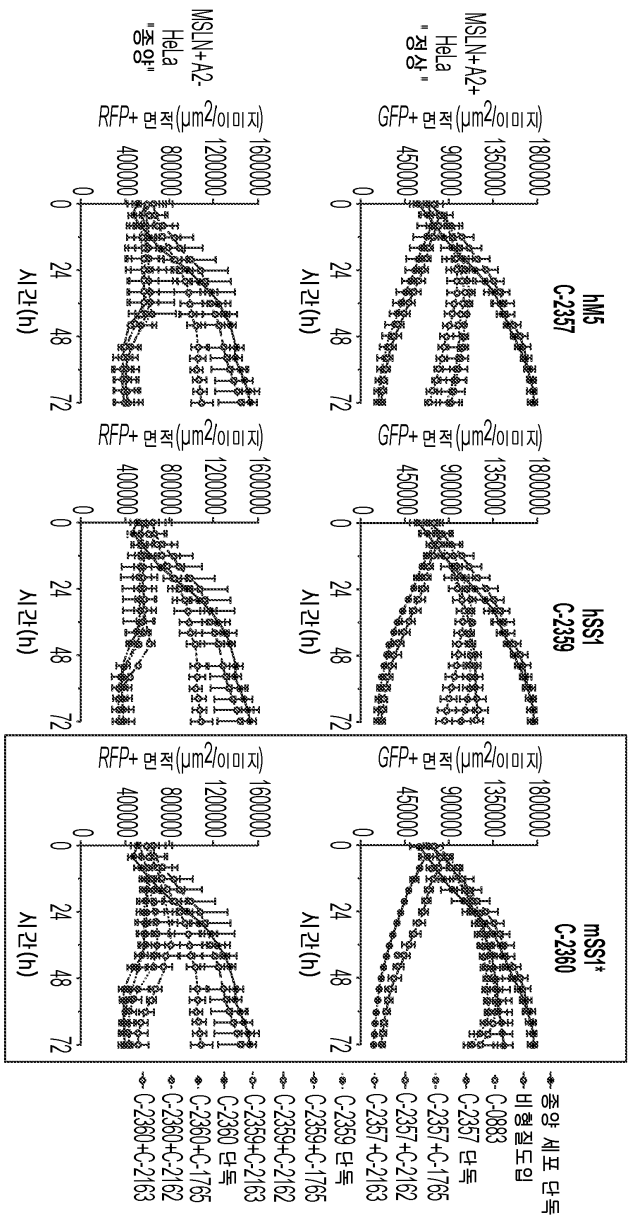
도면15b


RFP+ 면적 (μm2/이미지)
0
300000
600000
900000
1200000
0 24 48 72 96 120 144
시간(h)
"종양" 세포
(MSLN+ HeLa-RFP)
GFP+ 면적 (μm2/이미지)
0
600000
1200000
1800000
2400000
0 24 48 72 96 120 144
시간(h)
"정상" 세포
(MSLN+/A2+ HeLa-GFP)
비형질도입 T 세포
MSLN LBD1-CAR 단독 T 세포
MSLN LBD1-CAR +A2-LIR-1 T 세포

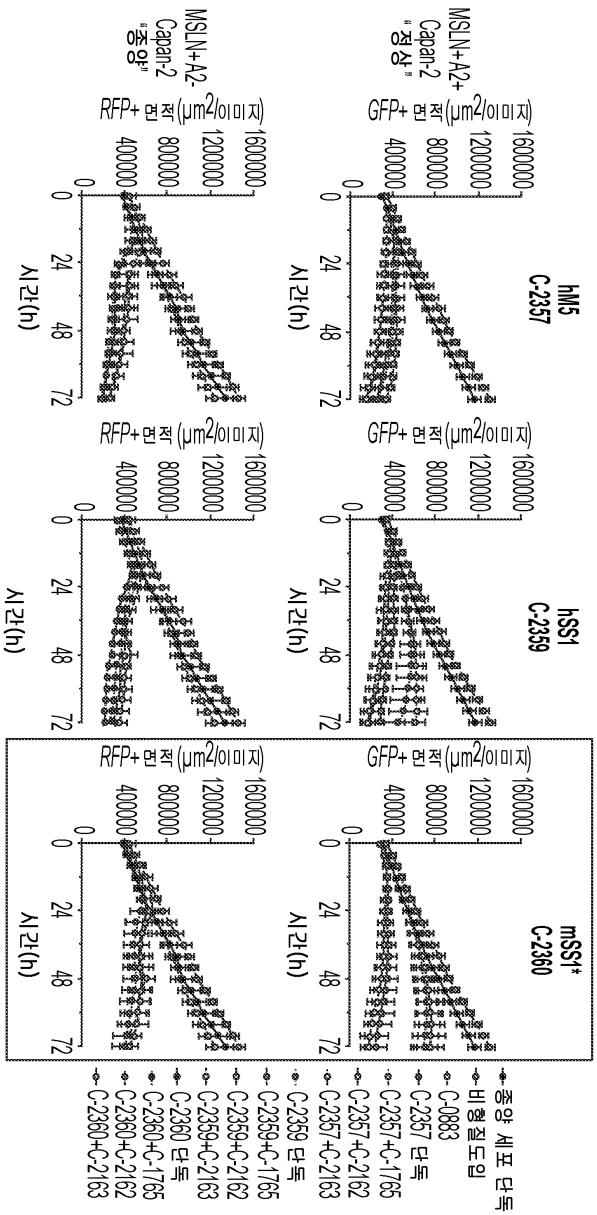
도면15c


RPF+ 면적 (μm2/이미지)
0
300000
600000
900000
1200000
시간(h)
0
24
48
72
96
120
144
GPF+ 면적 (μm2/이미지)
0
600000
1200000
1800000
2000000
시간(h)
0
24
48
72
96
120
144
비형질도입 T 세포
MSLN LBD2-CAR 단독 T 세포
MSLN LBD2-CAR +A2-LIR-1 T 세포

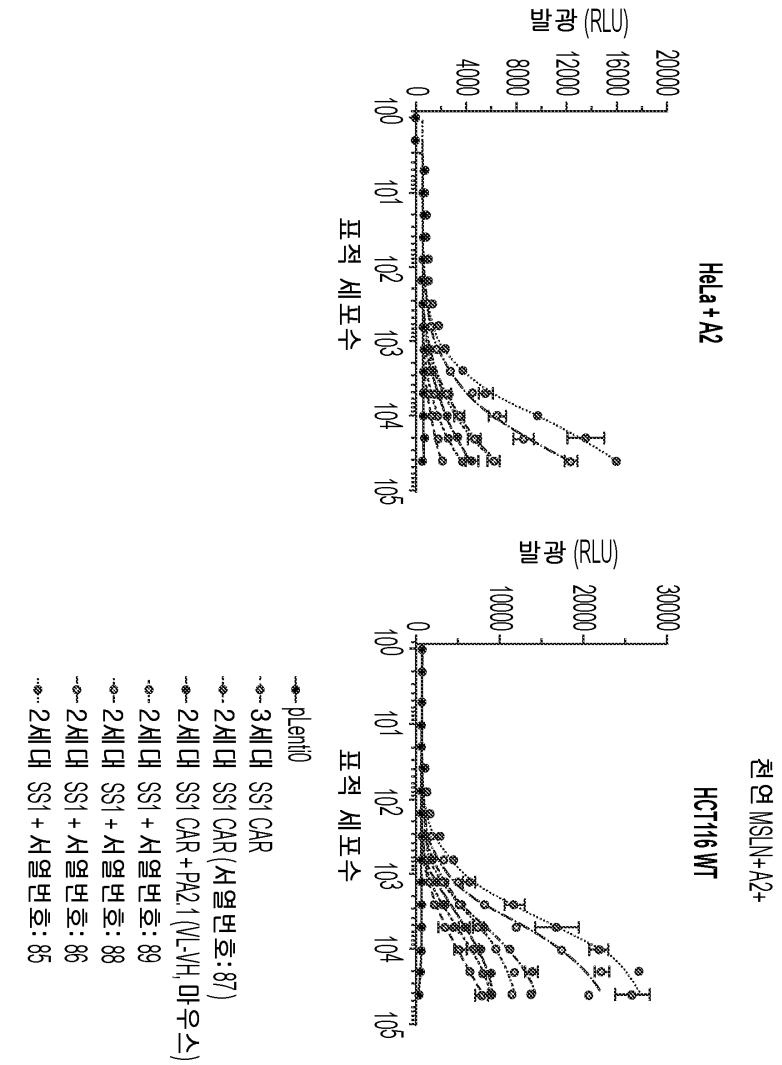
도면16


hM5
C-2357
hSS1
C-2359
mSS1*
C-2360
MSLN+A2+
HeLa
"정상"
MSLN+A2-
HeLa
"종양"
GFP+ 면적(μm2/이미지)
RFP+ 면적(μm2/이미지)
시간(h)
종양 세포 단독
비형질도입
C-0883
C-2357 단독
C-2357+C-1765
C-2357+C-2162
C-2357+C-2163
C-2359 단독
C-2359+C-1765
C-2359+C-2162
C-2359+C-2163
C-2360 단독
C-2360+C-1765
C-2360+C-2162
C-2360+C-2163

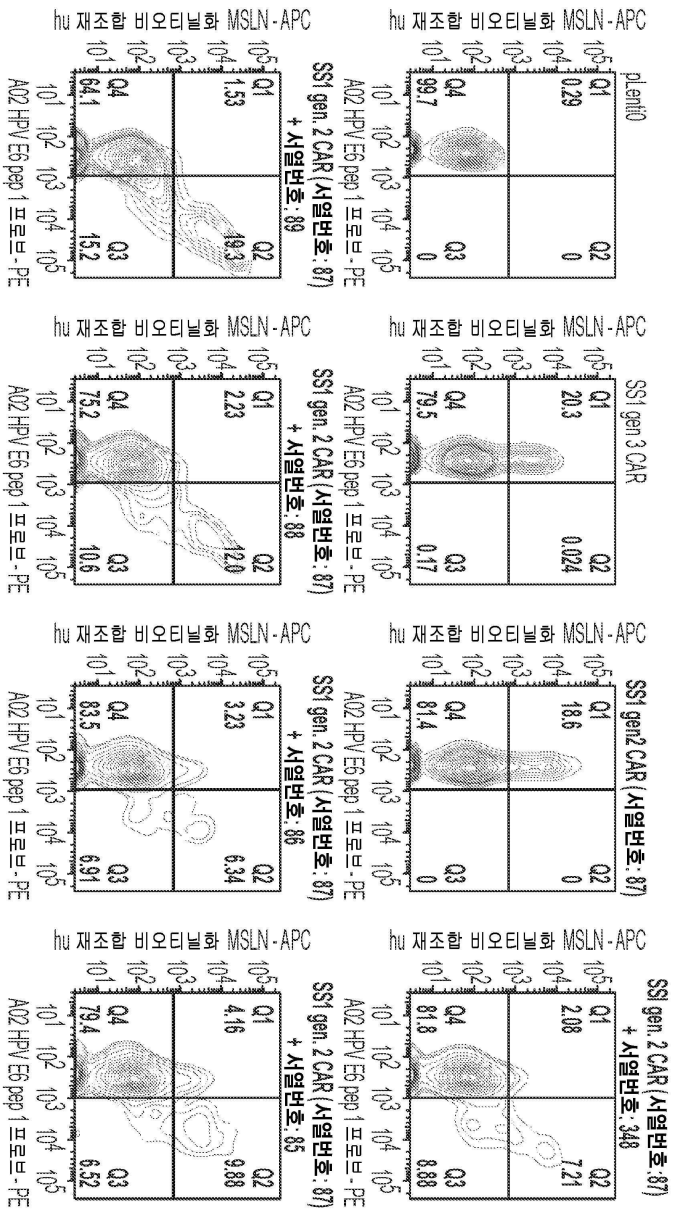
도면17


hM5
C-2357
hSS1
C-2359
mSS1*
C-2360
MSLN+A2+
Capan-2
"정상"
MSLN+A2-
Capan-2
"종양"
GFP+ 면적 (μm2/이미지)
RFP+ 면적 (μm2/이미지)
0
400000
800000
1200000
1600000
시간(h)
0
24
48
72
종양 세포 단독
비형질도입
C-0883
C-2357 단독
C-2357+C-1765
C-2357+C-2162
C-2357+C-2163
C-2359 단독
C-2359+C-1765
C-2359+C-2162
C-2359+C-2163
C-2360 단독
C-2360+C-1765
C-2360+C-2162
C-2360+C-2163

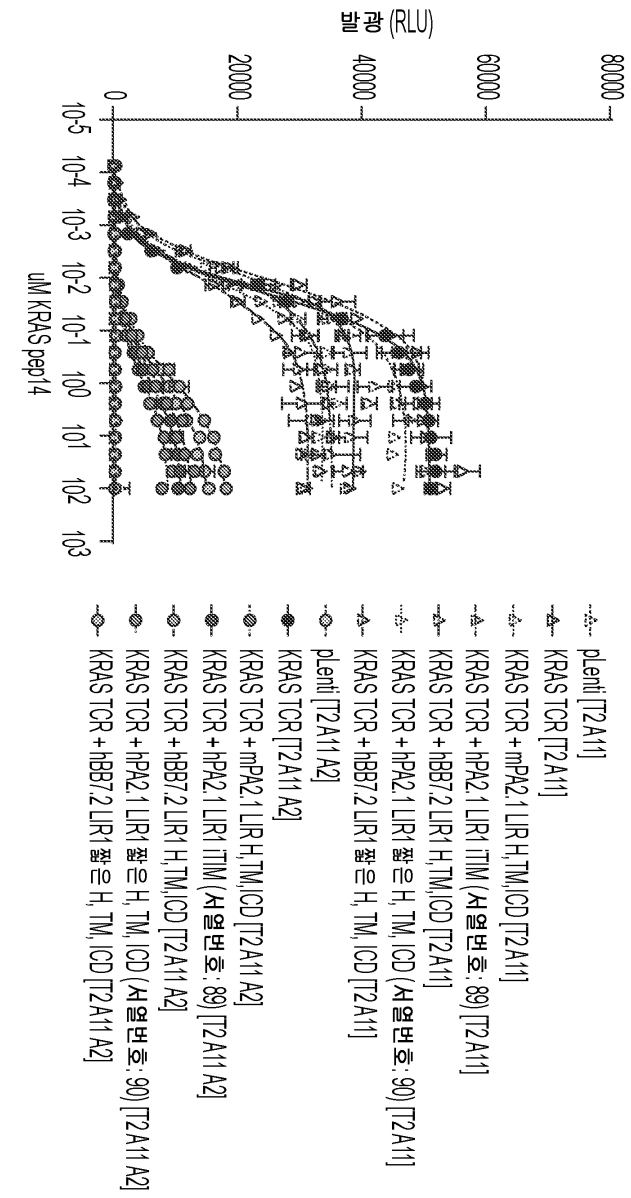
도면18


천연 MSLN+A2+
HeLa + A2
HCT116 WT
발광 (RLU)
표적 세포수
pLenti0
3세대 SS1 CAR
2세대 SS1 CAR (서열번호: 87)
2세대 SS1 CAR + PA2.1 (VL-VH, 마우스)
2세대 SS1 + 서열번호: 89
2세대 SS1 + 서열번호: 88
2세대 SS1 + 서열번호: 86
2세대 SS1 + 서열번호: 85

