



등록특허 10-2165350



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년10월14일
(11) 등록번호 10-2165350
(24) 등록일자 2020년10월06일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/73 (2006.01) *A61K 38/17* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/70514 (2013.01)
A61K 38/1774 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7006543
- (22) 출원일자(국제) 2013년09월13일
심사청구일자 2018년09월11일
- (85) 번역문제출일자 2015년03월13일
- (65) 공개번호 10-2015-0052086
- (43) 공개일자 2015년05월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/059608
- (87) 국제공개번호 WO 2014/043441
국제공개일자 2014년03월20일
- (30) 우선권주장
61/701,056 2012년09월14일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
Clin. & Develop. Immunol., Vol. 177, No. 2, pp. 1-14, Article ID 586314 (2012. 1. 1.)*
GeneBank accession 번호 EU427376의 서열*
GeneBank accession 번호 EU427377의 서열*
J. Immunol., Vol. 169, pp. 575-580 (2002.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
더 유나이티드 스테이츠 오브 어메리카, 애즈 리프리젠티드 바이 더 세크러테리, 디파트먼트 오브 헬쓰 앤드 허먼 서비스
미합중국 메릴랜드 20892-7660 베데스다 웹에스씨 7660 이그제큐티브 불르바드 6011 쉬트 325 오피스 오브 테크놀로지 트랜스퍼 내셔널 인스티튜츠 오브 헬스
- (72) 발명자
로빈즈 폴 에프.
미국 20815 메릴랜드주 체비 챠이스 글렌데일 로드 7907
로젠버그 스티븐 에이.
미국 20854 메릴랜드주 포토맥 아이언 게이트 로드 10104
야오 크신
미국 20850 메릴랜드주 록빌 이어링 테라스 14703
- (74) 대리인
김진희, 김태홍

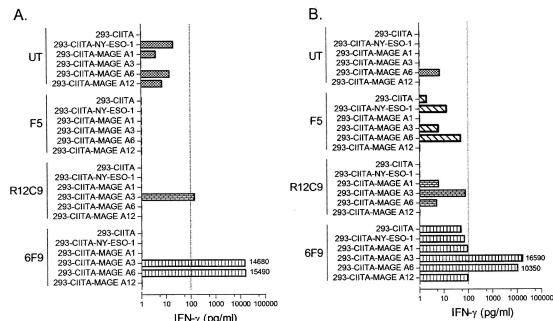
전체 청구항 수 : 총 38 항

심사관 : 김경미

(54) 발명의 명칭 MHC II형 제한된 MAGE-A3을 인식하는 T 세포 수용체

(57) 요약

본 발명은 MHC II형 제한된 MAGE-A3에 대한 항원 특이성을 갖는 단리된 또는 정제된 T 세포 수용체(TCR)를 제공한다. 본 발명은 또한 관련된 폴리펩ти드 및 단백질, 및 관련된 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 및 세포 집단을 제공한다. 본 발명의 TCR과 관련된 항체 또는 이의 항원 결합 부분 및 약학 조성물이 또한 본 발명에 의해 (뒷면에 계속)

대 표 도

제공된다. 숙주에서 암의 존재를 검출하는 방법 및 포유동물에서 암을 치료 또는 예방하는 방법이 또한 본 발명에 의해 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61K 39/395 (2013.01)

C07K 16/2809 (2013.01)

C12N 15/63 (2013.01)

G01N 33/574 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 서열 번호 3-8 또는

(b)(a)의 기능적 변이체,

(i) Xaa4가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa5가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa6이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa7이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 29; 및

(ii) Xaa4가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa5가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa6이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa7이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 30

을 포함하는 단리된 또는 정제된 T 세포 수용체(TCR)로서,

(a)의 TCR 및 (b)의 기능적 변이체는 HLA-DP β 1*04와 관련하여 MAGE-A3에 대한 항원 특이성을 갖고, 상기 기능적 변이체는 서열 번호 3, 4, 6, 7을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열 번호 3-8의 아미노산 서열을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 3

제1항에 있어서, (a) Xaa4가 Ala이고, Xaa5가 Ser이고, Xaa6이 Gly이고, Xaa7이 Thr인 서열 번호 29, 또는 (b) Xaa4가 Ser이고, Xaa5가 Ala이고, Xaa6이 Gly이고, Xaa7이 Thr인 서열 번호 29를 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 뮤린 불변 영역을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 5

제4항에 있어서, 서열 번호 25 및/또는 서열 번호 26을 포함하는 뮤린 불변 영역을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) Xaa116이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa118이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa119가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 31, 및

(ii) 서열 번호 9

로 이루어진 군으로부터 선택된 제1 아미노산 서열; 및

(i) Xaa115가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa116이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa118이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 32, 및

(ii) 서열 번호 10

으로 이루어진 군으로부터 선택된 제2 아미노산 서열

을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 7

제6항에 있어서,

- (a) Xaa₁₁₆이 Ala이고, Xaa₁₁₇이 Ser이고, Xaa₁₁₈이 Gly이고, Xaa₁₁₉가 Thr인 서열 번호 31, 또는
- (b) Xaa₁₁₆이 Ser이고, Xaa₁₁₇이 Ala이고, Xaa₁₁₈이 Gly이고, Xaa₁₁₉가 Thr인 서열 번호 31
을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) Xaa₁₁₆이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₇이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met
이고, Xaa₁₁₈이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₉가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열
번호 33,
- (ii) 서열 번호 11, 및
- (iii) 서열 번호 27

로 이루어진 군으로부터 선택된 제1 아미노산 서열; 및

- (i) Xaa₁₁₅가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₆이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met
이고, Xaa₁₁₇이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₈이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열
번호 34,
- (ii) 서열 번호 12, 및
- (iii) 서열 번호 28

로 이루어진 군으로부터 선택된 제2 아미노산 서열

을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 9

제8항에 있어서,

- (a) Xaa₁₁₆이 Ala이고, Xaa₁₁₇이 Ser이고, Xaa₁₁₈이 Gly이고, Xaa₁₁₉가 Thr인 서열 번호 33, 또는
- (b) Xaa₁₁₆이 Ser이고, Xaa₁₁₇이 Ala이고, Xaa₁₁₈이 Gly이고, Xaa₁₁₉가 Thr인 서열 번호 33
을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 10

제1항의 TCR의 기능적 부분을 포함하는 단리된 또는 정제된 폴리펩티드로서, 기능적 부분은

- (a) 서열 번호 3, 4, 6, 7, (i) Xaa₄가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₅가 Ser, Ala, Leu, Ile,
Val, 또는 Met이고, Xaa₆이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₇이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는
Met인 서열 번호 29 및 (ii) Xaa₄가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₅가 Thr, Ala, Leu, Ile,
Val, 또는 Met이고, Xaa₆이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₇이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는
Met인 서열 번호 30; 또는

- (b) 서열 번호 3-8

을 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 폴리펩티드.

청구항 11

제10항에 있어서, 기능성 부분은 서열 번호 3-8의 아미노산 서열을 포함하는 단리된 또는 정제된 폴리펩티드.

청구항 12

제10항에 있어서, 기능적 부분은

- (a) Xaa4가 Ala이고, Xaa5가 Ser이고, Xaa6이 Gly이고, Xaa7이 Thr인 서열 번호 29, 또는
- (b) Xaa4가 Ser이고, Xaa5가 Ala이고, Xaa6이 Gly이고, Xaa7이 Thr인 서열 번호 29
를 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 폴리펩티드.

청구항 13

제10항에 있어서, 상기 부분은

- (i) Xaa116이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa118이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa119가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 31, 및

- (ii) 서열 번호 9

로 이루어진 군으로부터 선택된 제1 아미노산 서열; 및

- (i) Xaa115가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa116이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa118이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 32, 및

- (ii) 서열 번호 10

으로 이루어진 군으로부터 선택된 제2 아미노산 서열

을 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 폴리펩티드.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 부분은

- (a) Xaa116이 Ala이고, Xaa117이 Ser이고, Xaa118이 Gly이고, Xaa119가 Thr인 서열 번호 31, 또는

- (b) Xaa116이 Ser이고, Xaa117이 Ala이고, Xaa118이 Gly이고, Xaa119가 Thr인 서열 번호 31

을 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 폴리펩티드.

청구항 15

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 TCR의 기능적 부분을 포함하는 단리된 또는 정제된 폴리펩티드로서, 상기 부분은

- (i) Xaa116이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa118이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa119가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 33,

- (ii) 서열 번호 11, 및

- (iii) 서열 번호 27

로 이루어진 군으로부터 선택된 제1 아미노산 서열; 및

- (i) Xaa115가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa116이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa118이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 34,

- (ii) 서열 번호 12, 및

- (iii) 서열 번호 28

로 이루어진 군으로부터 선택된 제2 아미노산 서열

을 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 폴리펩티드.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 부분은

- (a) Xaa₁₁₆이 Ala이고, Xaa₁₁₇이 Ser이고, Xaa₁₁₈이 Gly이고, Xaa₁₁₉가 Thr인 서열 번호 33, 또는
- (b) Xaa₁₁₆이 Ser이고, Xaa₁₁₇이 Ala이고, Xaa₁₁₈이 Gly이고, Xaa₁₁₉가 Thr인 서열 번호 33
을 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 폴리펩티드.