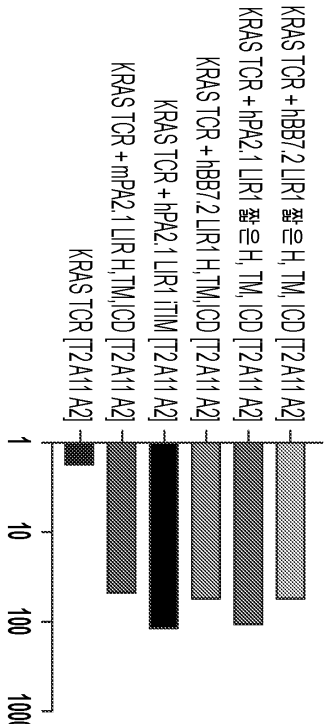
도면19


pLenti0
SS1 gen 3 CAR
SS1 gen2 CAR (서열번호: 87)
SSI gen. 2 CAR (서열번호:87) + 서열번호: 348
SS1 gen. 2 CAR (서열번호: 87) + 서열번호: 89
SS1 gen. 2 CAR (서열번호: 87) + 서열번호: 88
SS1 gen. 2 CAR (서열번호: 87) + 서열번호: 86
SS1 gen. 2 CAR (서열번호: 87) + 서열번호: 85
hu 재조합 비오티닐화 MSLN-APC
A02 HPV E6 pep 1 프로브-PE
Q1 0.29
Q4 99.7
Q3 0
Q2 0
Q1 20.3
Q4 79.5
Q3 0.17
Q2 0.024
Q1 18.6
Q4 81.4
Q3 0
Q2 0
Q1 2.08
Q4 81.8
Q3 8.88
Q2 7.21
Q1 1.53
Q4 64.1
Q3 15.2
Q2 19.3
Q1 2.23
Q4 75.2
Q3 10.6
Q2 12.0
Q1 3.23
Q4 83.5
Q3 6.91
Q2 6.34
Q1 4.16
Q4 79.4
Q3 6.52
Q2 9.88

도면20a

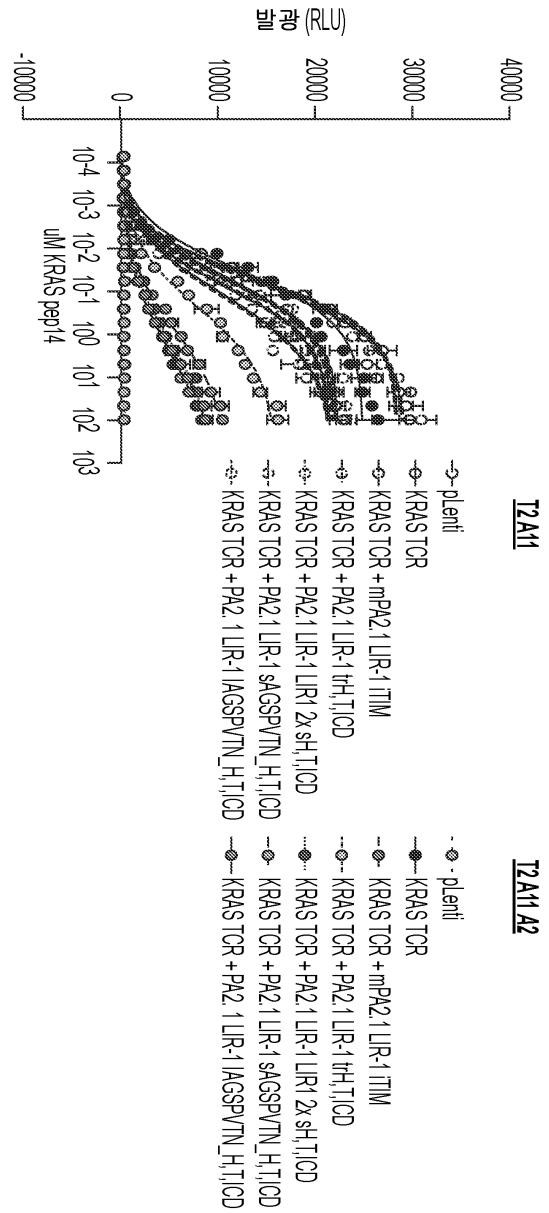

발광 (RLU)
0
20000
40000
60000
80000
10-5
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
uM KRAS pep14
pLenti [T2A11]
KRAS TCR [T2A11]
KRAS TCR + mPA2.1 LIR H, TM, ICD [T2A11]
KRAS TCR + hPA2.1 LIR1 ITIM (서열번호: 89) [T2A11]
KRAS TCR + hBB7.2 LIR1 H, TM, ICD [T2A11]
KRAS TCR + hPA2.1 LIR1 짧은 H, TM, ICD (서열번호: 90) [T2A11]
KRAS TCR + hBB7.2 LIR1 짧은 H, TM, ICD [T2A11]
pLenti [T2A11 A2]
KRAS TCR [T2A11 A2]
KRAS TCR + mPA2.1 LIR H, TM, ICD [T2A11 A2]
KRAS TCR + hPA2.1 LIR1 ITIM (서열번호: 89) [T2A11 A2]
KRAS TCR + hBB7.2 LIR1 H, TM, ICD [T2A11 A2]
KRAS TCR + hPA2.1 LIR1 짧은 H, TM, ICD (서열번호: 90) [T2A11 A2]
KRAS TCR + hBB7.2 LIR1 짧은 H, TM, ICD [T2A11 A2]

도면20b



PA2.1 scFv LIR1 HTICD	마우스 PA2.1	YGSQSSKPYLLTHPSDPLELWSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV
BB7.2.6 scFv LIR1 HTICD	hPBB7.2.6	YGSQSSKPYLLTHPSDPLELWSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV
BB7.2.6 scFv LIR1 sHTICD	hPBB7.2.6	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV
PA2.1.14 scFv LIR1 iTIM	hPA2.1.14	YGSQSSKPYLLTHPSDPLELWSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV
PA2.1.14 scFv LIR1 sHTICD	hPA2.1.14	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV

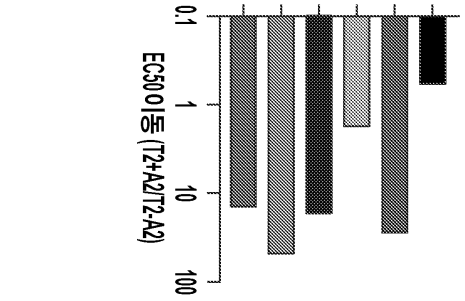
도면21a


발광 (RLU)
40000
30000
20000
10000
0
-10000
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
uM KRAS pep14
T2A11
pLenti
KRAS TCR
KRAS TCR + mPA2.1 LIR-1 ITIM
KRAS TCR + PA2.1 LIR-1 trH,T,ICD
KRAS TCR + PA2.1 LIR-1 LIR1 2x sH,T,ICD
KRAS TCR + PA2.1 LIR-1 sAGSPVTN_H,T,ICD
KRAS TCR + PA2. 1 LIR-1 IAGSPVTN_H,T,ICD
T2A11 A2
pLenti
KRAS TCR
KRAS TCR + mPA2.1 LIR-1 ITIM
KRAS TCR + PA2.1 LIR-1 trH,T,ICD
KRAS TCR + PA2.1 LIR-1 LIR1 2x sH,T,ICD
KRAS TCR + PA2.1 LIR-1 sAGSPVTN_H,T,ICD
KRAS TCR + PA2. 1 LIR-1 IAGSPVTN_H,T,ICD

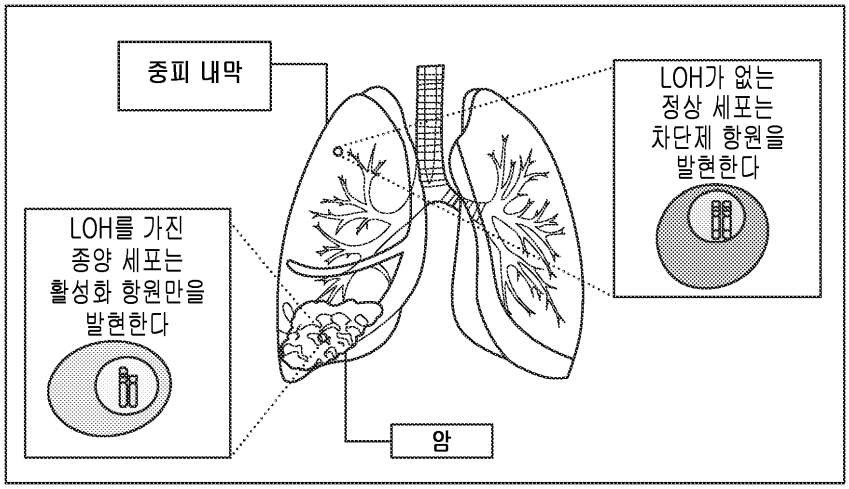
도면21b

mPA2.1_scFv LIR1 iTIM	SSYGSQSSKPYLLTHPSDPLELVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGIL
PA2.1_scFv LIR1 tHTICD	SSTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGIL
PA2.1_scFv sAGSPVTN_H LIR1 TICD	SSAGSGGSGGGSGGSPVPSTPPTPSPSTPPTPSPSGGSNSSGGSGSPVPSTPPTPSPSTPPTPSPSASVVIGIL
PA2.1_scFv IAGSPVTN_H LIR1 TICD	SSAGSGGSGGGSGGSPVPSTPPTNSSSTPPTPSPSPVPSTPPTNSSSTPPTPSPSPVPSTPPTNSSSTPPTPSPSASVVIGIL
PA2.1_scFv LIR1 2x sH TICD	SSVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGR HLGVVIGIL

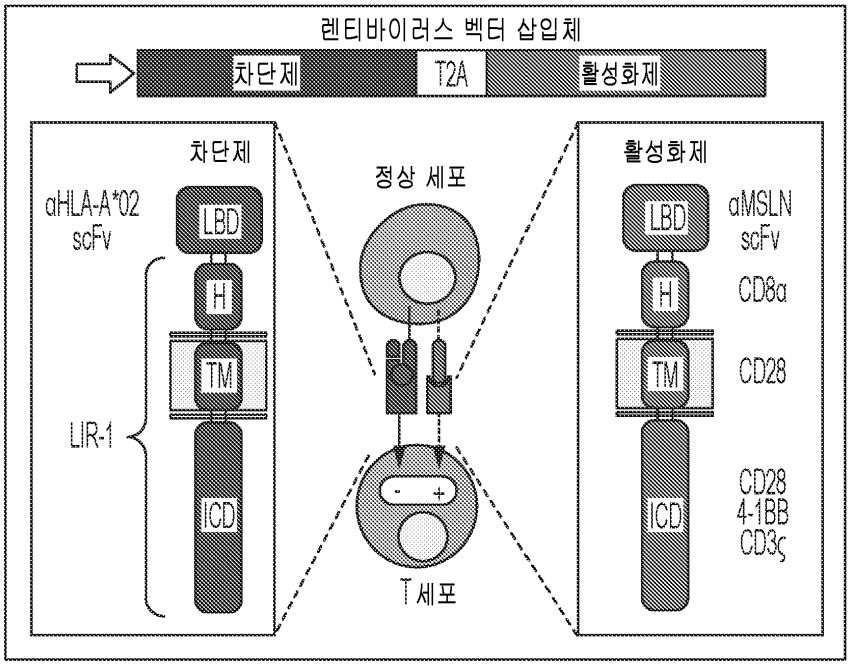
차단제	힌지	길이
mPA2.1_scFv LIR1 iTIM	LIR1	64
PA2.1_scFv LIR1 tHTICD	LIR1 절단	32
PA2.1_scFv LIR1 2x sH TICD	2x LIR1 짧음	85
PA2.1_scFv sAGSPVTN_H LIR1 TICD	sAGSPVTN	67
PA2.1_scFv IAGSPVTN_H LIR1 TICD	IAGSPVTN	75



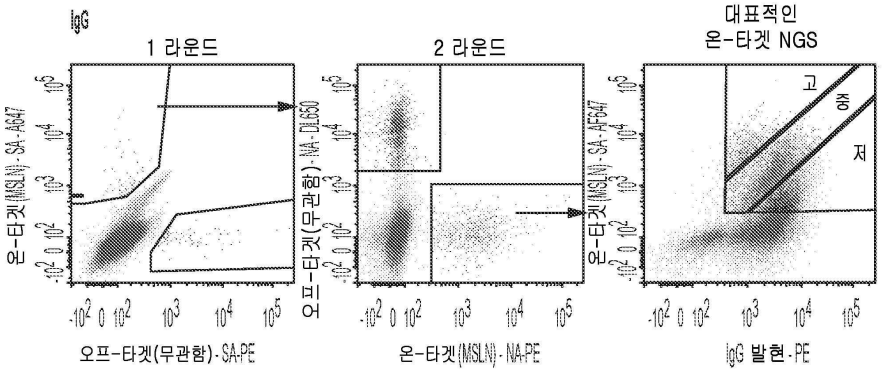
도면22a



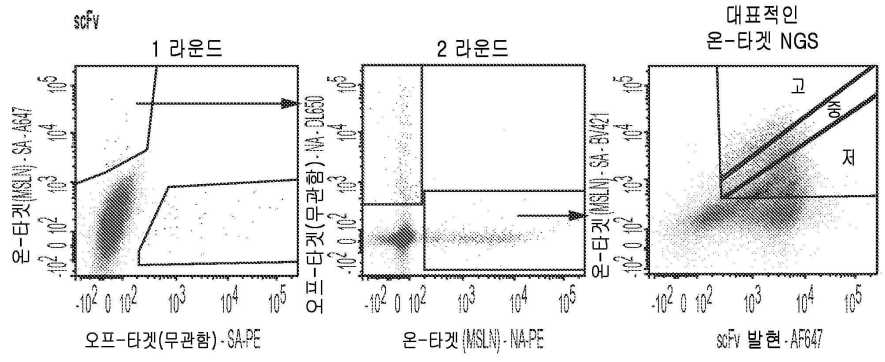
도면22b



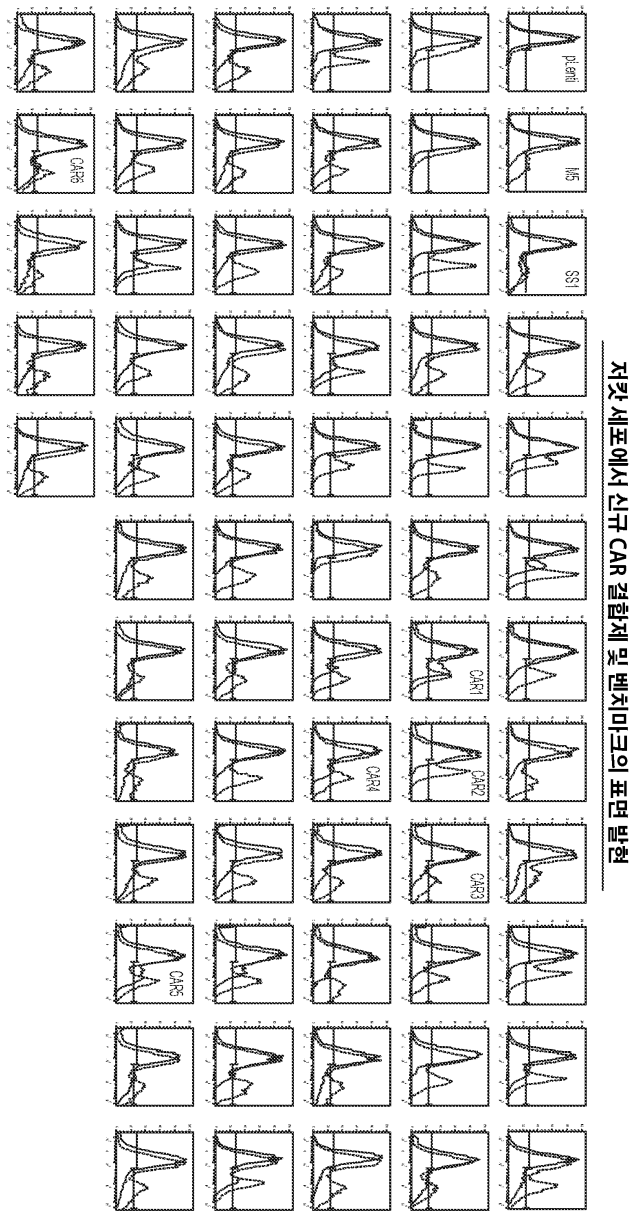
도면23a



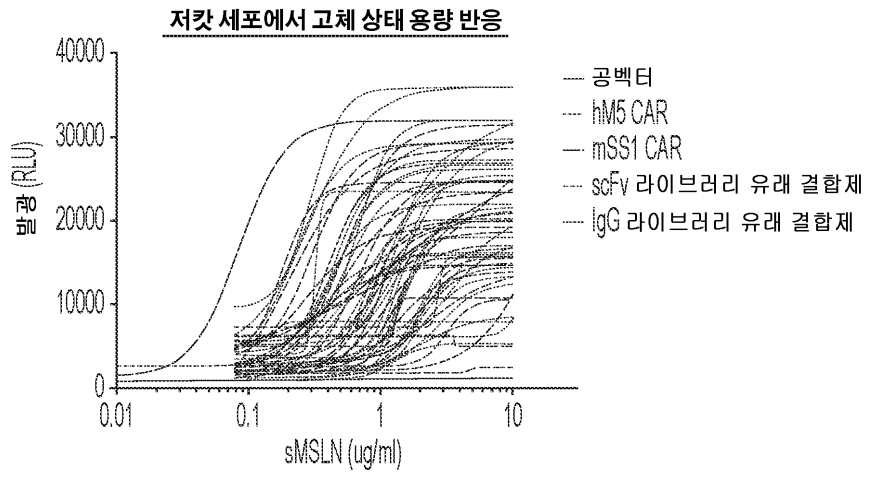
도면23b



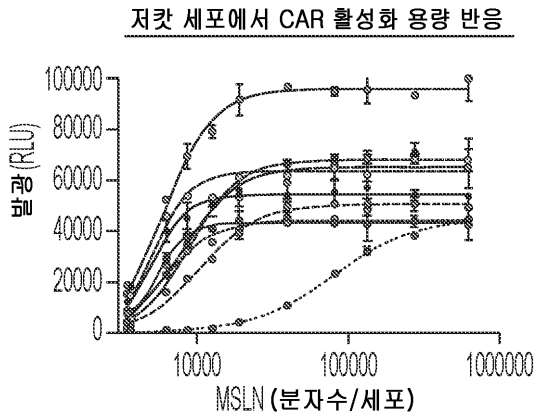
도면23c


pLenti
M5
SS1
CAR1
CAR2
CAR3
CAR5
저캇 세포에서 신규 CAR 결합제 및 벤치마크의 표면 발현

도면23d

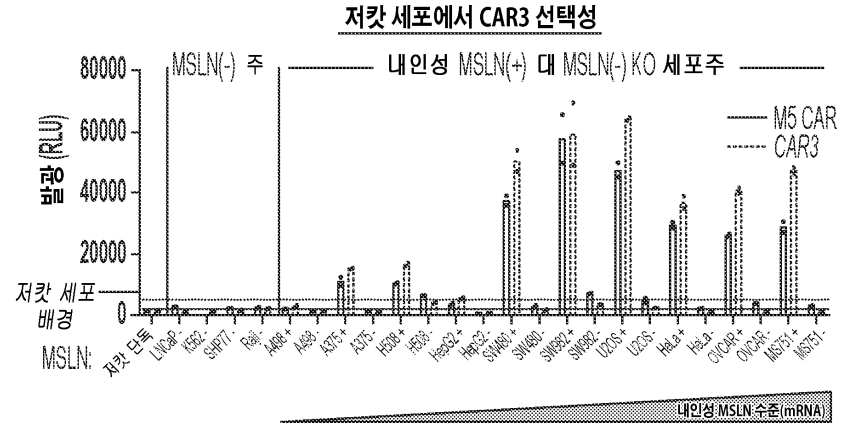

저캇 세포에서 고체 상태 용량 반응
40000
30000
20000
10000
0
발광 (RLU)
0.01
0.1
1
10
sMSLN (ug/ml)
공벡터
hM5 CAR
mSS1 CAR
scFv 라이브러리 유래 결합제
IgG 라이브러리 유래 결합제

도면24a

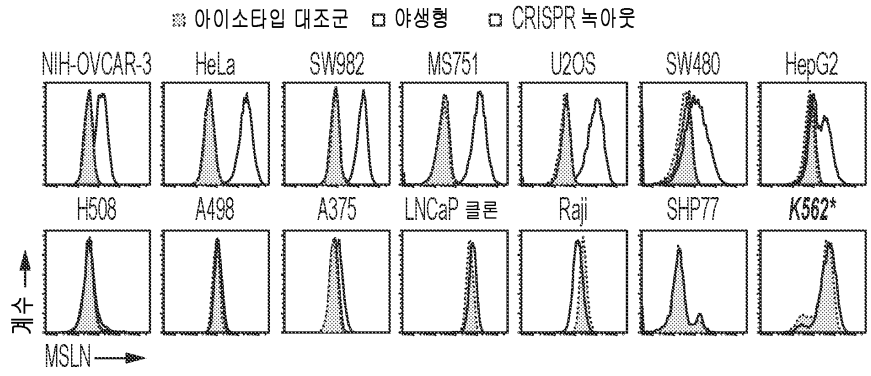


	공급원	EC_{50} (분자수/세포)	E_{max} (RLU)
○	CAR1	5,700	45,000
○	CAR2	<3,000	96,000
○	CAR3	3,100	63,000
●	CAR4	<3,000	53,000
○	CAR5	<3,000	65,000
●	CAR6	3,100	68,000
●	M5	3,500	42,000
○	SS1	6,000	51,000
○	m912	80,000	42,000

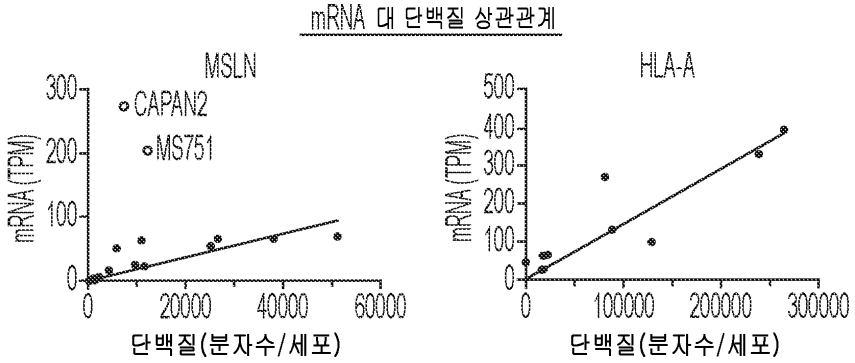
도면24b



도면25a



도면25b



도면26a

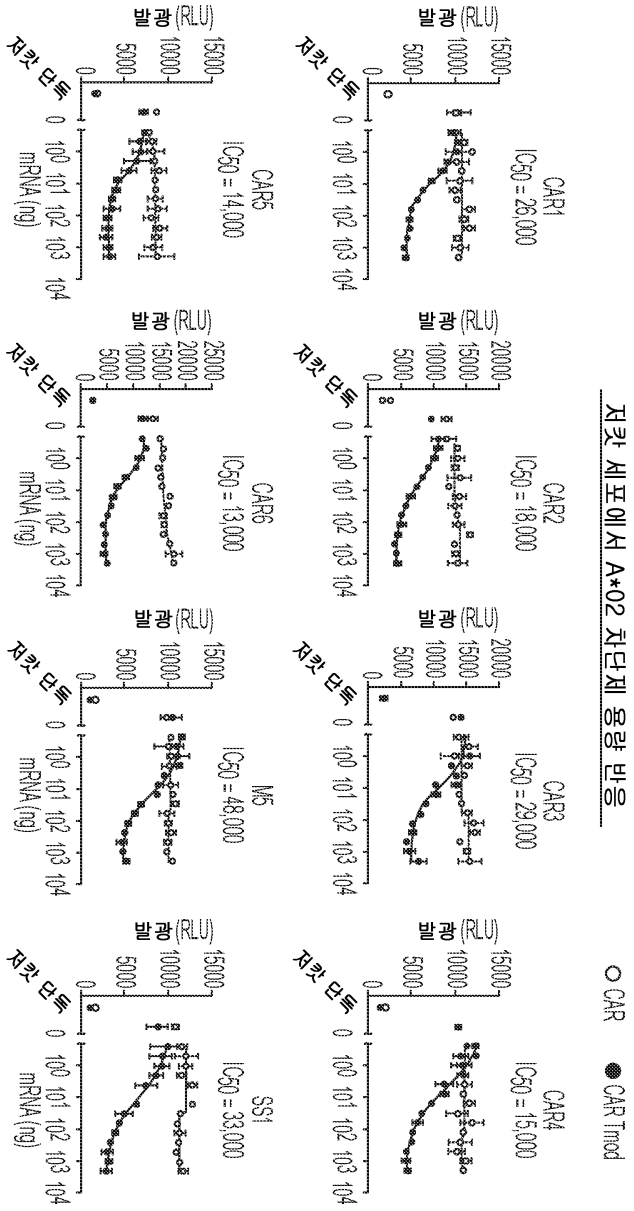
	mRNA			단백질		
종양 세포주	MSLN (TPM)	HLA-A (TPM)	A*02:MSLN 비율	MSLN (분자수/세포)	A*02 (분자수/세포)	A*02:MSLN 비율
MS751 (자궁경부; A*02:01, A*24:02)	205	156	0.4	12,000	28,000	2.3
MS751 (A*02로 형질도입됨)	205	438	2.1	12,000	301,000	25
HeLa (자궁경부; A*68:02, A*68:02; A*02 로 형질도입됨)	66	85	**해당 없음**	27,000	740,000	27
NIH-OVCAR-3 (난소; A*02:01, A*29:02)	70	81	0.6	51,000	25,000	0.5
U2OS (뼈; A*02:01, A*32:01)	25	108	2.2	9,600	18,000	1.9
SW982 (활막; A*02:01, A*02:01)	22	533	24	12,000	240,000	20
종양	MSLN (TPM)	A*02 (TPM)	A*02:MSLN 비율			
폐 선암종	371	LOH	**해당 없음**			
중피종	784	LOH	**해당 없음**			
난소	511	LOH	**해당 없음**			
정상 세포 (GTex)	MSLN (TPM)	HLA-A (TPM)	A*02:MSLN 비율			
폐	88	1934	22			