청구항 17

제10항의 폴리펩티드를 포함하는 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 18

- (a) 서열 번호 3-5, 또는

- (b) 서열 번호 3, 4, 및 Xaa₄가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₅가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₆이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₇이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 29

를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및

- (a) 서열 번호 6-8, 또는

- (b) 서열 번호 6, 7, 및 Xaa₄가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₅가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₆이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₇이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 30

을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

를 포함하는 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 19

제18항에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄는 서열 번호 3-5의 아미노산 서열을 포함하고 제2 폴리펩티드 쇄는 서열 번호 6-8의 아미노산 서열을 포함하는 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 20

제18항에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄는

- (a) Xaa₄가 Ala이고, Xaa₅가 Ser이고, Xaa₆이 Gly이고, Xaa₇이 Thr인 서열 번호 29, 또는
- (b) Xaa₄가 Ser이고, Xaa₅가 Ala이고, Xaa₆이 Gly이고, Xaa₇이 Thr인 서열 번호 29

를 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 21

제18항에 있어서,

- (i) Xaa₁₁₆이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₇이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₈이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₉가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 31, 및

- (ii) 서열 번호 9

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및

- (i) Xaa₁₁₅가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₆이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₇이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa₁₁₈이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 32, 및

(ii) 서열 번호 10

으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 22

제21항에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄는

- (a) Xaa¹¹⁶이 Ala이고, Xaa¹¹⁷이 Ser이고, Xaa¹¹⁸이 Gly이고, Xaa¹¹⁹가 Thr인 서열 번호 31, 또는
- (b) Xaa¹¹⁶이 Ser이고, Xaa¹¹⁷이 Ala이고, Xaa¹¹⁸이 Gly이고, Xaa¹¹⁹가 Thr인 서열 번호 31을 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 23

(i) Xaa¹¹⁶이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa¹¹⁷이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa¹¹⁸이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa¹¹⁹가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 33,

(ii) 서열 번호 11, 및

(iii) 서열 번호 27

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및

(i) Xaa¹¹⁵가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa¹¹⁶이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa¹¹⁷이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa¹¹⁸이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 34,

(ii) 서열 번호 12, 및

(iii) 서열 번호 28

로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

를 포함하는 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 24

제23항에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄는

- (a) Xaa¹¹⁶이 Ala이고, Xaa¹¹⁷이 Ser이고, Xaa¹¹⁸이 Gly이고, Xaa¹¹⁹가 Thr인 서열 번호 33, 또는
- (b) Xaa¹¹⁶이 Ser이고, Xaa¹¹⁷이 Ala이고, Xaa¹¹⁸이 Gly이고, Xaa¹¹⁹가 Thr인 서열 번호 33을 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 25

제18항에 있어서, 단백질이 융합 단백질인 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 26

제18항에 있어서, 단백질이 재조합 항체인 단리된 또는 정제된 단백질.

청구항 27

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 TCR, 제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 폴리펩티드, 또는 제17항 내지 제26항 중 어느 한 항에 따른 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 또는 정제된 핵산.

청구항 28

제27항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 a) 서열 번호 37 및 38, b) 서열 번호 41 및 42, 및 c) 서열 번호 43 및 44로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인 단리된 또는 정제된 핵산.

청구항 29

제27항에 따른 핵산을 포함하는 재조합 발현 백터.

청구항 30

제29항의 재조합 발현 백터를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 31

제30항에 있어서, 인간 세포인 숙주 세포.

청구항 32

제30항의 숙주 세포를 포함하는 세포 집단.

청구항 33

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 TCR의 기능적 부분에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 부분으로서, 기능적 부분은

(a) 서열 번호 3, 4, 6, 7, (i) Xaa4가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa5가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa6이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa7이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 29 및 (ii) Xaa4가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa5가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa6이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa7이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 30; 또는

(b) 서열 번호 3-8

을 포함하는 것인 항체, 또는 이의 항원 결합 부분.

청구항 34

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 TCR, 제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 폴리펩티드, 또는 제17항 내지 제26항 중 어느 한 항에 따른 단백질, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 암을 치료 또는 예방하기 위한 약학 조성물.

청구항 35

(a) 포유동물로부터의 하나 이상의 세포를 포함하는 샘플을 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 TCR, 제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 폴리펩티드, 또는 제17항 내지 제26항 중 어느 한 항에 따른 단백질과 접촉시켜 복합체를 형성하는 단계, 및

(b) 복합체를 검출하는 단계를 포함하고, 복합체의 검출이 포유동물에서 암의 존재를 나타내는 것인 포유동물에서 암의 존재를 검출하는 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 암이 흑색종, 유방암, 폐암, 전립선암, 활막 세포 육종, 두경부암, 식도암, 또는 난소암인 방법.

청구항 37

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 포유동물에서 암을 치료 또는 예방하기 위한 단리된 또는 정제된 TCR.

청구항 38

제37항에 있어서, 암이 흑색종, 유방암, 폐암, 전립선암, 활막 세포 육종, 두경부암, 식도암, 또는 난소암인 단

리된 또는 정제된 TCR.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

본 출원은 2012년 9월 4일에 출원된 미국 가출원 제61/701,056호의 우선권을 주장하며, 그 전문은 본원의 참고에 포함된다.

[0003] 참고로 포함된 전자 문서로 제출된 자료

2013년 8월 20일 자 파일명 "714146ST25.TXT"의 63,888 바이트 ASCII(Text)로 본 출원과 동시에 제출된 컴퓨터 관리 가능한 뉴클레오티드/아미노산 서열 목록은 본원에서 그 전문이 참고로 포함된다.

본 발명은 프로젝트 번호 ZIABC010984 하에 미국 국립 보건원, 국립 암 연구소에 의해 정부의 지원을 받아 이루어졌다. 정부는 본 발명에 대해 일정의 권리를 갖는다.

배경 기술

[0005] 양자 세포 치료법(Adoptive cell therapy: ACT)은 종양 반응성 T 세포의 암 환자로의 이입을 포함하여 반응성 T 세포의 환자로의 이입을 수반한다. 인간 백혈구 항원(HLA)-A*02 제한된 T-세포 에피토프를 표적으로 하는 T-세포를 이용한 양자 세포 치료법은 일부 환자에서 종양 퇴행을 유발하는 데 성공하였다. 그러나 (HLA)-A*02가 발현되지 않는 환자는 HLA-A*02 제한된 T 세포 에피토프를 표적으로 하는 T 세포로 치료될 수 없다. 이러한 제한은 양자 세포 치료법을 널리 적용하는데 걸림돌이 되고 있다. 따라서, 개선된 면역학적 조성을 및 암 치료 방법이 요구되고 있다.

발명의 내용

[0006] 본 발명의 한 실시양태는 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ 및 MAGE-A6에 대한 항원 특이성을 갖는 단리된 또는 정제된 T 세포 수용체(TCR), 및 이의 기능적 부분(functional portion) 및 기능적 변이체를 제공한다.

[0007] 본 발명의 또 다른 실시양태는 (a) 서열 번호 3-8 또는 (b) 서열 번호 21-22를 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR, 또는 (a) 또는 (b)의 기능적 변이체를 제공하며, 여기서 기능적 변이체는 하나 이상의 임의의 (a) 또는 하나 이상의 임의의 (b)에서 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 (a) 또는 (b)를 포함하고, 기능적 변이체는 HLA-DP β 1*04와 관련하여 MAGE-A3에 대한 항원 특이성을 갖는다.

[0008] 본 발명은 또한 관련된 폴리펩티드 및 단백질, 및 관련된 핵산, 재조합 밸런 백터, 숙주 세포, 및 세포 집단을 제공한다. 또한, 본 발명은 본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)과 관련된 항체, 또는 이의 항원 결합 부분, 및 약학 조성을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 포유동물에서 암의 존재를 검출하는 방법 및 포유동물에서 암을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 포유동물에서 암의 존재를 검출하는 본 발명의 방법은 (i) 암 세포를 포함하는 샘플을 본원에서 기재된 본 발명의 임의의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 재조합 밸런 백터, 숙주 세포, 숙주 세포 집단, 또는 항체, 또는 이의 항원 결합 부분과 접촉시켜 복합체를 형성하는 단계, 및 (ii) 복합체의 존재를 검출하는 단계를 포함하며, 상기에서 복합체의 검출이 포유동물에서 암의 존재를 나타낸다.

[0010] 본 발명의 포유동물에서 암을 치료 또는 예방하는 방법은 본원에서 기재된 임의의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 또는 단백질, 본원에서 기재된 임의의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 또는 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 임의의 핵산 재조합 밸런 백터, 또는 본원에서 개시된 임의의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 또는 단백질을 코딩하는 재조합 백터를 포함하는 임의의 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 포유동물에서 암 치료 또는 예방하기 위한 유효량으로 포유동물에 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1A 및 1B는 형질감염되지 않은(292-CIITA) 또는 전장의 NY-ESO-1(293-CIITA-NY-ESO-1) 단백질, MAGE-A1 단

백질(293-CIITA-MAGE A1), MAGE-A3 단백질(293-CIITA-MAGE-A3), MAGE-A6 단백질(293-CIITA-MAGE-A6), 또는 MAGE A12 단백질(293-CIITA-MAGE-A12)로 형질감염된 293-CIITA 표적 세포와 공동 배양물에 반응하여 제1(1A) 및 제2(1B) 공여자의 CD4+ T 세포에 의한 인터페론(IFN)-감마 분비(pg/ml)를 나타내는 막대그래프이다. T 세포는 형질도입되지 않거나(UT) F5(항-MART-1) TCR, R12C9 TCR, 또는 6F9 TCR로 형질도입된다.