도면26b

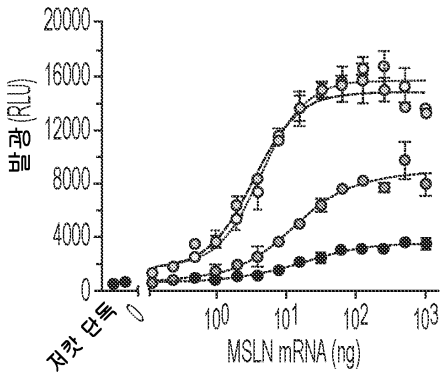
연구에 사용된 세포주의 MSLN 발현(분자수/세포)

	세포주	평균	표준편차
1	NIH-OVCAR-3	51,000	12,000
2	HeLa	27,000	1,900
3	SW982	12,000	730
4	MS751	12,000	1,700
5	U2OS	9,600	2,800
6	SW480	2,200	1,200
7	HEPG2	1,900	120
8	H508	1,000	400
9	LnCAP 클론FGC	930	220
10	A498	820	39
11	A375	630	170
12	Raji	180	5
13	SHP77	180	-
14	K562	해당 없음	해당 없음

도면27a

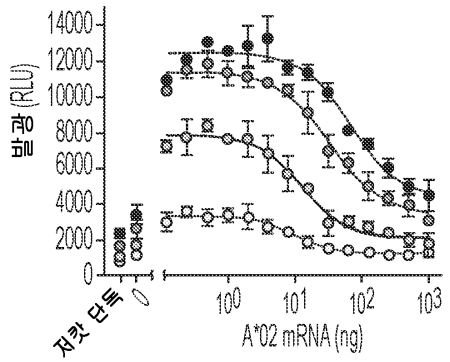


도면27b



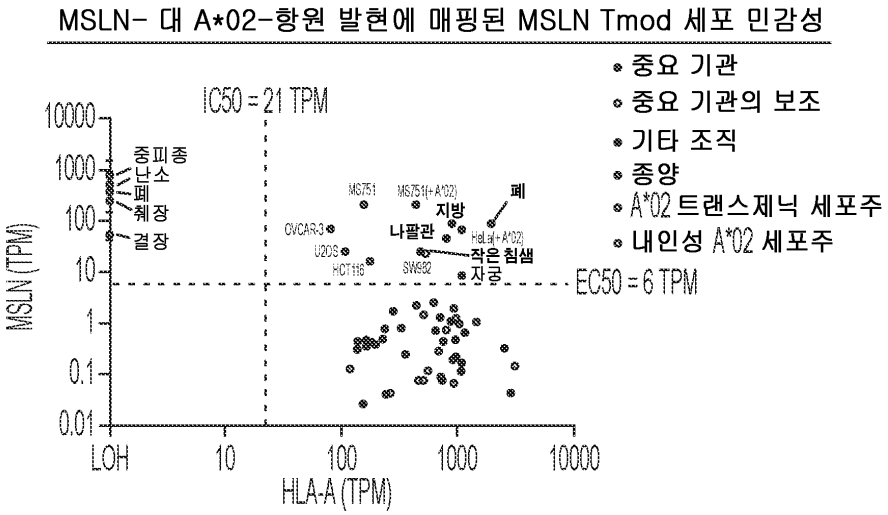
	A*02 mRNA (ng)	EC_{50} (분자수/세포)	E_{max} (RLU)
●	1000	42,000	3,500
◉	50	26,000	7,200
◎	2.5	9,000	11,000
○	0	7,700	12,000

도면27c

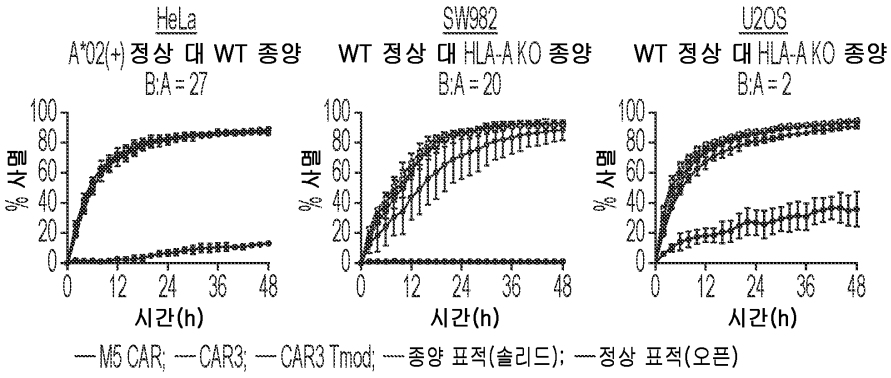


	MSLN mRNA (ng)	IC50 (분자수/세포)	Imax (RLU)
●	250	182,000	4,400
◉	50	60,000	3,400
◉	10	12,000	2,100
○	2	7,400	1,200

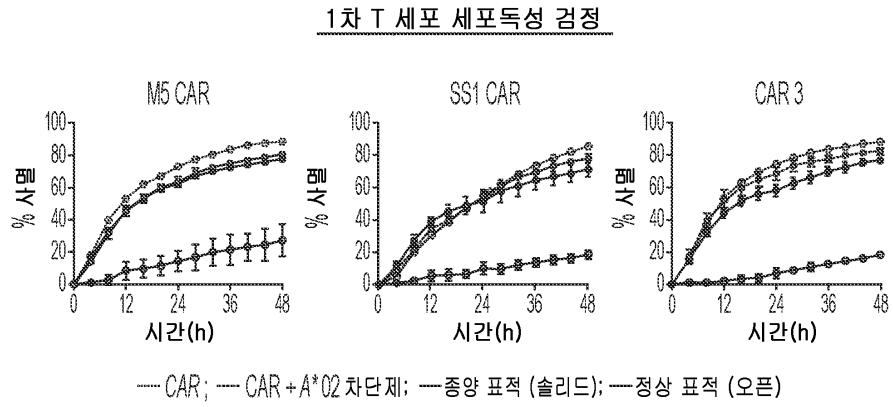
도면28a



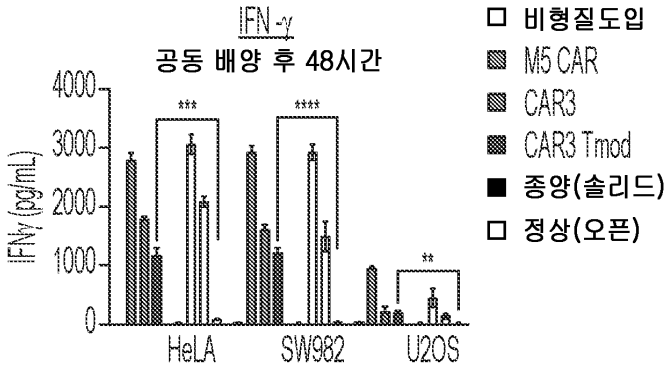
도면28b



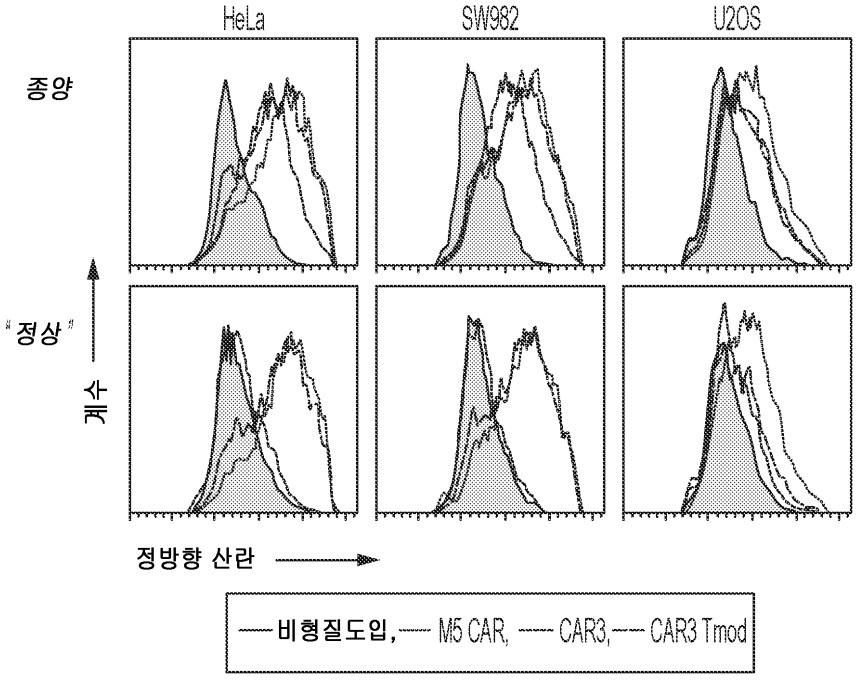
도면29a



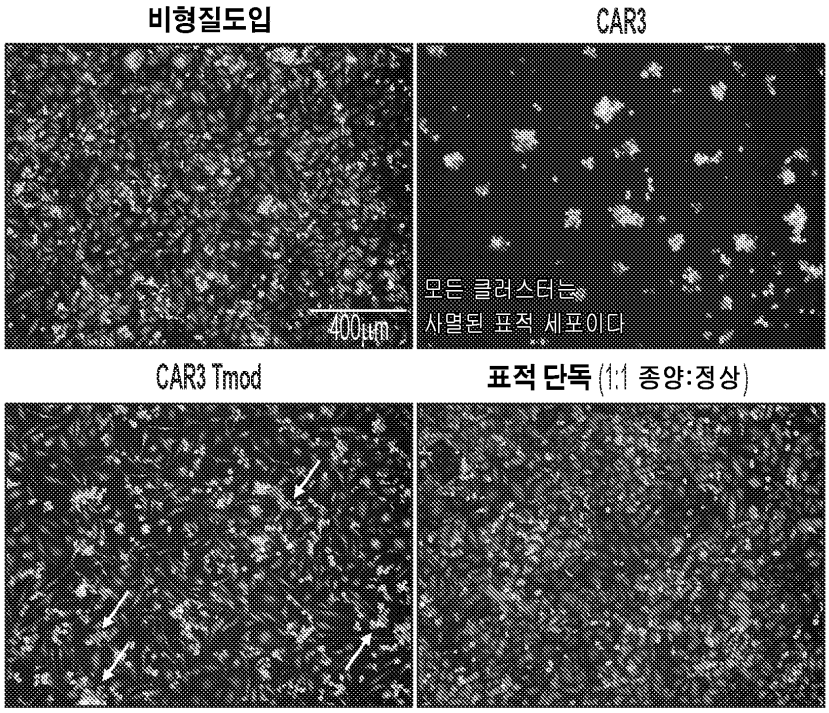
도면29b



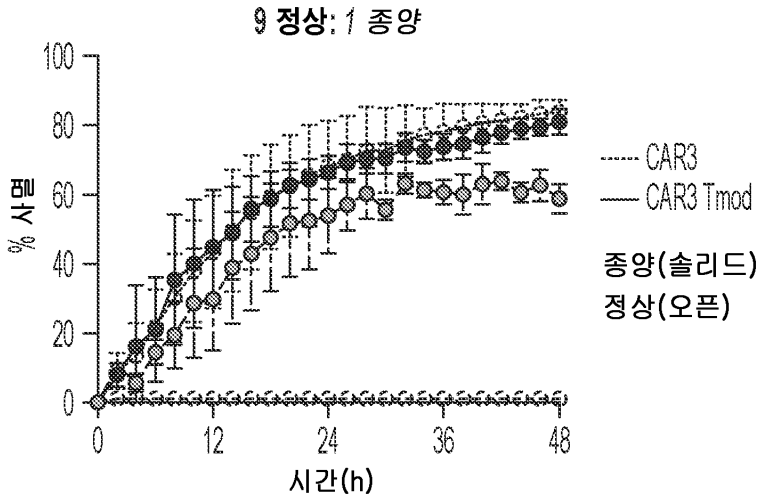
도면29c



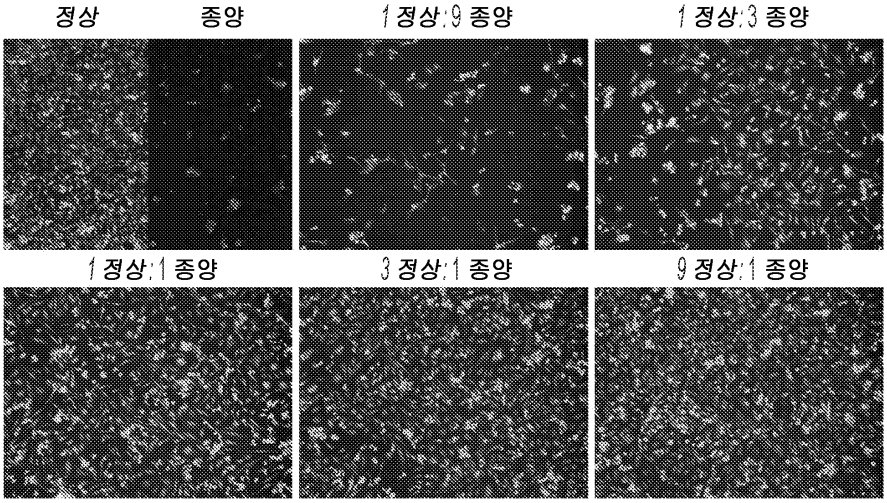
도면30a


비형질도입
CAR3
400μm
모든 클러스터는
사멸된 표적 세포이다
CAR3 Tmod
표적 단독 (1:1 종양:정상)

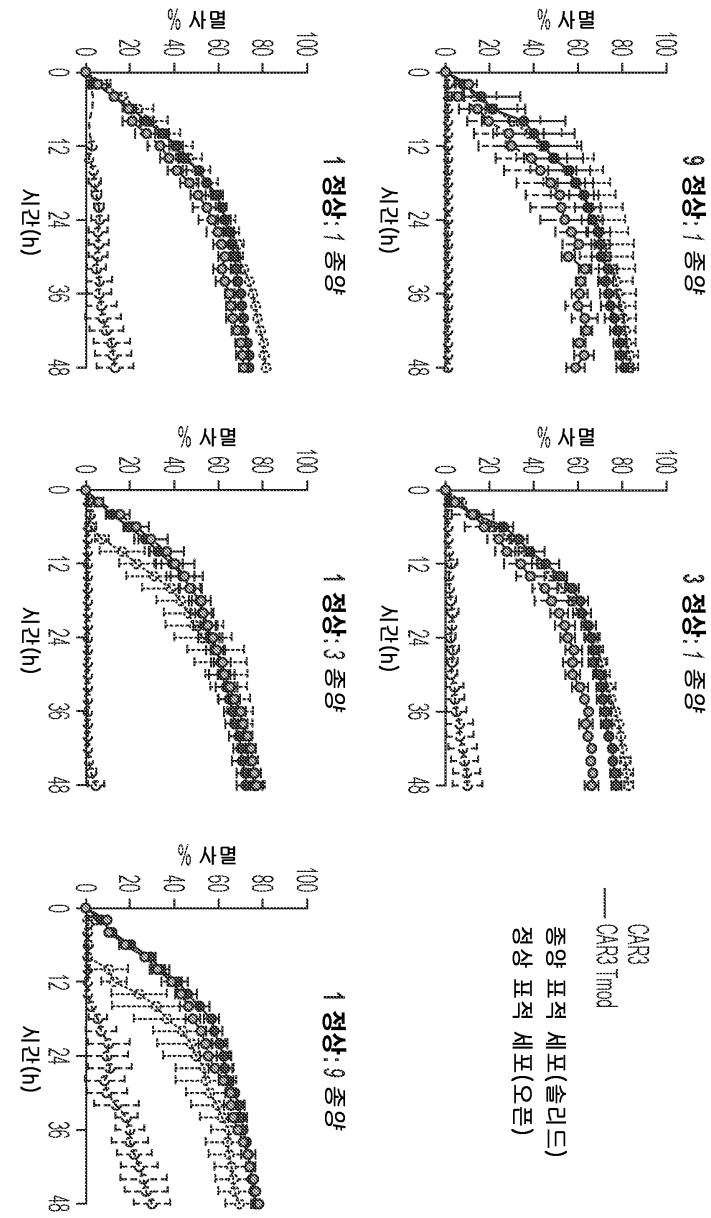
도면30b


9 정상: 1 종양
% 사멸
100
80
60
40
20
0
0
12
24
36
48
시간(h)
CAR3
CAR3 Tmod
종양(솔리드)
정상(오픈)

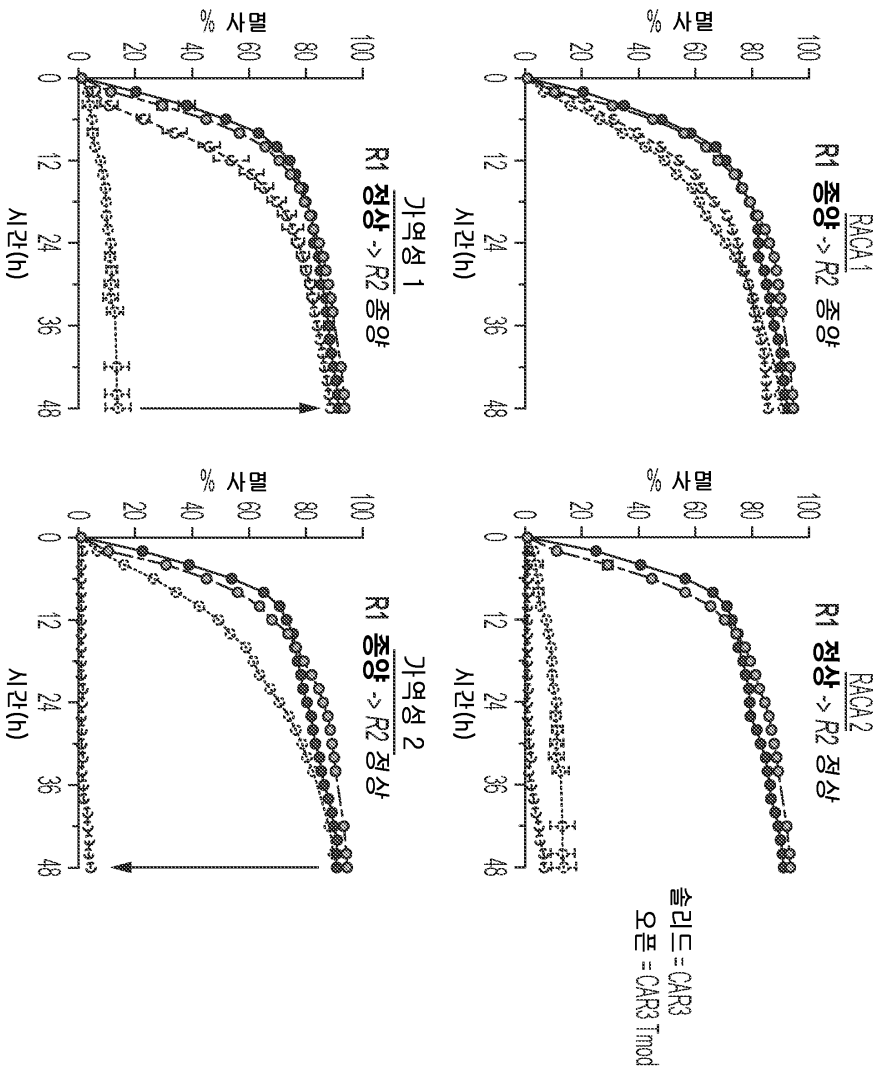
도면31a



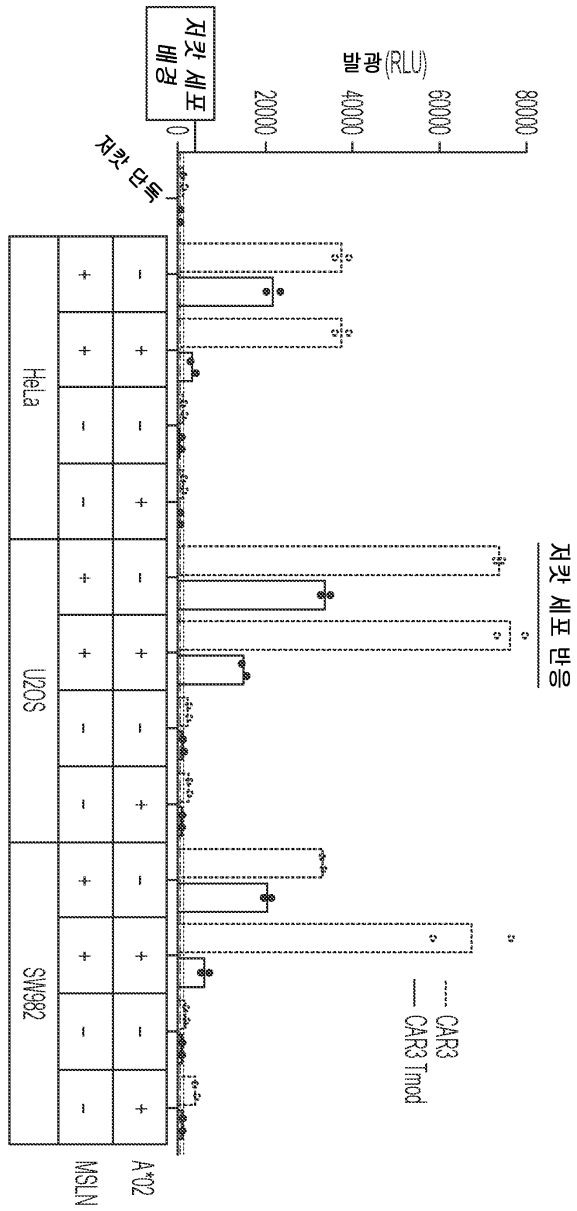
도면31b


9 정상: 1 종양
3 정상: 1 종양
1 정상: 1 종양
1 정상: 3 종양
1 정상: 9 종양
% 사멸
시간(h)
CAR3
CAR3 Tmod
종양 표적 세포(솔리드)
정상 표적 세포(오픈)

도면32a


RACA1
R1 종양 -> R2 종양
RACA2
R1 정상 -> R2 정상
가역성 1
R1 정상 -> R2 종양
가역성 2
R1 종양 -> R2 정상
% 사멸
시간(h)
0
20
40
60
80
100
0
12
24
36
48
솔리드 = CAR3
오픈 = CAR3 Tmod

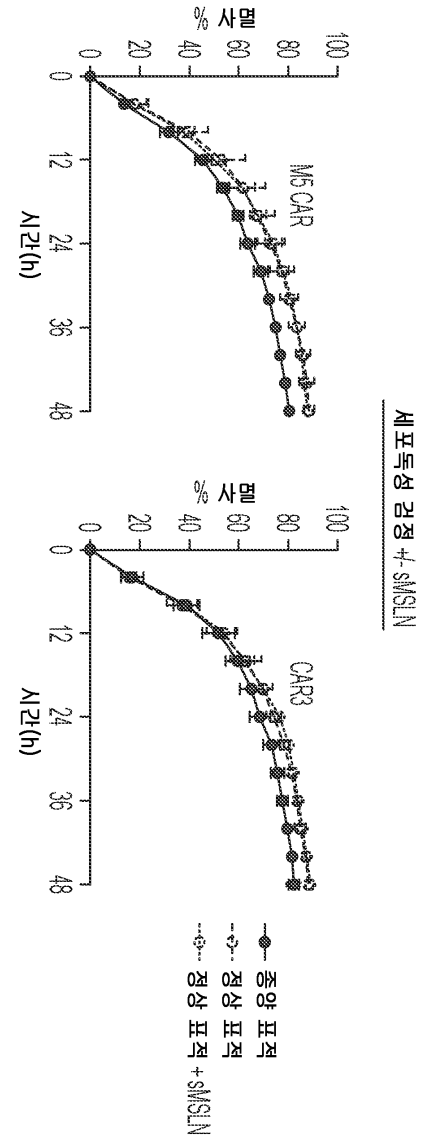
도면32b


저캇 세포 배양
발광(RLU)
0
20000
40000
60000
80000
저캇 단독
저캇 세포 반응
CAR3
CAR3 Tmod
HeLa
U2OS
SW982
A*02
MSLN

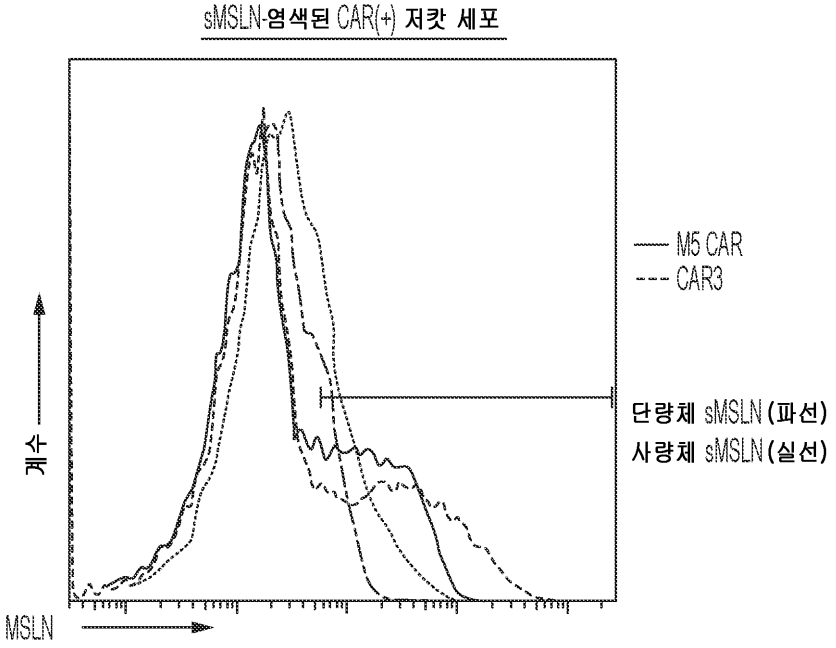
도면33a

반복-항원 세포 독성 검정
(RACA) 실험 셋업
= CAR 또는 Tmod T 세포
48시간 공동배양 후 T 세포를
옮기고 새로운 표적에 재시딩
1 라운드
2 라운드
RACA1
RACA2
종양 표적
정상 표적
종양 표적
정상 표적
가역성 검정
실험 셋업
= CAR 또는 Tmod T 세포
48시간 공동배양 후 T 세포를
옮기고 새로운 표적에 재시딩
1 라운드
2 라운드
가역성 1
가역성 2
정상 표적
종양 표적
정상 표적
종양 표적