도 2A는 처리되지 않은 또는 항-MAGE-A3 siRNA 또는 항-MART-1 siRNA로 처리된 526-CIITA 세포와 공동 배양물에 반응하여 형질도입되지 않은 또는 6F9 TCR 또는 F5TCR로 형질도입된 인간 공여자의 T 세포에 의한 IFN-감마 분비(pg/ml)를 나타내는 막대그래프이다.

도 2B는 처리되지 않은 또는 항-MAGE-A3 siRNA 또는 항-MART-1 siRNA로 처리된 H1299-CIITA 세포와 공동 배양물에 반응하여 형질도입되지 않은 또는 6F9 TCR로 형질도입된 인간 공여자의 CD4+ T 세포에 의한 IFN-감마 분비(pg/ml)를 나타내는 막대그래프이다.

도 3은 단독 배양된(T 세포 단독) 또는 3071 세포, 3071-CIITA 세포, 397 세포, 397-CIITA 세포, 2630 세포, 2630-CIITA 세포, 2984 세포, 또는 2984-CIITA 세포로 공동 배양된 6F9-형질도입된 PBL에 의한 IFN-감마 분비(pg/ml)를 나타내는 막대그래프이다.

도 4는 단독 배양시(T 세포 단독) 또는 처리되지 않은 H1299-CIITA 세포, 항-HLA-DP 또는 항-HLA-DR siRNA로 형질감염된 H1299-CIITA, 처리되지 않은 526-CIITA 세포, 또는 항-HLA-DP 또는 항-HLA-DR siRNA로 형질감염된 526-CIITA와 공동 배양물에 반응하여 6F9 TCR로 형질도입된 또는 형질도입되지 않은 CD4+ 증식된 PBL에 의한 IFN-감마 분비(pg/ml)를 나타내는 막대그래프이다.

도 5는 단독 배양시(T 세포 단독: 투명 막대) 또는 624-CIITA(체크무늬 막대), 526-CIITA(오른쪽으로 기운 사선무늬 막대), 1359-CIITA(가로 줄무늬 막대), H1299-CIITA(왼쪽으로 기운 사선 무늬 막대), 또는 1764-CIITA(세로 줄무늬 막대)와 공동 배양시 형질도입되지 않은 또는 야생형(wt) 6F9 TCR 또는 8가지의 치환된 TCR. 즉 a1(알파 쇄(사슬) S116A), a2(알파 쇄 S117A), a3(알파 쇄 G118A), a4(알파 쇄 T119A), b1(베타 쇄 R115A), b2(베타 쇄 T116A), b3(베타 쇄 G117A), 또는 b4(베타 쇄 P118A) 중 하나로 형질도입된 PBL에 의한 IFN-감마 (pg/ml) 분비를 나타내는 막대그래프이다.

도 6은 단독 배양시(T 세포 단독: 투명 막대) 또는 624-CIITA(체크무늬 막대), 526-CIITA(오른쪽으로 기운 사선무늬 막대), 1359-CIITA(가로 줄무늬 막대), H1299-CIITA(왼쪽으로 기운 사선 무늬 막대), 또는 1764-CIITA(세로 줄무늬 막대)와 공동 배양시 형질도입되지 않은 또는 야생형(wt) 6F9 TCR 또는 3가지의 치환된 TCR, 즉 a1(알파 쇄 S116A), a2(알파 쇄 S117A), 또는 b2(베타 쇄 T116A) 중 하나로 형질도입된 CD4+ 증식된 PBL에 의한 IFN-감마 분비(pg/ml)를 나타내는 막대그래프이다.

도 7은 단독 배양시(T 세포 단독: 투명 막대) 또는 624-CIITA(오른쪽으로 기운 사선무늬 막대), 526-CIITA(세로 줄무늬 막대), 1359-CIITA(가로 줄무늬 막대), H1299-CIITA(왼쪽으로 기운 사선무늬 막대), 또는 1764-CIITA(검정 막대)와 공동 배양시 형질도입되지 않은 또는 야생형(wt) 6F9 TCR 또는 10가지의 치환된 TCR, 즉 a1(알파 쇄 S116A), a2(알파 쇄 S117A), a1-1(알파 쇄 S116L), a1-2(알파 쇄 S116I), a1-3(알파 쇄 S116V), a1-4(알파 쇄 S116M), a2-1(알파 쇄 S117L), a2-2(알파 쇄 S117I), a2-3(알파 쇄 S117V), 또는 a2-4(알파 쇄 S117M) 중 하나로 형질도입된 PBL에 의한 IFN-감마(pg/ml) 분비를 나타내는 막대그래프이다.

도 8은 단독 배양시(T 세포 단독) 또는 624-CIITA, 1300-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 3071-CIITA, 또는 1764-CIITA 세포와 공동 배양시 형질도입되지 않은(체크무늬 막대) 야생형(wt) 6F9(가로 줄무늬 막대) 또는 6F9mC TCR(서열 번호 27 및 28)(왼쪽으로 기운 사선무늬 막대)로 형질도입된 PBL에 의한 IFN-감마(pg/ml) 분비를 나타내는 막대그래프이다.

도 9A 및 9B는 단독 배양시(T 세포 단독) 또는 624-CIITA, SK36-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 3071-CIITA, 또는 1764-CIITA 세포와 공동 배양시 형질도입되지 않은(체크무늬 막대) 또는 야생형(wt) 6F9 TCR(가로 줄무늬 막대) 또는 6F9mC TCR(서열 번호 27 및 28)(왼쪽으로 기운 사선 무늬 막대)로 형질도입된 CD4+ (9A) 또는 CD8+ (9B) 증식된 PBL에 의한 IFN-감마(pg/ml) 분비를 나타내는 막대그래프이다.

도 10A는 단독 배양시(없음) 또는 전장의 NY-ESO-1 단백질, MAGE-A1 단백질, MAGE-A3 단백질, MAGE-A6 단백질, MAGE-A12 단백질로 형질감염된 293-CIITA 형질감염체와, 또는 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ 웨티드 또는 MAGE-A3 단백질로 펠스된 293-CIITA 세포와 공동 배양시 형질도입되지 않은(UT; 투명 막대) 또는 R12C9 TCR(회색 막대) 또는 6F9

TCR(검정 막대)로 형질도입된 PBL에 의한 IFN-감마(pg/ml) 분비를 나타내는 막대그래프이다.

도 10B는 단독 배양시(T 세포 단독) 또는 비소세포성 폐암(NSCLC) 세포주 H11299 또는 흑색종 세포주 526 mel, 624 mel, 또는 1359 mel로 공동 배양시 형질도입되지 않은(UT; 검정 막대) 또는 6F9 TCR(회색 막대)로 형질도입된 PBL에 의한 IFN-감마(pg/ml) 분비를 나타내는 막대그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012]

본 발명은 MAGE-A3에 대한 항원 특이성을 갖는 단리된 또는 정제된 T 세포 수용체(TCR), 및 이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 제공하며, 상기에서 TCR은 HLA-DP β 1*04와 관련하여 MAGE-A3을 인식한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 단리된 또는 정제된 TCR은 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ 및 MAGE-A6에 대한 항원 특이성을 갖는다.

[0013]

MAGE-A3 및 MAGE-A6는 MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A7, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, 및 MAGE-A12를 또한 포함하는 12개의 동종의 단백질로 이루어진 MAGE-A 패밀리의 일원이다. MAGE-A 단백질은 고환암 항원(CTA)으로서, 종양 세포, 고환 및 태반의 비 MHC 발현 생식 세포에서만 발현된다. MAGE-A 단백질은 흑색종, 유방암, 백혈병, 갑상선암, 위암, 췌장암, 간암(예를 들어, 간세포 암종), 폐암(예를 들어, 비소세포성 폐 암종), 난소암, 다발성 흑색종, 식도암, 신장암, 두부암(예를 들어, 편평세포 암종), 경부암(예를 들어, 편평세포 암종), 전립선암, 활막 세포 육종, 및 요로 상피세포 암을 포함한 다양한 인간 암에서 발현되나 이에 제한되지는 않는다.

[0014]

본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)은 양자 세포 이입에 사용될 때를 포함하여 많은 이점을 제공한다. 예를 들어, HLA-DP β 1*04와 관련하여 제시되는 MAGE-A3을 표적화함으로써, 본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)은 다른 HLA 분자, 예를 들어 HLA-A*02, HLA-A*01, 또는 HLA-C*07과 관련하여 제시되는 MAGE 항원을 표적화하는 TCR을 이용하여 치료될 수 없는 환자를 치료하는 것을 가능하게 한다. HLA-DP β 1*04는 암 환자 집단의 약 70% 내지 약 80%에서 발현되는 매우 우세한 대립유전자이다. 따라서, 본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)은 유리하게는 치료될 수 있는 환자 집단을 크게 확장시킨다. 또한, 구체적인 이론에 얹매이지 않고서도, MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6은 여러 유형의 암 세포에서 발현되기 때문에 본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)은 유리하게는 여러 유형의 암 세포를 파괴하고, 따라서 여러 유형의 암을 치료 또는 예방할 수 있는 능력을 제공하는 것으로 생각된다. 또한, 구체적인 이론에 얹매이지 않고서도, MAGE-A 단백질은 종양 세포 및 고환과 태반의 비 MHC 발현 생식 세포에서만 발현되는 고환암 항원이기 때문에, 본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)은 예를 들어 정상의 비 암 성 세포의 파괴를 최소화하거나 없애면서 암세포 파괴를 유리하게 표적화함으로써, 독성을, 예를 들어 최소화하거나 없앰으로써, 감소시키는 것으로 생각된다.