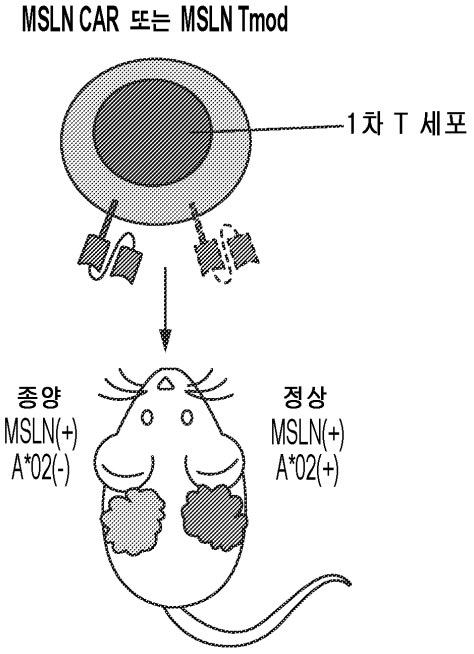
도면33b



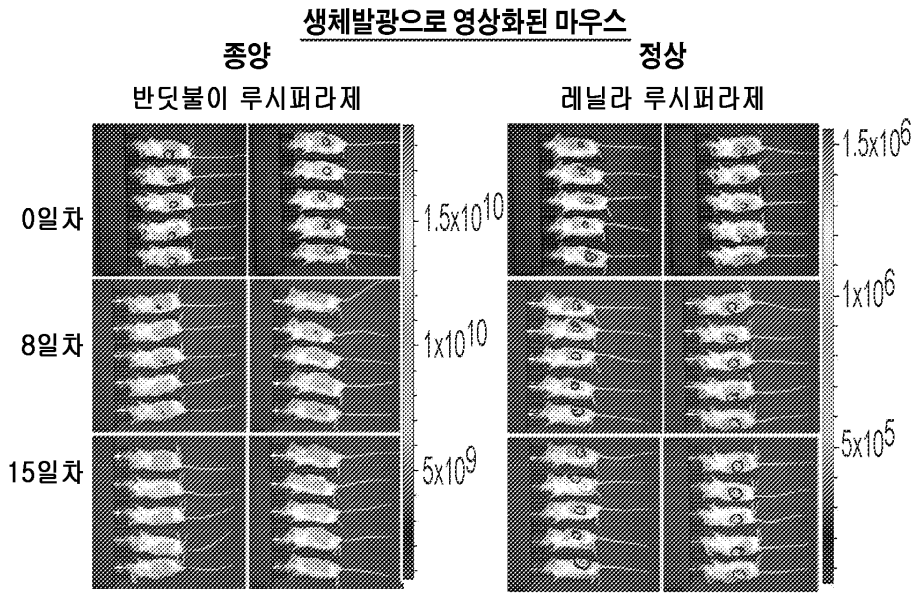
도면33c


sMSLN-염색된 CAR(+) 저캇 세포
M5 CAR
CAR3
단량체 sMSLN (파선)
사량체 sMSLN (실선)
세포 수
MSLN

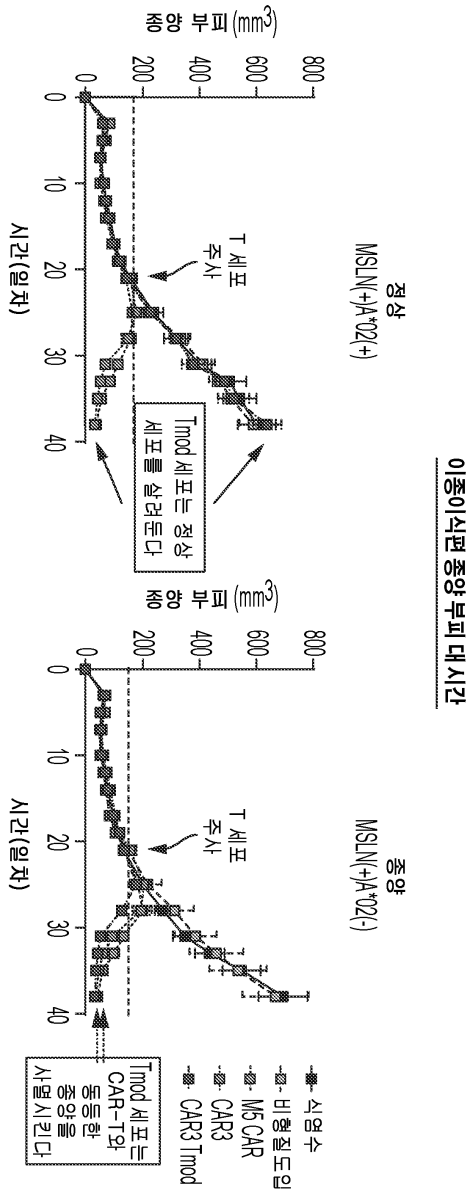
도면34a


MSLN CAR 또는 MSLN Tmod
1차 T 세포
종양
MSLN(+)
A*02(-)
정상
MSLN(+)
A*02(+)

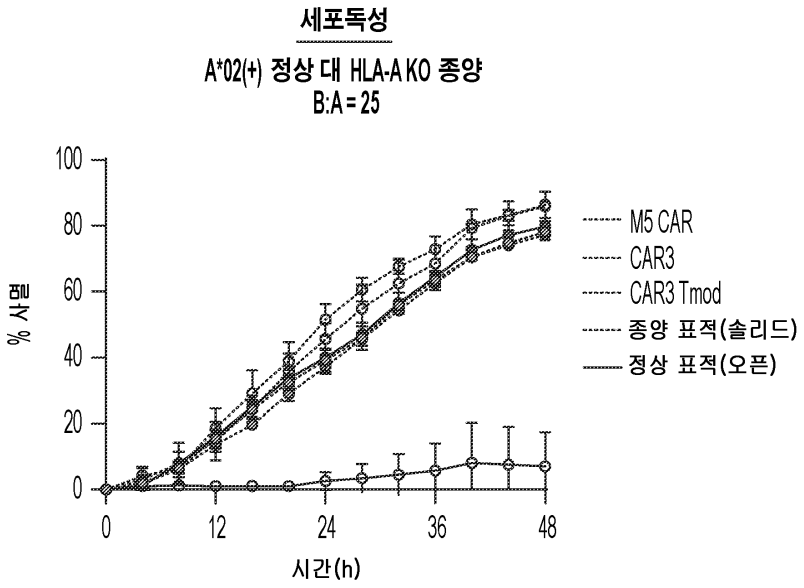
도면34b


생체발광으로 영상화된 마우스
종양
정상
반딧불이 루시퍼라제
레닐라 루시퍼라제
0일차
8일차
15일차
1.5x10^10
1x10^10
5x10^9
1.5x10^6
1x10^6
5x10^5

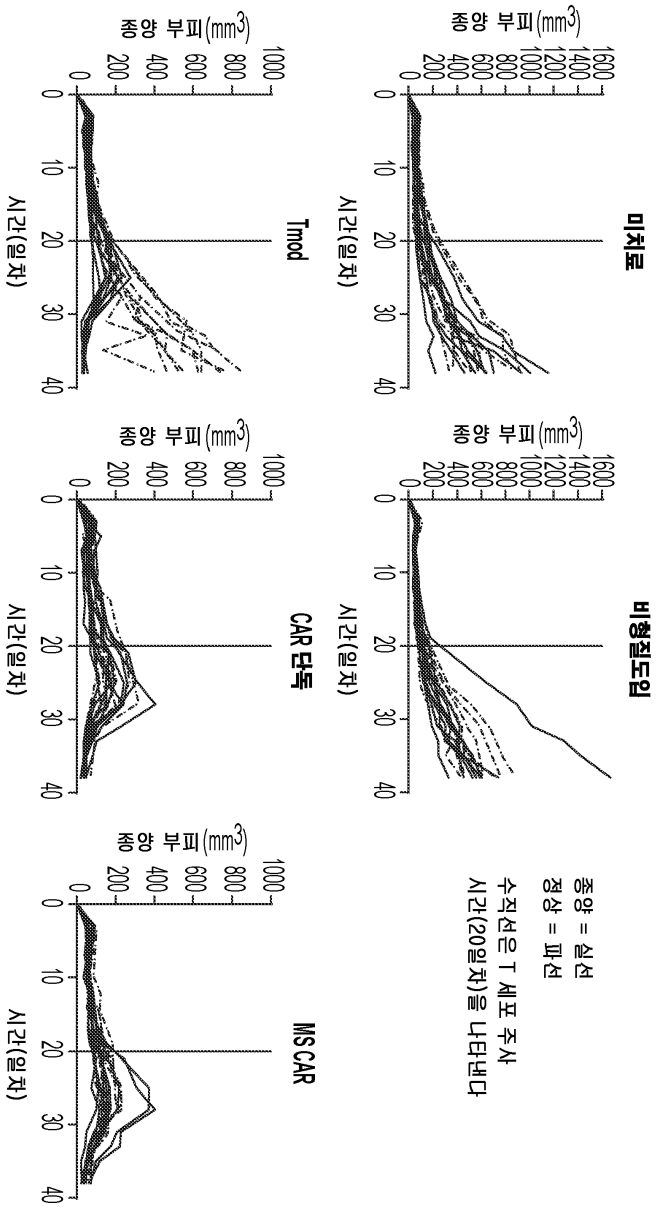
도면34c


이종이식편 종양 부피 대 시간
정상
MSLN(+)A*02(+)
종양
MSLN(+)A*02(-)
종양 부피 (mm3)
시간(일차)
T 세포 주사
Tmod 세포는 정상 세포를 살려둔다
Tmod 세포는 CAR-T와 동등한 종양을 사멸시킨다
식염수
비형질도입
M5 CAR
CAR3
CAR3 Tmod

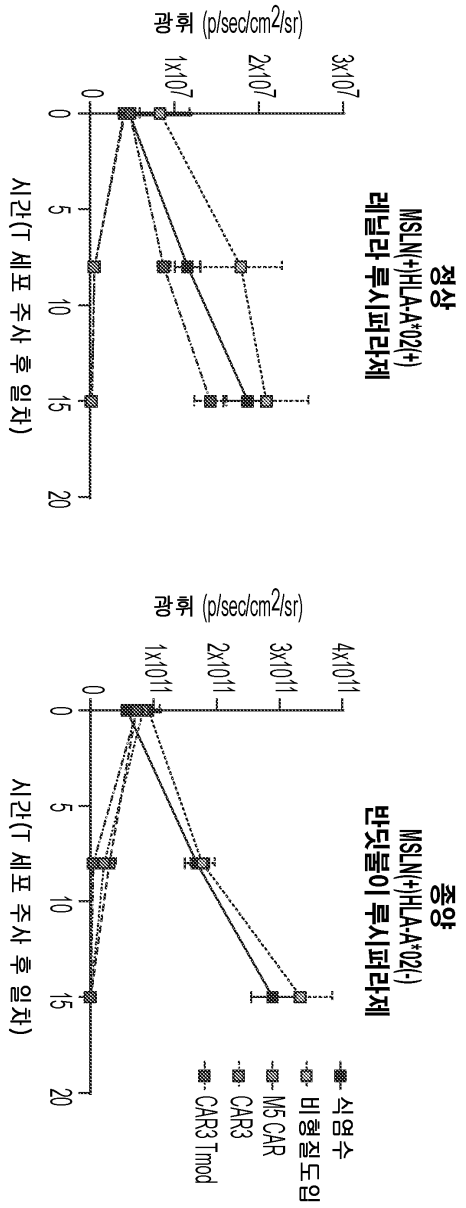
도면35a


세포독성
A*02(+) 정상 대 HLA-A KO 종양
B:A = 25
% 사멸
100
80
60
40
20
0
0
12
24
36
48
시간(h)
M5 CAR
CAR3
CAR3 Tmod
종양 표적(솔리드)
정상 표적(오픈)

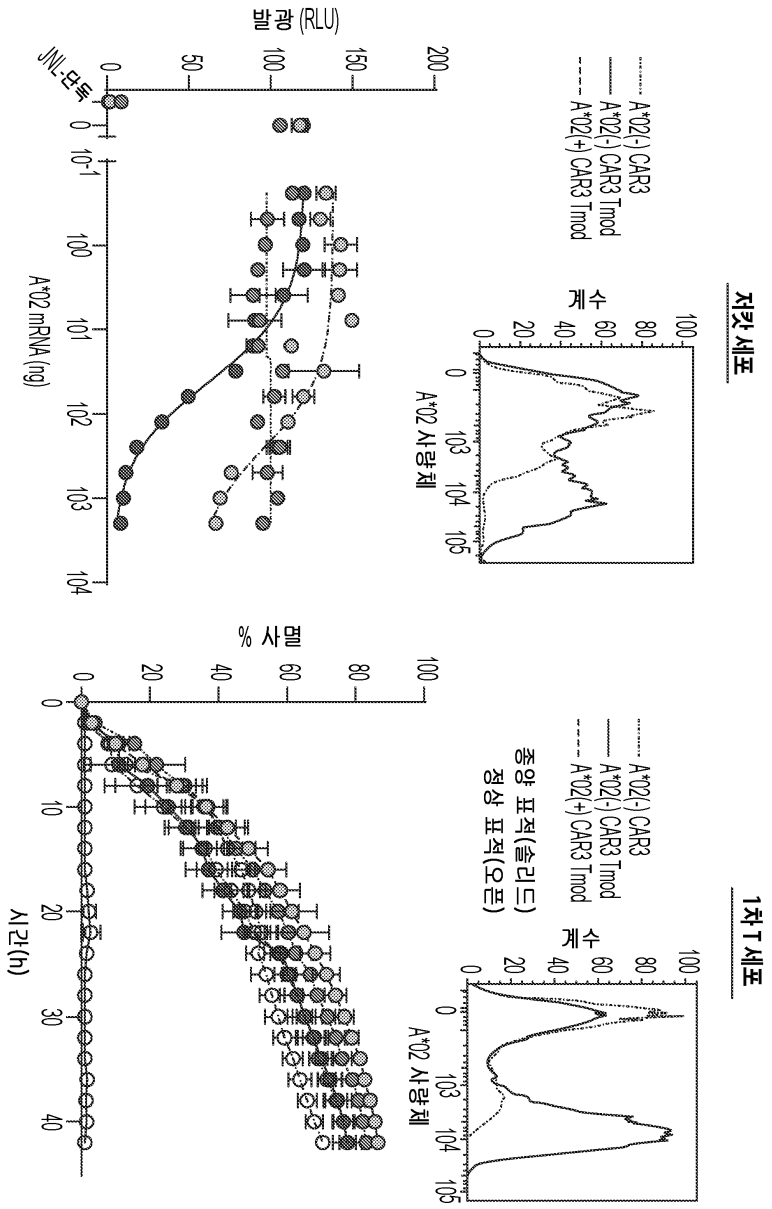
도면35b


종양 부피(mm3)
시간(일차)
미처료
비형질도입
Tmod
CAR 단독
MS CAR
종양 = 실선
정상 = 파선
수직선은 T 세포 주사
시간(20일차)을 나타낸다