[0015]

본원에서 사용되는 표현 "항원 특이성"은 TCR이 고결합성으로 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6에 특이적으로 결합하고 면역학적으로 이들을 인식할 수 있다는 것을 의미한다. 예를 들어, TCR을 발현하는 T 세포가 낮은 농도의 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6 웨티드(예를 들어, 약 0.05 ng/ml 내지 약 5 ng/ml, 0.05 ng/ml, 0.1 ng/ml, 0.5 ng/ml, 1 ng/ml, 또는 5 ng/ml)로 펠스된 항원 음성 HLA-DP β 1*04+ 표적 세포와 공동 배양시 IFN- γ 를 약 200 pg/ml 이상(예를 들어, 200 pg/ml 이상, 300 pg/ml 이상, 400 pg/ml 이상, 500 pg/ml 이상, 600 pg/ml 이상, 700 pg/ml 이상, 1000 pg/ml 이상, 5,000 pg/ml 이상, 7,000 pg/ml 이상, 10,000 pg/ml 이상, 또는 20,000 pg/ml 이상) 분비하는 경우, TCR은 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6에 대한 "항원 특이성"을 갖는 것으로 간주될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, TCR을 발현하는 T 세포가 낮은 농도의 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6 웨티드로 펠스된 항원 음성 HLA-DP β 1*04+ 표적 세포와 공동 배양시 형질도입되지 않은 PBL 배경 수준의 IFN- γ 에 두 배 이상의 IFN- γ 를 발현하는 경우, TCR은 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6에 대한 "항원 특이성"을 갖는 것으로 간주될 수 있다. 본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)는 또한 높은 농도의 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6 웨티드로 펠스된 항원 음성 HLA-DP β 1*04+ 표적 세포와 공동 배양시 IFN- γ 를 분비할 수 있다.

[0016]

본 발명의 한 실시양태는 임의의 MAGE-A3 단백질, 폴리웨티드 또는 웨티드에 대한 항원 특이성을 갖는 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)을 제공한다. 본 발명의 TCR은 서열 번호 1을 포함하는, 이로 이루어진 또는 필수적으로 이루어진 MAGE-A3 단백질에 대한 항원 특이성을 가질 수 있다. 본 발명의 바람직한 실시양태에서, TCR(이의 기능적 부분 및 변이체를 포함)은 KKLLTQHFVQENYLEY(서열 번호 2)를 포함하는, 이로 이루어진 또는 필수적으로 이루어진 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ 웨티드에 대한 항원 특이성을 갖는다.

[0017]

본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)은 인간 백혈구 항원 (HLA)-DP β 1*04 의존적 방식으로 MAGE-A3을 인식할 수 있다. 본원에서 사용되는 "HLA-DP β 1*04 의존적 방식"은 TCR이 HLA-DP β 1*04 분자와

관련하여 MAGE-A3 단백질, 폴리펩티드 또는 웨프티드에 결합할 때 면역 반응을 유발한다는 것을 의미한다. 본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)은 또한 HLA-DP β 1*04에 의해 제시되는 MAGE-A3을 인식할 수 있으며, MAGE-A3뿐 아니라 HLA-DP β 1*04에 결합할 수 있다. 본 발명의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)이 MAGE-A3을 인식하는 맥락에 있는 전형적인 HLA-DP β 1*04 분자는 HLA-DP β 1*0401 및/또는 HLA-DP β 1*0402 대립유전자에 의해 코딩되는 것을 포함한다.

[0018] 본 발명의 한 실시양태는 임의의 MAGE-6 단백질, 폴리펩티드 또는 웨프티드에 대한 항원 특이성을 갖는 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)을 제공한다. 본 발명의 TCR은 서열 번호 45를 포함하는, 이로 이루어진 또는 필수적으로 이루어진 MAGE-A6 단백질에 대한 항원 특이성을 가질 수 있다. 본 발명의 바람직한 한 실시양태에, TCR(기능적 부분 및 이의 변이체를 포함)은 KKLLTQYFVQENYLEY(서열 번호 46)를 포함하는, 이로 이루어진 또는 필수적으로 이루어진 MAGE-A6₂₄₃₋₂₅₈ 웨프티드에 대한 항원 특이성을 갖는다.

[0019] 본 발명은 2개의 폴리펩티드(즉, 폴리펩티드 쇄), 예를 들어 TCR의 알파(α) 쇄, TCR의 베타(β) 쇄, TCR의 감마(γ) 쇄, TCR의 델타(δ) 쇄 또는 그들의 조합을 포함하는 TCR을 제공한다. 본 발명의 TCR의 폴리펩티드는 TCR이 HLA-DP β 1*04와 관련하여 MAGE-A3에 대한 항원 특이성을 갖기만 한다면 어떤 아미노산 서열이든 포함할 수 있다.

[0020] 본 발명의 한 실시양태에서, TCR은 각각이 TCR의 상보성 결정 영역(CDR)1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하는 두 개의 폴리펩티드를 포함한다. 발명의 한 실시양태에서, TCR은 서열 번호 3 또는 13(α 쇄의 CDR1)의 아미노산 서열, 서열 번호 4 또는 14(α 쇄의 CDR2), 및 서열 번호 5 또는 15(α 쇄의 CDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄와 서열 번호 6 또는 16(β 쇄의 CDR1)의 아미노산 서열, 서열 번호 7 또는 17(β 쇄의 CDR2), 및 서열 번호 8 또는 18(β 쇄의 CDR3)의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함한다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR은 서열 번호 3-5, 6-8, 13-15, 및 16-18 중 하나 이상으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, TCR은 서열 번호 3-8 또는 13-18의 아미노산 서열을 포함한다. 보다 바람직하게는, TCR은 서열 번호 3-8의 아미노산 서열을 포함한다.

[0021] 대안적으로 또는 추가적으로, TCR은 상기에 개시된 CDR을 포함하는 TCR의 가변 영역의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, TCR은 서열 번호 9 또는 19(α 쇄의 가변 영역) 또는 서열 번호 10 또는 20(β 쇄의 가변 영역), 서열 번호 9 및 10 둘 다, 또는 서열 번호 19 및 20 둘 다의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 TCR은 서열 번호 9 및 10 둘 다의 아미노산 서열을 포함한다.

[0022] 대안적으로 또는 추가적으로, TCR은 TCR의 α 쇄 및 TCR의 β 쇄를 포함할 수 있다. 본 발명의 TCR의 α 쇄 및 β 쇄 각각은 독립적으로 임의의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, α 쇄는 상기에 개시된 α 쇄의 가변 영역을 포함한다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR은 서열 번호 11 또는 21의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 상기 유형의 α 쇄는 TCR의 임의의 β 쇄와 짹을 이를 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 β 쇄는 상기에 개시된 β 쇄의 가변 영역을 포함한다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR은 서열 번호 12 또는 22의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 따라서, 본 발명의 TCR은 서열 번호 11, 12, 21, 또는 22, 서열 번호 11 및 12 둘 다, 또는 서열 번호 21 및 22 둘 다의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 TCR은 서열 번호 11 및 12 둘 다의 아미노산 서열을 포함한다.

[0023] 본원에서 기재된 본 발명의 TCR의 기능적 변이체는 본 발명의 범위에 포함된다. 본원에서 사용되는 용어 "기능적 변이체"는 부모(parent) TCR, 폴리펩티드 또는 단백질과 실질적인 또는 유의한 서열 동일성 또는 유사성을 갖는 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질을 나타내며, 이를 기능적 변이체는 이들이 변이되기 전의 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질의 생물학적 활성을 보유한다. 기능적 변이체는, 예를 들어, 부모 TCR이 항원 특이성을 갖거나, 부모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질과 유사한 정도, 또는 똑같은 정도 또는 더 높은 정도로 부모 폴리펩티드 또는 단백질이 특이적으로 결합하는 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 본원에서 기재된 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질(부모 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질)의 변이체를 포함한다. 부모 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질과 관련하여, 기능적 변이체는 예를 들어 부모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질과 아미노산 서열이 약 30%, 50%, 75%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일할 수 있다.

[0024] 기능적 변이체는 예를 들어, 하나 이상의 보존적 아미노산 치환을 갖는 부모 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 당 업계에 공지되어 있으며, 어떤 물리적 및/또는 화학적 특성을 갖는 한 아미노산이 동일한 화학적 또는 물리적 특성을 갖는 또 다른 아미노산으로 교환된 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, 보존적 아미노산 치환은 산성 아미노산이 또 다른 산성 아미노산으로 치환(예를 들어, Asp 또는 Glu), 비극성 측쇄를 갖는 아미노산이 또 다른 비극성 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환(예를

들어, Ala, Gly, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val 등), 염기성 아미노산이 또 다른 염기성 아미노산으로 치환(Lys, Arg 등), 극성 측쇄를 갖는 아미노산이 또 다른 극성 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환(Asn, Cys, Gln, Ser, Thr, Tyr 등) 등일 수 있다.

[0025] 대안적으로 또는 추가적으로, 기능적 변이체는 하나 이상의 비보존적 아미노산 치환을 갖는 부모 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이 경우에, 비보존적 아미노산 치환은 기능적 변이체의 생물학적 활성을 방해하거나 억제하지 않는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 비보존적 아미노산 치환은 기능적 변이체의 생물학적 활성을 상승시켜, 기능적 변이체의 생물학적 활성이 부모 TCR, 폴리펩티드, 또한 단백질에 비해 증가된다.

[0026] 이와 관련하여, 본 발명의 한 실시양태는 (a) 서열 번호 3-8 또는 (b) 서열 번호 21-22를 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR, 또는 (a) 또는 (b)의 기능적 변이체로서, 상기 기능적 변이체는 하나 이상의 임의의 (a) 또는 하나 이상의 임의의 (b)에서 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 (a) 또는 (b)를 포함하고, 기능적 변이체가 HLA-DP β 1*04와 관련하여 MAGE-A3에 대한 항원 특이성을 갖는 것인 단리된 또는 정제된 TCR 또는 기능적 변이체를 제공한다. 바람직하게는, 아미노산 치환은 알파 또는 베타 쇄의 CDR3 영역에, 바람직하게는 알파 쇄의 CDR3 영역에 위치한다. 일부 실시양태에서, 기능적 변이체(또는 이의 기능적 부분)는 부모 TCR 아미노산 서열에 비해 MAGE-A3에 대한 증가된 반응성을 제공한다. 일반적으로, 치환된 α 아미노산 서열서열 번호 29, 31, 및 33은 천연의 비치환된 서열 번호 11(TCR α 쇄)의 전체 또는 부분에, 서열 번호 11과 비교할 때 하나 이상의 치환을 갖는 서열 번호 29, 31 및 33에 일치한다. 바람직하게는, 고유의 Ser116, Ser117, Gly118, 및 Thr119 중 하나 이상이 치환된다. 유사하게, 치환된 β 쇄 아미노산 서열 서열 번호 30, 32, 및 34는 천연의 비치환된 서열 번호 12(TCR β 쇄)의 전체 또는 부분에, 서열 번호 12와 비교할 때 하나 이상의 치환을 갖는 서열 번호 30, 32, 및 34와 일치한다. 바람직하게는, 고유의 Arg115, Thr116, Gly117, 및 Pro118 중 하나 이상이 치환된다.

[0027] 특히, 본 발명은 (i) Xaa4가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa5가 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa6이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, 그리고 Xaa7이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 29, 및/또는 (ii) Xaa4가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa5가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa6이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, 그리고 Xaa7이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 30을 포함하는 단리된 또는 정제된 TCR의 기능적 변이체를 제공한다. 서열 번호 29는 일반적으로 서열 번호 29에서 Ser4, Ser5, Gly6, 및 Thr7 중 하나 이상이 치환된 것을 제외하고는 천연의 비치환된 서열 번호 11의 113-123 위치에 일치한다. 바람직하게는, 기능적 변이체는 (a) Xaa4가 Ala이고, Xaa5가 Ser이고, Xaa6이 Gly이고, 그리고 Xaa7이 Thr인 서열 번호 29, 또는 (b) Xaa4가 Ser이고, Xaa5가 Ala이고, Xaa6이 Gly이고, 그리고 Xaa7이 Thr인 서열 번호 29를 포함한다. 그러나 일부 실시양태에서, 서열 번호 29는 야생형 CDR3 α 서열 번호 5를 포함할 수 있으며, 바람직하게는, 서열 번호 29는 서열 번호 5를 포함하지 않는다. 서열 번호 30은 일반적으로 서열 번호 30에서 Arg4, Thr5, Gly6, 및 Pro7 중 하나 이상이 치환된 것을 제외하고 천연의 비치환된 서열 번호 12의 112-126 위치에 일치한다. 그러나 일부 실시양태에서, 서열 번호 30은 야생형 CDR3 β 서열 번호 8을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 서열 번호 30은 서열 번호 8을 포함하지 않는다.

[0028] 또한, 본 발명은 (i) Xaa116이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa118이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, 그리고 Xaa119가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 31, 및/또는 (ii) Xaa115가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa116이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, 그리고 Xaa118이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 32를 포함하는 TCR의 기능적 변이체를 제공한다. 서열 번호 31은 일반적으로 서열 번호 31에서 Ser116, Ser117, Gly118, 및 Thr119 중 하나 이상이 치환된 것을 제외하고는 천연의 비치환된 서열 번호 11의 1-134 위치에 일치한다. 바람직하게는, 기능적 변이체는 (a) Xaa116이 Ala이고, Xaa117이 Ser이고, Xaa118이 Gly이고, 그리고 Xaa119가 Thr인 서열 번호 31, 또는 (b) Xaa116이 Ser이고, Xaa117이 Ala이고, Xaa118이 Gly이고, 그리고 Xaa119가 Thr인 서열 번호 31을 포함한다. 그러나 일부 실시양태에서, 서열 번호 31은 야생형 CDR3 α 서열 번호 5를 포함할 수 있으며, 바람직하게는, 서열 번호 31은 서열 번호 5를 포함하지 않는다. 서열 번호 32는 일반적으로 서열 번호 32에서 Arg115, Thr116, Gly117, 및 Pro118 중 하나 이상이 치환된 것을 제외하고 천연의 비치환된 서열 번호 12의 1-137 위치에 일치한다. 그러나 일부 실시양태에서, 서열 번호 32는 야생형 CDR3 β 서열 번호 8을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 서열 번호 32는 서열 번호 8을 포함하지 않는다.

[0029] 또한, 본 발명은 (i) Xaa116이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Ser, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa118이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, 그리고 Xaa119가 Thr, Ala, Leu, Ile, Val,

또는 Met인 서열 번호 33, 및/또는 (ii) Xaa115가 Arg, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa116이 Thr, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, Xaa117이 Gly, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met이고, 그리고 Xaa118이 Pro, Ala, Leu, Ile, Val, 또는 Met인 서열 번호 34를 포함하는 TCR의 기능적 변이체를 제공한다. 서열 번호 33은 일반적으로 서열 번호 33에서 Ser116, Ser117, Gly118, 및 Thr119 중 하나 이상이 치환된 것을 제외하고는 천연의 비치환된 서열 번호 11의 1-275 위치에 일치한다. 바람직하게는, 기능적 변이체는 (a) Xaa116이 Ala이고, Xaa117이 Ser이고, Xaa118이 Gly이고, 그리고 Xaa119가 Thr인 서열 번호 33, 또는 (b) Xaa116이 Ser이고, Xaa117가 Ala이고, Xaa118이 Gly이고, 그리고 Xaa119가 Thr인 서열 번호 33을 포함한다. 그러나 일부 실시양태에서, 서열 번호 33은 야생형 CDR3 α 서열 번호 5를 포함할 수 있으며, 바람직하게는, 서열 번호 33은 서열 번호 5를 포함하지 않는다. 서열 번호 34는 일반적으로 서열 번호 34에서 Arg115, Thr116, Gly117, 및 Pro118 중 하나 이상이 치환된 것을 제외하고 천연의 비치환된 서열 번호 12의 1-313 위치에 일치한다. 그러나 일부 실시양태에서, 서열 번호 34는 야생형 CDR3 β 서열 번호 8을 포함할 수 있으며, 바람직하게는 서열 번호 34는 서열 번호 8을 포함하지 않는다.

[0030] 본 발명의 TCR과 같이, 본원에서 기재된 기능적 변이체는 각각이 TCR의 CDR1, CDR2, 및 CDR3의 가변 영역을 포함하는 두 개의 폴리펩티드를 포함한다. 바람직하게는, 제1 폴리펩티드 쇄는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1(α 쇄의 CDR1), 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2(α 쇄의 CDR2), 및 서열 번호 29의 아미노산을 포함하는 치환된 CDR3(α 쇄의 치환된 CDR3)를 포함하고, 제2 폴리펩티드 쇄는 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1(β 쇄의 CDR1), 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2(β 쇄의 CDR2), 및 서열 번호 8의 아미노산을 포함하는 CDR3(β 쇄의 CDR3)을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1(α 쇄의 CDR1), 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2(α 쇄의 CDR2), 및 서열 번호 5의 아미노산을 포함하는 CDR3(α 쇄의 치환된 CDR3)을 포함하고, 제2 폴리펩티드 쇄는 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1(β 쇄의 CDR1), 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2(β 쇄의 CDR2), 및 서열 번호 30의 아미노산을 포함하는 치환된 CDR3(β 쇄의 치환된 CDR3)을 포함한다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR의 기능적 변이체는 서열 번호 3-5; 서열 번호 3-4 및 29; 서열 번호 6-8; 및 서열 번호 6-7 및 30으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산을 포함할 수 있다. 바람직하게는, TCR의 기능적 변이체는 서열 번호 3-4, 29 및 6-8, 서열 번호 3-7 및 30, 또는 서열 번호 3-4, 29, 6-7, 및 30의 아미노산 서열을 포함한다. 보다 바람직하게는 TCR의 기능적 변이체는 서열 번호 3-4, 29, 및 6-8의 아미노산 서열을 포함한다.