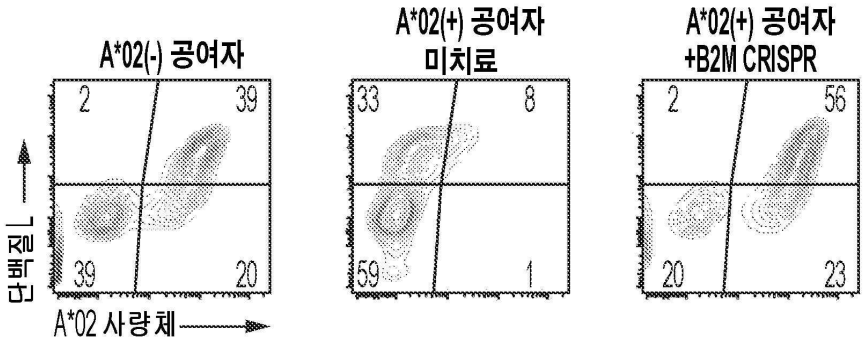
도면35c


정상
MSLN(+)HLA-A*02(+)
레닐라 루시퍼라제
광휘 (p/sec/cm2/sr)
1x107
2x107
3x107
0
시간(T 세포 주사 후 일차)
0
5
10
15
20
종양
MSLN(+)HLA-A*02(-)
반딧불이 루시퍼라제
광휘 (p/sec/cm2/sr)
1x1011
2x1011
3x1011
4x1011
0
시간(T 세포 주사 후 일차)
0
5
10
15
20
식염수
비형질도입
M5 CAR
CAR3
CAR3 Tmod

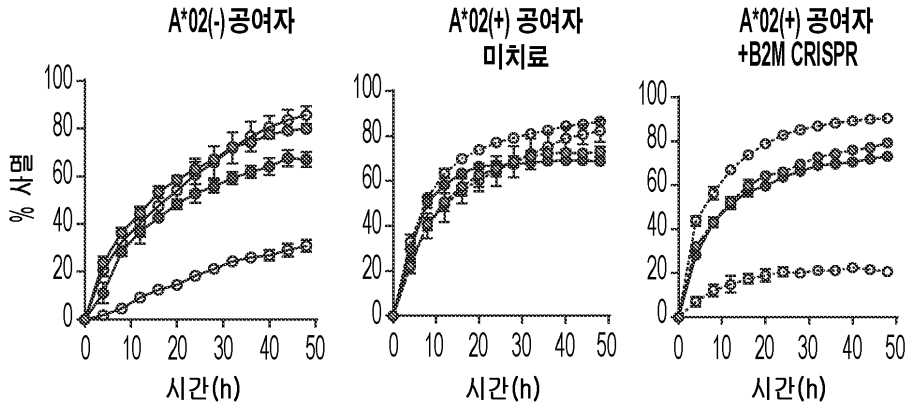
도면36


발광 (RLU)
JNL-모독
A*02 mRNA (ng)
A*02(-) CAR3
A*02(-) CAR3 Tmod
A*02(+) CAR3 Tmod
저캇 세포
계수
A*02 사량체
% 사멸
시간(h)
종양 표적(솔리드)
정상 표적(오른)
1차 T 세포

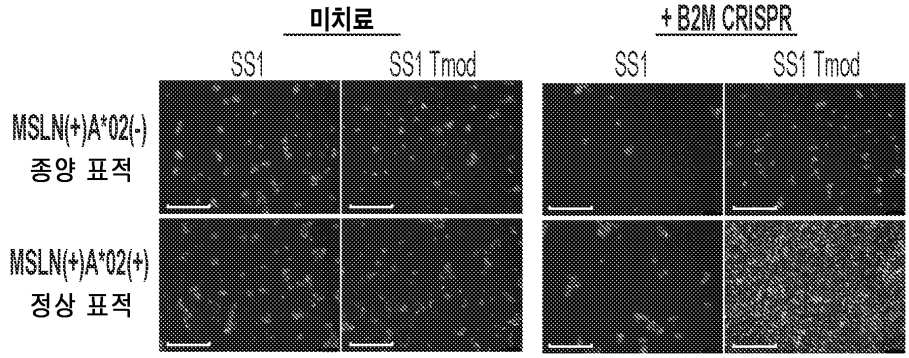
도면37a


A*02(-) 공여자
A*02(+) 공여자
미치료
A*02(+) 공여자
+B2M CRISPR
2
39
39
20
33
8
59
1
2
56
20
23
글루텐
A*02 사량체

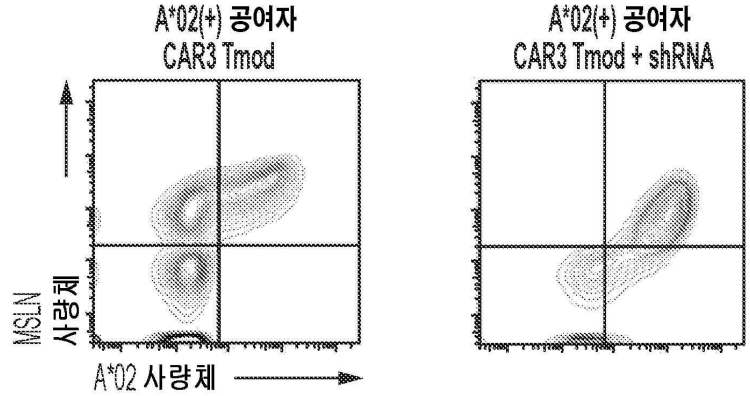
도면37b



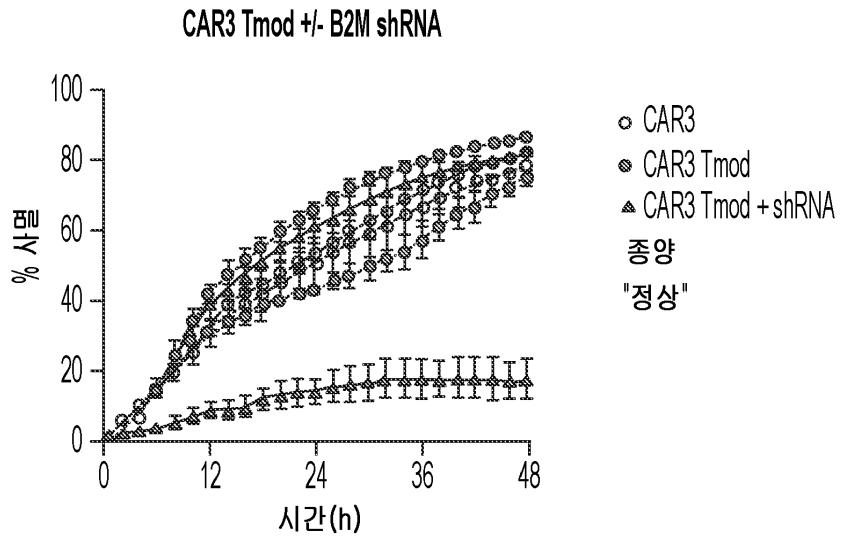
도면37c



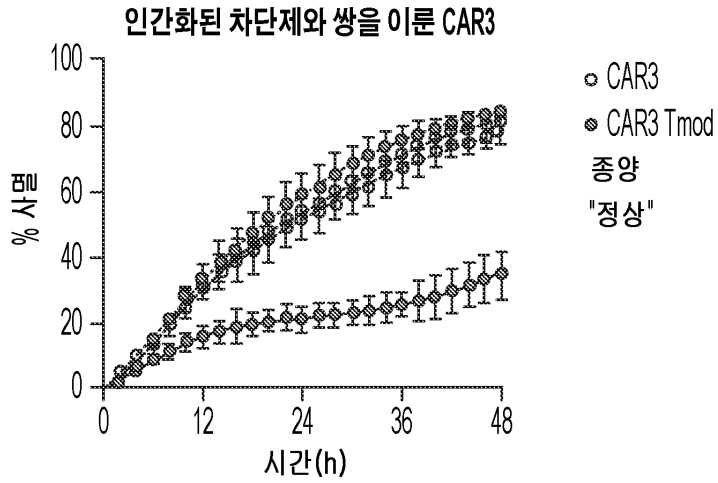
도면37d



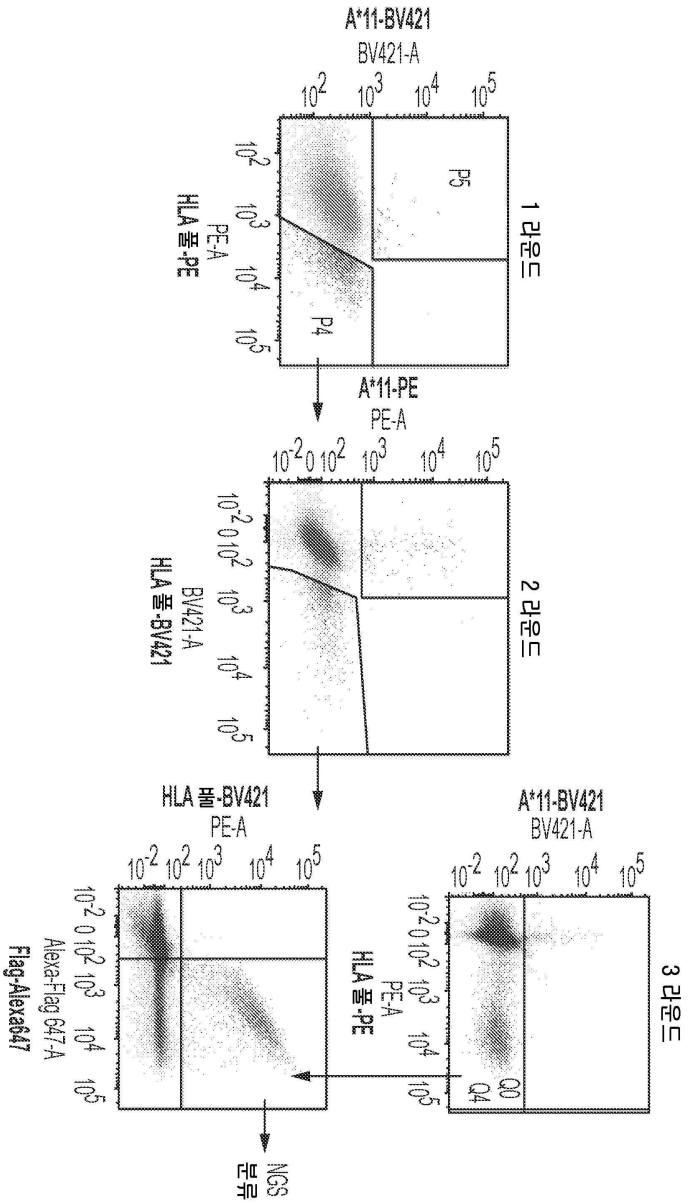
도면37e


CAR3 Tmod +/- B2M shRNA
% 사멸
100
80
60
40
20
0
0
12
24
36
48
시간(h)
CAR3
CAR3 Tmod
CAR3 Tmod + shRNA
종양
"정상"

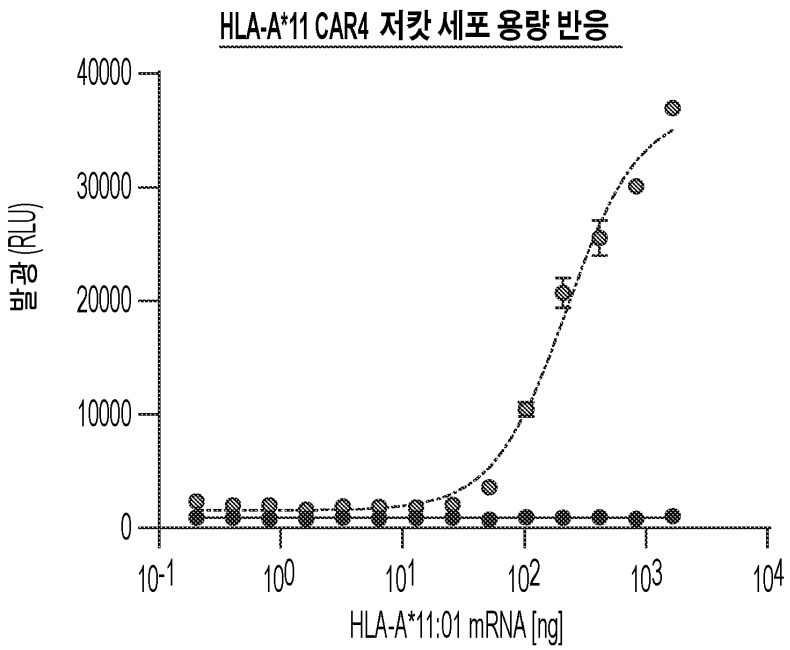
도면37f


인간화된 차단제와 쌍을 이룬 CAR3
% 사멸
100
80
60
40
20
0
0
12
24
36
48
시간(h)
CAR3
CAR3 Tmod
종양
"정상"

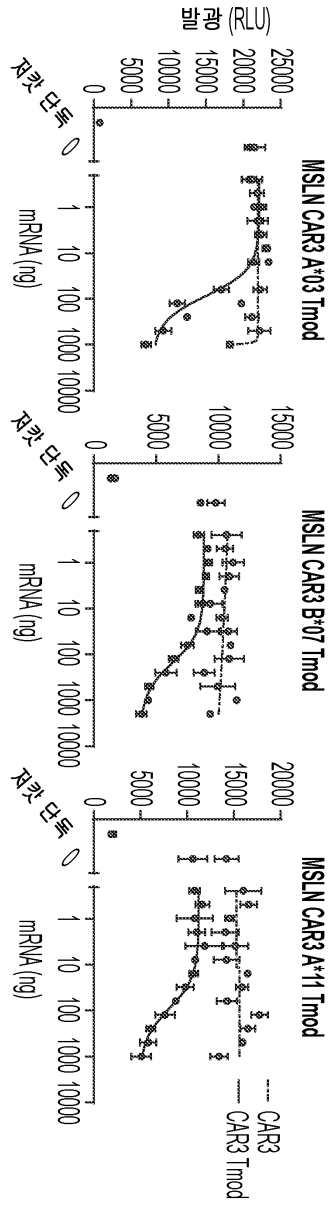
도면38a


A*11-BV421
BV421-A
HLA 풀-PE
PE-A
P5
P4
1 라운드
A*11-PE
PE-A
HLA 풀-BV421
BV421-A
2 라운드
HLA 풀-BV421
PE-A
Flag-Alexa647
Alexa-Flag 647-A
A*11-BV421
BV421-A
HLA 풀-PE
PE-A
Q0
Q4
3 라운드
분류
NGS