[0031] 대안적으로 또는 추가적으로, TCR의 기능적 변이체는 상기에 개시된 CDR을 포함하는 TCR의 가변 영역의 치환된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, TCR은 서열 번호 31의 치환된 아미노산 서열(α 쇄의 치환된 가변 영역), 서열 번호 10(β 쇄의 가변 영역), 서열 번호 31 및 10 둘 다, 서열 번호 32의 치환된 아미노산 서열(β 쇄의 치환된 가변 영역), 서열 번호 9(α 쇄의 가변 영역), 서열 번호 9 및 32 둘 다, 또는 서열 번호 31 및 32 둘 다를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 TCR의 기능적 변이체는 서열 번호 31 및 10 또는 서열 번호 32 및 9의 아미노산 서열을 포함한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 TCR의 기능적 변이체는 서열 번호 31 및 10의 아미노산 서열을 포함한다.

[0032] 대안적으로 또는 추가적으로, TCR의 기능적 변이체는 TCR의 치환된 α 쇄 및 TCR의 β 쇄를 포함할 수 있다. 본 발명의 TCR의 α 쇄 및 β 쇄 각각은 독립적으로 임의의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 치환된 α 쇄는 상기에 개시된 α 쇄의 치환된 가변 영역을 포함한다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR의 치환된 α 쇄는 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 상기 유형의 치환된 α 쇄는 TCR의 임의의 β 쇄와 짹을 이룰수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 TCR의 β 쇄는 상기에 개시된 β 쇄의 가변 영역을 포함한다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR은 서열 번호 12의 아미노산 서열 또는 서열 번호 34의 치환된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 상기 유형의 치환된 β 쇄는 TCR의 임의의 α 쇄와 짹을 이룰 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR은 서열 번호 11 또는 33의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 따라서, 본 발명의 TCR의 기능적 변이체는 서열 번호 11, 12, 33, 34, 서열 번호 33 및 34 둘 다, 서열 번호 11 및 34 둘 다, 또는 서열 번호 12 및 33 둘 다의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 TCR의 기능적 변이체는 서열 번호 11 및 34 또는 서열 번호 12 및 33의 아미노산 서열을 포함한다. 보다 바람직하게는, TCR의 기능적 변이체는 서열 번호 12 및 33의 아미노산 서열을 포함한다.

[0033] 발명의 한 실시양태에서, TCR(또는 이의 기능적 변이체)는 인간의 불변 영역을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, TCR(또는 이의 기능적 변이체)은 서열 번호 23 또는 35(인간 α 쇄의 불변 영역), 서열 번호 24 또는 36(인간 β 쇄의 불변 영역), 서열 번호 23 및 24 둘 다, 또는 서열 번호 35 및 36 둘 다를 포함하는 인간 불변 영역을

포함할 수 있다. 바람직하게는, TCR(또는 이의 기능적 변이체)은 서열 번호 23 및 24 둘 다를 포함한다.

[0034] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, TCR(또는 이의 기능적 변이체)는 인간/마우스 키메라 TCR을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, TCR(또는 이의 기능적 변이체)은 서열 번호 25(마우스 α 쇄의 불변 영역), 서열 번호 26(마우스 β 쇄의 불변 영역), 또는 서열 번호 25 및 26 둘 다를 포함하는 마우스 불변 영역을 포함할 수 있다. 바람직하게는, TCR(또는 이의 기능적 변이체)은 서열 번호 25 및 26 둘 다를 포함한다.

[0035] 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 상기에 개시한 임의의 CDR을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 서열 번호 3-5, 서열 번호 13-15, 서열 번호 16-18, 서열 번호 3-4 및 29, 서열 번호 6-8 및 서열 번호 6-7 및 30으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 서열 번호 3-8, 서열 번호 13-18, 서열 번호 3-4, 29, 및 6-8, 서열 번호 3-7 및 30 또는 서열 번호 3-4, 29, 6-7, 및 30의 아미노산 서열을 포함한다. 보다 바람직하게는, 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 서열 번호 3-4, 29, 및 6-8 또는 서열 번호 3-8의 아미노산 서열을 포함한다.

[0036] 대안적으로 또는 추가적으로, 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 상기에 개시된 임의의 가변 영역을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 서열 번호 31의 치환된 아미노산 서열(α 쇄의 치환된 가변 영역), 서열 번호 10 또는 20(β 쇄의 가변 영역), 서열 번호 32의 치환된 아미노산 서열(β 쇄의 치환된 가변 영역), 서열 번호 9 또는 19(α 쇄의 가변 영역), 서열 번호 9 및 32 둘 다, 서열 번호 31 및 32 둘 다, 서열 번호 31 및 10 둘 다, 서열 번호 9 및 10 둘 다, 또는 서열 번호 19 및 20 둘 다를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 서열 번호 31 및 10, 서열 번호 9 및 10, 또는 서열 번호 32 및 9의 아미노산 서열을 포함한다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 TCR의 기능적 변이체 또는 기능적 부분은 서열 번호 31 및 10 또는 서열 번호 9 및 10의 아미노산 서열을 포함한다.

[0037] 대안적으로 또는 추가적으로, 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 TCR의 α 쇄(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분) 및 TCR의 β 쇄(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)를 포함할 수 있다. 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)의 α 쇄 및 β 쇄 각각은 독립적으로 임의의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, α 쇄는 상기에 개시된 α 쇄의 가변 영역을 포함한다. 이와 관련하여, 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 서열 번호 27의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 상기 유형의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 TCR의 임의의 β 쇄(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)와 짹을 이를 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)의 β 쇄는 상기에 개시된 β 쇄의 가변 영역을 포함한다. 이와 관련하여, 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 서열 번호 28의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 따라서, 본 발명의 인간/마우스 키메라 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분)은 서열 번호 27 또는 28, 또는 서열 번호 27 및 28 둘 다의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 TCR은 서열 번호 27 및 28의 아미노산 서열을 포함한다.

[0038] 또한, 본 발명은 본원에서 개시된 임의의 TCR의 기능적 부분 또는 기능적 변이체를 포함하는 폴리펩티드를 제공한다. 본원에서 사용되는 용어 "폴리펩티드"는 올리고펩티드를 포함하고 하나 이상의 펩티드 결합에 의해 연결된 아미노산의 단일 쇄를 나타낸다.

[0039] 본 발명의 폴리펩티드에 관련하여, 기능적 부분이 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6에 특이적으로 결합하기만 한다면, 기능적 부분은 일부분이 유래된 TCR(또는 이의 기능적 변이체)의 인접한 아미노산을 포함하는 어떤 부분이든 될 수 있다. TCR(또는 이의 기능적 변이체)과 관련하여 사용될 때 용어 "기능적 부분"은 일부분이 유래된 TCR(또는 이의 기능적 변이체)(부모 TCR 또는 이의 부모의 기능적 변이체)의 생물학적 활성을 보유하는 본 발명의 TCR(또는 이의 기능적 변이체)의 임의의 부분 또는 단편을 나타낸다. 기능적 부분은, 예를 들어 부모 TCR과 유사한 정도, 동일한 정도 또는 높은 정도로 MAGE-A3(예를 들어, HLA-DP β 1*04-의존적 방식으로)에 특이적으로 결합하거나 암을 검출, 치료 또는 예방하는 능력을 보유하는 TCR(또는 이의 기능적 변이체)의 일부분을 포함한다. 부모 TCR(또는 이의 기능적 변이체)과 관련하여, 기능적 부분은 예를 들어 부모 TCR(또는 이의 기능적 변이체)의 약 10%, 25%, 30%, 50%, 68%, 80%, 90%, 95% 이상을 포함할 수 있다.

[0040] 기능적 부분은 그 부분의 아미노 말단 또는 카복시 말단, 또는 양쪽에 부모 TCR 또는 이의 기능적 변이체의 아

미노산 서열에서 발견되지 않는 추가의 아미노산을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 추가의 아미노산은 예를 들어 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6에 특이적으로 결합하고/거나 암을 검출, 치료 또는 예방할 수 있는 등의 능력을 갖는 기능적 부분의 생물학적 기능을 방해하지 않는다. 보다 바람직하게는, 부모 TCR 또는 이의 기능적 변이체의 생물학적 활성과 비교하여 추가의 아미노산은 생물학적 활성을 상승시킨다.

[0041] 폴리펩티드는 본 발명의 TCR 또는 이의 기능적 변이체의 α 및 β 중 하나 또는 둘 다의 기능적 부분, 예를 들어, 본 발명의 TCR 또는 이의 기능적 변이체의 α 및/또는 β 쇄의 가변 영역 중 하나 이상의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 기능적 부분을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 폴리펩티드는 서열 번호 3 또는 13(α 쇄의 CDR1), 서열 번호 4 또는 14(α 쇄의 CDR2), 서열 번호 5, 15, 또는 29(α 쇄의 CDR3), 서열 번호 6 또는 16(β 쇄의 CDR1), 서열 번호 7 또는 17(β 쇄의 CDR2), 서열 번호 8, 18, 또는 30(β 쇄의 CDR3), 또는 그들의 조합의 아미노산 서열을 포함하는 기능적 부분을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 폴리펩티드는 서열 번호 3-5, 3-4 및 29, 6-8, 6-7 및 30, 13-15, 16-18, 서열 번호 3-8 모두, 서열 번호 13-18 모두, 서열 번호 3-4, 29, 및 6-8 모두, 서열 번호 3-7 및 30 모두 또는 서열 번호 3-4, 29, 6-7, 및 30 모두를 포함하는 기능적 부분을 포함한다. 보다 바람직하게는, 폴리펩티드는 서열 번호 3-8 모두 또는 서열 번호 3-4, 29, 및 6-8 모두의 아미노산 서열을 포함하는 기능적 부분을 포함한다.

[0042] 대안적으로 또는 추가적으로, 본 발명의 폴리펩티드는 예를 들어, 상기에 개시된 CDR 영역의 조합을 포함하는 본 발명의 TCR 또는 이의 기능적 변이체의 가변 영역을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 폴리펩티드는 서열 번호 9, 19, 또는 31(α 쇄의 가변 영역), 서열 번호 10, 20, 또는 32(β 쇄의 가변 영역), 서열 번호 9 및 10 둘 다, 서열 번호 19 및 20 둘 다, 서열 번호 31 및 32 둘 다, 서열 번호 9 및 32 둘 다, 또는 서열 번호 10 및 31 둘 다의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 폴리펩티드는 서열 번호 9 및 10 둘 다 또는 서열 번호 10 및 31 둘 다의 아미노산 서열을 포함한다.

[0043] 대안적으로 또는 추가적으로, 본 발명의 폴리펩티드는 본원에서 기재된 TCR 또는 이의 기능적 변이체 중 하나의 전장의 α 또는 β 쇄를 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 폴리펩티드는 서열 번호 11, 12, 21, 22, 27, 28, 33, 또는 34의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 폴리펩티드는 본원에서 기재된 TCR 또는 이의 기능적 변이체의 α 및 β 쇄를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 폴리펩티드는 서열 번호 11 및 12 둘 다, 서열 번호 21 및 22 둘 다, 서열 번호 33 및 34 둘 다, 서열 번호 12 및 34 둘 다, 서열 번호 12 및 33 둘 다, 또는 서열 번호 27 및 28 둘 다의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 폴리펩티드는 서열 번호 11 및 12 둘 다, 서열 번호 33 및 12 둘 다 또는 서열 번호 27 및 28 둘 다의 아미노산 서열을 포함한다.

[0044] 발명은 또한 본원에서 기재된 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 제공한다. "단백질"은 하나 이상의 폴리펩티드 쇄를 포함하는 분자를 의미한다.

[0045] 한 실시양태에서, 본 발명의 단백질은 서열 번호 3-5, 서열 번호 13-15 또는 서열 번호 3-4 및 29의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄, 및 서열 번호 6-8, 서열 번호 16-18 또는 서열 번호 6-7 및 30의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 본 발명의 단백질은 서열 번호 9, 19 또는 31의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄, 및 서열 번호 10, 20 또는 32의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함할 수 있다. 본 발명의 단백질은 예를 들어 서열 번호 11, 21, 27, 또는 33의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄, 및 서열 번호 12, 22, 28, 또는 34의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함할 수 있다. 이 경우에, 본 발명의 단백질은 TCR일 수 있다. 대안적으로, 예를 들어, 단백질이 서열 번호 11, 21, 27, 또는 33 및 서열 번호 12, 22, 28, 또는 34를 포함하는 단일 폴리펩티드 쇄를 포함하는 경우, 또는 단백질의 제1 및/또는 제2 폴리펩티드 쇄가 또한 다른 아미노산 서열, 예를 들어 면역글로불린 또는 이의 부분을 코딩하는 아미노산 서열을 포함하는 경우, 본 발명의 단백질은 융합 단백질이 될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명은 또한 하나 이상의 다른 폴리펩티드와 함께 본원에서 기재된 본 발명의 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 다른 폴리펩티드는 융합 단백질의 분리된 폴리펩티드로서 존재할 수 있거나, 본원에 기재된 본 발명의 폴리펩티드 중 하나와 인 프레임(나란히)으로 발현되는 폴리펩티드로서 존재할 수 있다. 다른 폴리펩티드는 임의의 웨티드 또는 단백질성 분자 또는 이의 일부분을 코딩할 수 있으며, 여기에는 면역글로불린, CD3, CD4, CD8, MHC 분자, CD1 분자, 예를 들어, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0046] 융합 단백질은 본 발명의 폴리펩티드의 하나 이상의 카페 및/또는 다른 폴리펩티드의 하나 이상의 카페를 포함할 수 있다. 예를 들어, 융합 단백질은 본 발명의 폴리펩티드 및/또는 다른 폴리펩티드의 1, 2, 3, 4, 5, 또는

그 이상의 카페를 포함할 수 있다. 융합 단백질을 만드는 적합한 방법은 당 업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 재조합 방법을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Choi et al., *Mol. Biotechnol.* 31: 193-202 (2005)]을 참조한다.

[0047] 본 발명의 일부 실시양태에서, 본발명의 TCR(및 이의 기능적 부분 및 기능적 변이체), 폴리펩티드, 및 단백질은 α 쇄와 β 쇄를 연결하는 링커 펩티드를 포함하는 단일 단백질로 발현될 수 있다. 이와 관련하여, 서열 번호 11, 21, 27, 또는 33 및 서열 번호 12, 22, 28, 또는 34를 포함하는 본 발명의 TCR(및 이의 기능적 변이 및 기능적 부분), 폴리펩티드, 및 단백질은 또한 링커 펩티드를 포함할 수 있다. 링커 펩티드는 숙주 세포에서 재조합 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 및/또는 단백질의 발현을 유리하게 촉진할 수 있다. 숙주 세포에서 링커 펩티드를 포함한 구조물을 발현할 때, 링커 펩티드는 절단될 수 있으며, 그 결과 분리된 α 및 β 쇄를 생성한다.

[0048] 본 발명의 단백질은 본원에서 기재된 본 발명의 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 재조합 항체일 수 있다. 본원에서 사용되는 "재조합 항체"는 본 발명의 하나 이상의 폴리펩티드 및 항체 또는 이의 부분의 폴리펩티드 쇄를 포함하는 재조합(예를 들어, 유전적으로 조작된) 단백질을 나타낸다. 항체 또는 이의 부분의 폴리펩티드는 중쇄, 경쇄, 중쇄 또는 경쇄의 가변 또는 불변 영역, 단쇄 가변 단편(scFv), 또는 항체의 Fc, Fab, 또는 F(ab)₂' 단편 등일 수 있다. 항체 또는 이의 부분의 폴리펩티드 쇄는 재조합 항체의 분리된 폴리펩티드로서 존재할 수 있다. 대안적으로, 항체 또는 이의 부분의 폴리펩티드 쇄는 본 발명의 폴리펩티드와 인프레임(나란히)으로 발현되는 폴리펩티드로서 존재할 수 있다. 항체 또는 이의 부분의 폴리펩티드는 본원에서 기재된 임의의 항체 및 항체 단편을 포함한 임의의 항체 또는 임의의 항체 단편의 폴리펩티드일 수 있다.

[0049] TCR(또는 이의 기능적 변이체), 폴리펩티드, 또는 단백질은 명시된 아미노산 서열 또는 본원에서 기재된 서열로 필수적으로 이루어질 수 있어서, TCR(또는 이의 기능적 변이체), 폴리펩티드, 또는 단백질의 다른 구성성분, 예를 들어, 다른 아미노산은 TCR(또는 이의 기능적 변이체), 폴리펩티드, 또는 단백질의 생물학적 활성을 실질적으로 변화시키지 않는다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR(또는 이의 기능적 변이체), 폴리펩티드, 또는 단백질은 예를 들어, 서열 번호 11, 12, 21, 22, 27, 28, 33, 및 34, 서열 번호 11 및 12 둘 다, 서열 번호 21 및 22 둘 다, 서열 번호 27 및 28 둘 다, 서열 번호 33 및 34 둘 다, 서열 번호 11 및 34 둘 다, 또는 서열 번호 12 및 33 둘 다의 아미노산 서열로 필수적으로 이루어질 수 있다. 또한, 예를 들어, 본 발명의 TCR(이의 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 또는 단백질은 서열 번호 9, 10, 19, 20, 31, 32, 서열 번호 9 및 10 둘 다, 서열 번호 19 및 20 둘 다, 서열 번호 31 및 32 둘 다, 서열 번호 9 및 32 둘 다, 서열 번호 10 및 31 둘 다의 아미노산 서열로 필수적으로 이루어질 수 있다. 뿐만 아니라, 본 발명의 TCR(이의 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 또는 단백질은 서열 번호 3 또는 13(α 쇄의 CDR1), 서열 번호 4 또는 14(α 쇄의 CDR2), 서열 번호 5, 15, 또는 29(α 쇄의 CDR3), 서열 번호 6 또는 16(β 쇄의 CDR1), 서열 번호 7 또는 17(β 쇄의 CDR2), 서열 번호 8, 18, 또는 30(β 쇄의 CDR3), 또는 이들의 임의의 조합, 예를 들어, 서열 번호 3-5, 6-8, 3-8, 13-15, 16-18, 13-18, 3-4 및 29, 6-7 및 30, 3-4, 29, 및 6-8, 3-7 및 30, 또는 3-4, 29, 6-7, 및 30의 아미노산 서열로 필수적으로 이루어질 수 있다.

[0050] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드, 및 단백질(이의 기능적 변이체를 포함)은 임의의 길이일 수 있다. 즉, TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질(또는 이의 기능적 변이체)이 그들의 생물학적 활성, 예를 들어, MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6에 특이적으로 결합하고, 포유동물에서 암을 검출하고, 또는 포유동물에서 암을 치료 또는 예방하는 등의 능력을 보유하기만 한다면 어떤 개수의 아미노산도 포함할 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드는 약 50 내지 약 5000개의 아미노산 길이, 예를 들어 50, 70, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000개 이상의 아미노산 길이일 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 폴리펩티드는 또한 올리고펩티드를 포함한다.