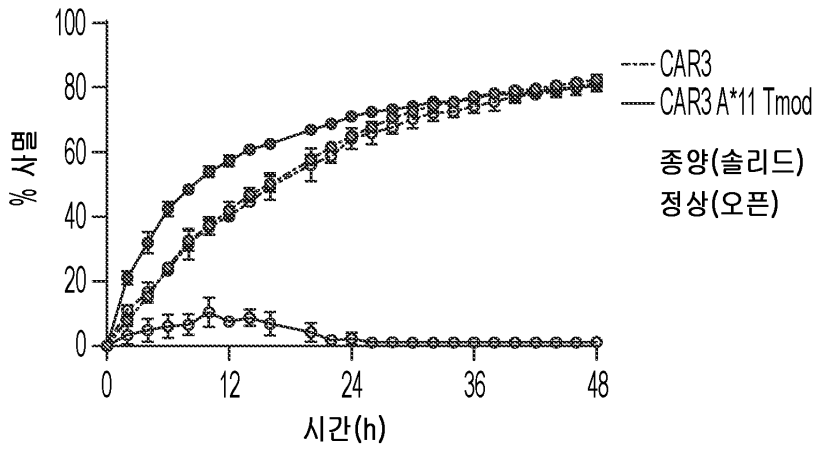
도면38b


HLA-A*11 CAR4 저캇 세포 용량 반응
40000
30000
20000
10000
0
발광 (RLU)
10-1
100
101
102
103
104
HLA-A*11:01 mRNA [ng]

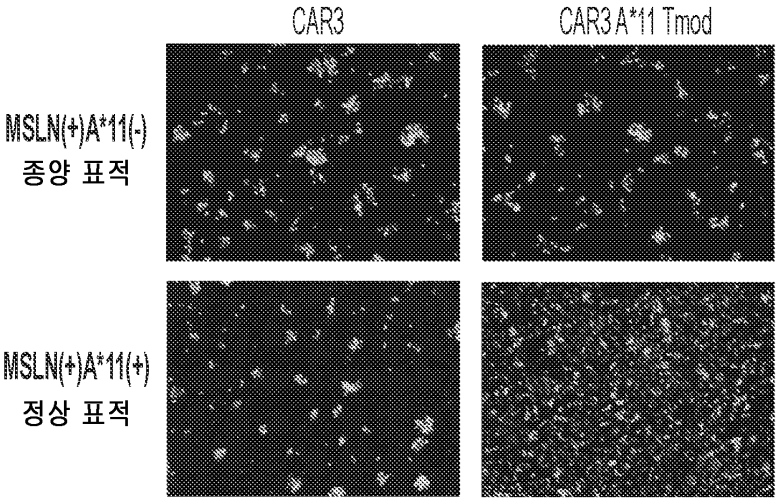
도면39a


발광 (RLU)
MSLN CAR3 A*03 Tmod
MSLN CAR3 B*07 Tmod
MSLN CAR3 A*11 Tmod
저항 단독
mRNA (ng)
CAR3
CAR3 Tmod

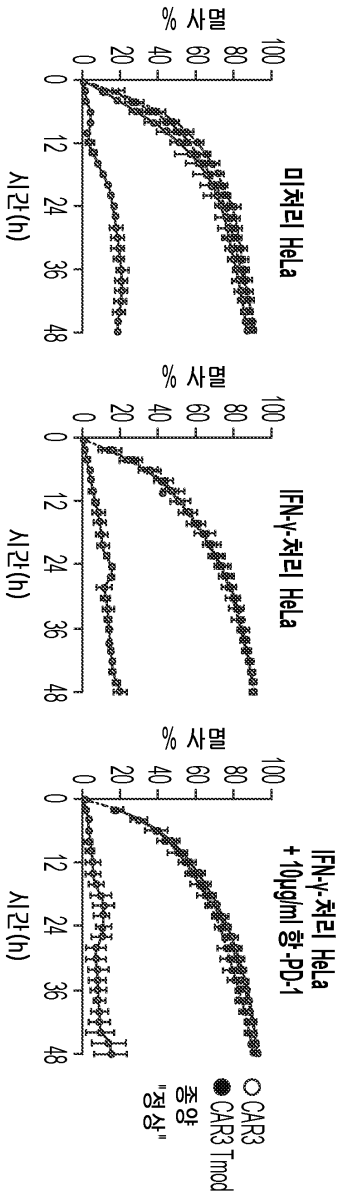
도면39b


CAR3
CAR3 A*11 Tmod
종양(솔리드)
정상(오픈)
% 죽음
시간(h)

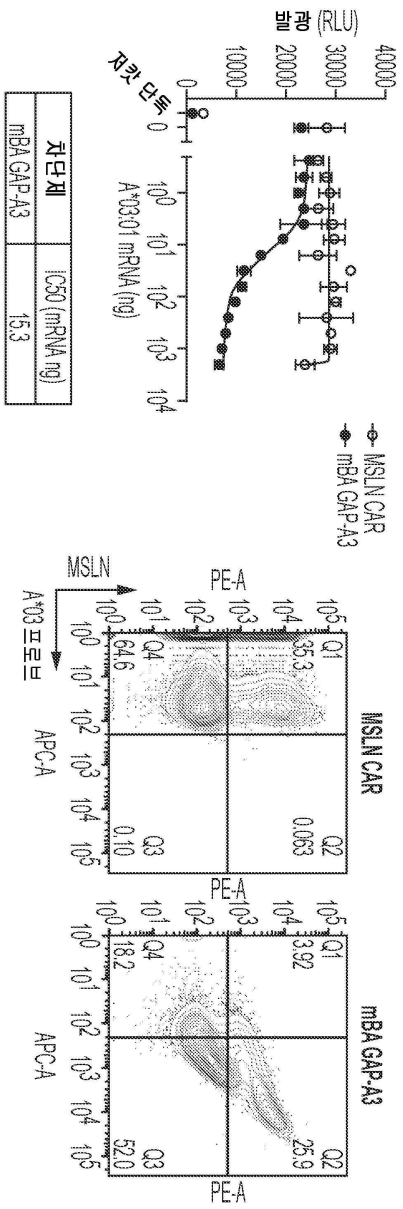
도면39c



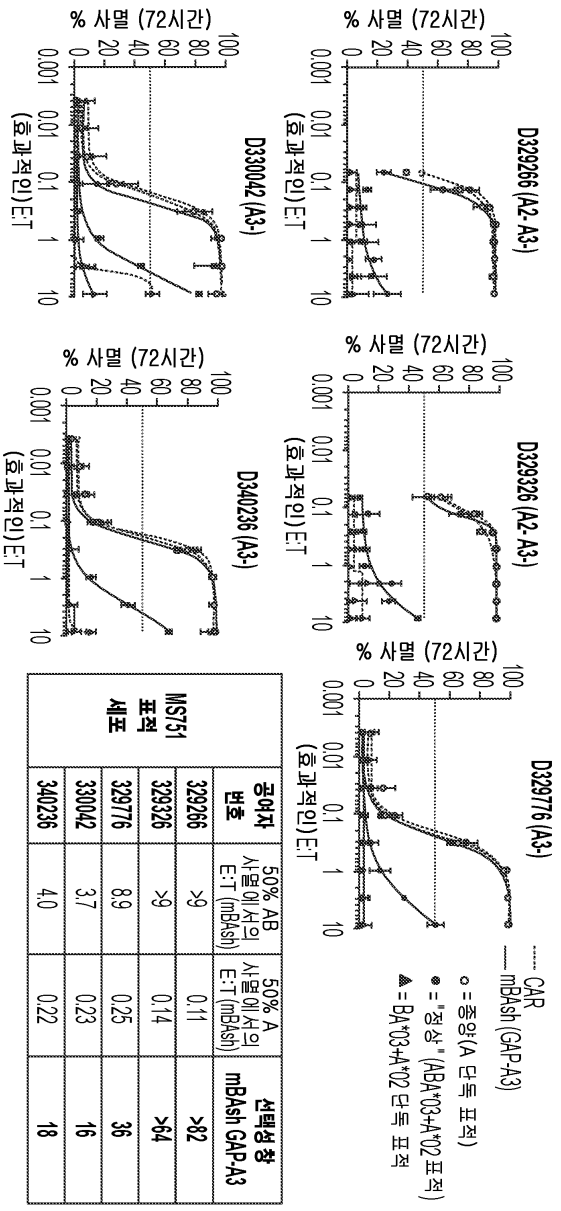
도면40


% 사멸
0
20
40
60
80
100
시간(h)
0
12
24
36
48
미처리 HeLa
IFN-γ-처리 HeLa
IFN-γ-처리 HeLa
+ 10μg/ml 항-PD-1
CAR3
CAR3 Tmod
종양
"정상"

도면41


발광 (RLU)
40000
30000
20000
10000
0
자킷 단독
0
A*03:01 mRNA (ng)
MSLN CAR
mBA GAP-A3
자단제
IC50 (mRNA ng)
mBA GAP-A3
15.3
MSLN
PE-A
APC-A
A*03 프로브
Q1
35.3
Q4
64.6
Q2
0.063
Q3
0.10
MSLN CAR
Q1
3.92
Q4
18.2
Q2
25.9
Q3
52.0
mBA GAP-A3

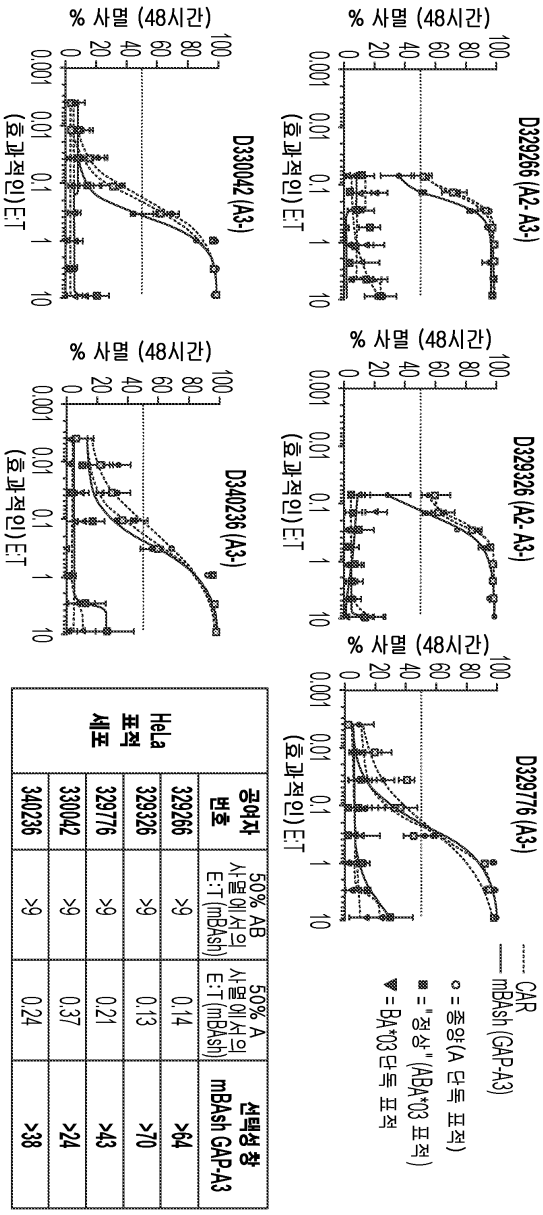
도면42



공여자 번호	50% AB 사멸에서의 E:T (mBAsh)	50% A 사멸에서의 E:T (mBAsh)	선택성 창 mBAsh GAP-A3
329266	>9	0.11	>82
329326	>9	0.14	>64
329776	8.9	0.25	36
330042	3.7	0.23	16
340236	4.0	0.22	18

MS751 표적 세포

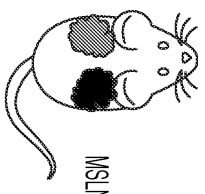
도면43



공여자 변호	50% AB 사멸에서의 E:T (mBAsh)	50% A 사멸에서의 E:T (mBAsh)	선택성 창 mBAsh GAP-A3
329266	>9	0.14	>64
329326	>9	0.13	>70
329776	>9	0.21	>43
330042	>9	0.37	>24
340236	>9	0.24	>38

HeLa 표적 세포

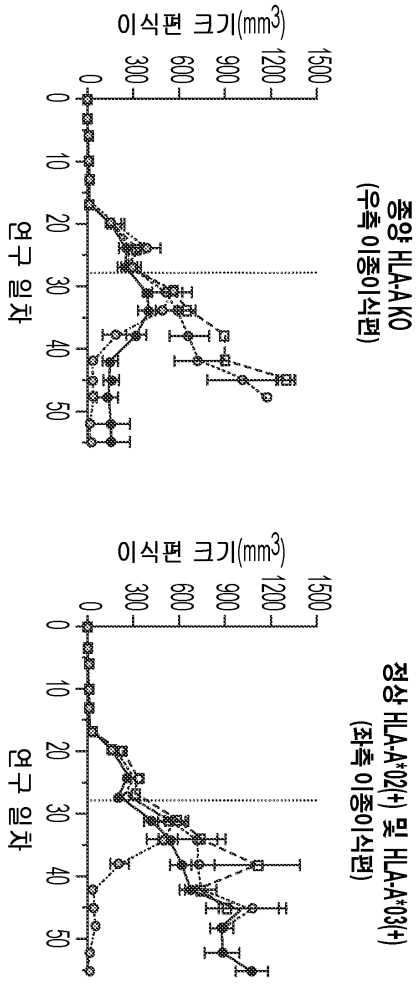
도면44



종양
MS751 HLA-A KO
MSLN(+) A*02(-) A*03(-)
fluc-RFP

"정상"
MS751
MSLN(+) A*02(+) A*03(+)
fluc-GFP

도 44a



도 44b

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.