[0051] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드, 및 단백질(이의 기능적 변이체를 포함)은 하나 이상의 자연 발생 아미노산 대신에 합성 아미노산을 포함할 수 있다. 이러한 합성 아미노산은 당 업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 아미노시클로헥산 카복실산, 노르류신, α -아미노 n-데칸산, 호모세린, S-아세틸아미노메틸-시스테인, 트랜스-3- 및 트랜스-4-히드록시프롤린, 4-아미노페닐알라닌, 4-니트로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 4-카복시페닐알라닌, β -페닐세린, β -히드록시페닐알라닌, 페닐글리신, α -나프탈알라닌, 시클로헥실알라닌, 시클로헥실글리신, 인돌린-2-카복실산, 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-3-카복실산, 아미노말론산, 아미노말론산 모노아미드, N'-벤질-N'-메틸-리신, N',N'-디벤질-리신, 6-히드록시리신, 오르니틴, α -아미노시클로헵탄 카복실산, α -아미노시크로헥산 카복실산, α -아미노시클로헵탄 카복실산, α -(2-아미노-2-노보네인)-카복실산, α , γ -디아미노부티르산, α , β -디아미노프로파온산, 호모페닐알라닌, 및 α -tert-부틸리신이 포함된다.

[0052] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드, 및 단백질(이의 기능적 변이체를 포함)은 글리코실화, 아미드화, 카복실화,

인산화, 에스테르화, N-아실화, 예를 들어 디설피드 결합에 의해 고리화되거나, 또는 산첨가염으로 전환되거나 선택적으로 이량체화되거나 중합되거나 접합될 수 있다.

[0053] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드, 및/또는 단백질(이의 기능적 변이체를 포함)은 당 업계에 공지된 방법으로 얻을 수 있다. 폴리펩티드 및 단백질을 데 노보(*de novo*) 합성하는 적합한 방법은 참고, 예를 들어 문헌(Chan et al., *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis*, Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 2005; *Peptide and Protein Drug Analysis*, ed. Reid, R., Marcel Dekker, Inc., 2000; *Epitope Mapping*, ed. Westwood et al., Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 2000; 및 미국 특허 제5,449,752호)에 기재되어 있다. 또한, 폴리펩티드 및 단백질은 표준 재조합 방법으로 본원에서 기재된 핵산을 이용하여 재조합적으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 문헌(Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY 2001; 및 Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, NY, 1994)을 참고한다. 또한, 본 발명의 일부 TCR, 폴리펩티드, 및 단백질(이의 기능적 변이체를 포함)은 식물, 세균, 곤충, 포유동물, 예를 들어 랫트 인간과 같은 공급원으로부터 단리 및/또는 정제될 수 있다. 단리 방법 및 정제 방법은 당 업계에 잘 공지되어 있다. 대안적으로, 본원에 기재된 TCR, 폴리펩티드, 및/또는 단백질(이의 기능적 변이체를 포함)은 신펩(Synpep (캘리포니아주 두블린)), 웨프티드 테크놀로지즈 콥(Peptide Technologies Corp(메릴랜드주 게티스버그)), 및 멀티플 웨프티드 시스템(Multiple Peptide Systems (캘리포니아주 샌디에고))과 같은 회사에서 상업적으로 합성될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR(이의 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 및 단백질은 합성, 재조합, 단리, 및/또는 정제될 수 있다.

[0054] 본 발명의 임의의 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질(이의 기능적 변이체를 포함), 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 숙주 세포 집단, 또는 항체, 또는 이의 항원 결합 부분을 포함하는 접합체, 예를 들어 생접합체는 본 발명의 범위에 포함된다. 접합체 및 통상적으로 접합체를 합성하는 방법은 당 업계에 공지되어 있다[예를 들어, 문헌(Hudecz, F., *Methods Mol. Biol.* 298: 209-223 (2005) 및 Kirin et al., *Inorg Chem.* 44(15): 5405-5415 (2005))을 참고].

[0055] 본원에서 사용되는 "핵산"은 "폴리뉴클레오티드," 및 "올리고뉴클레오티드," 및 "핵산 분자"를 포함하며, 일반적으로 DNA 또는 RNA의 중합체를 의미하며, 이들은 단일 가닥 또는 이중 가닥이고, 합성되거나 천연 공급원으로부터 얻을 수 있으며(예를 들어 단리되고/되거나 정제된), 천연, 비천연 또는 변경된 뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 천연, 비천연 또는 변경된 뉴클레오티드 사이의 결합, 예를 들어 변형되지 않은 올리고뉴클레오티드 사이에서 발견되는 포스포디에스테르 대신에 포스포로아미데이트 결합 또는 포스포로티오에이트 결합을 포함할 수 있다. 일반적으로 임의의 삽입, 결실, 역위 및/또는 치환을 포함하는 않는 것이 바람직하다. 그러나 본원에서 논의되는 바와 같이 어떤 경우에는 핵산이 하나 이상의 삽입, 결실, 역위 및/또는 치환을 포함하는 것이 적합할 수 있다.

[0056] 바람직하게는, 본 발명의 핵산은 재조합이다. 본원에서 사용된 용어 "재조합체"는 (i) 천연 또는 합성의 핵산 세그먼트를 살아있는 세포에서 복제할 수 있는 핵산 분자에 연결하여 살아있는 세포 밖에서 제작되는 분자 또는 (ii) 상기 (i)에서 기재된 분자의 복제로부터 생성되는 분자를 나타낸다. 본원에서 목적을 위해, 복제는 시험관내 복제 또는 생체 내 복제일 수 있다.

[0057] 핵산은 당 업계에 공지된 방법을 이용하는 화학적 합성 및/또는 효소 결찰 반응을 기초로 하여 제작될 수 있다. 예를 들어, 상기 문헌(Sambrook et al., 및 Ausubel et al.)을 참고한다. 예를 들어, 핵산은 자연 발생 뉴클레오티드 분자의 생물학적 안정성을 증가시키거나, 혼성화시 형성되는 이중체의 물리적 안정성을 증가시키도록 설계된 다양하게 변형된 뉴클레오티드를 이용하여 화학적으로 합성될 수 있다(예를 들어, 포스포로티오에이트 유도체 및 아크리딘 치환된 뉴클레오티드). 핵산을 생산하는데 사용될 수 있는 변형된 뉴클레오티드의 예에는 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 5-클로로우라실, 5-요오도우라실, 하이포잔틴, 잔틴, 4-아세틸시토신, 5-(카복시히드록시메틸) 우라실, 5-카복시메틸아미노메틸-2-티오유리딘, 5-카복시메틸아미노메틸우라실, 디히드로우라실, 베타-D-갈락토실퀴오신, 이노신, N⁶-이소젠테닐아데닌, 1-메틸구아닌, 1-메틸이노신, 2,2-디메틸구아닌, 2-메틸아데닌, 2-메틸구아닌, 3-메틸시토신, 5-메틸시토신, N⁶-치환된 아데닌, 7-메틸구아닌, 5-메틸아미노메틸 우라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오우라실, 베타-D-만노실퀴오신, 5'-메톡시카복시메틸우라실, 5-메톡시우라실, 2-메틸티오-N⁶-이소젠테닐아데닌, 우라실-5-옥시아세트산(v), 와이부톡소신, 유사우라실, 퀘오신, 2-티오시토신, 5-메틸-2-티오우라실, 2-티오우라실, 4-티오우라실, 5-메틸우라실, 우라실-5-옥시아세트산 메틸

에스테르, 3-(3-아미노-3-N-2-카복시프로필) 우라실, 및 2,6-디아미노퓨린이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 대안적으로, 본 발명의 하나 이상의 핵산은 매크로몰레큘라 리소스(Macromolecular Resources (콜로라도주 포트 콜린즈) 및 신테젠(Synthegeen (텍사스주 휴스턴))과 같은 제조사로부터 구입할 수 있다.

[0058] 핵산은 본원에서 기재된 임의의 TCR, 폴리펩티드, 단백질, 또는 이의 기능적 변이체를 코딩하는 임의의 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 핵산은 하나 이상의 임의의 뉴클레오티드 서열 서열 번호 37-44를 포함하거나, 이로 이루어지거나 필수적으로 이루어질 수 있다.

[0059] 또한, 본 발명은 본원에서 기재된 임의의 핵산의 뉴클레오티드 서열과 상보적인 뉴클레오티드 서열 또는 염격한 조건하에서 본원에서 기재된 임의의 핵산의 뉴클레오티드 서열에 혼성화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다.

[0060] 염격한 조건하에서 혼성화하는 뉴클레오티드 서열은 바람직하게는 매우 염격한 조건하에서도 혼성화한다. "매우 염격한 조건"은 뉴클레오티드 서열이 비특이적 혼성화보다 더 강하게 검출될 수 있는 양으로 표적 서열(본원에서 기재된 임의의 핵산 서열의 뉴클레오티드 서열)에 특이적으로 혼성화한다는 것을 의미한다. 매우 염격한 조건은 정확한 상보성 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드, 또는 산재된 불일치를 몇몇 개만을 포함하는 것을 뉴클레오티드 서열과 일치하는 몇몇 작은 영역(예를 들어, 3-10 염기)을 갖게 되는 임의의 서열과 구분하는 조건을 포함한다. 이러한 작은 영역의 상보성은 14-17개 이상의 염기가 상보적인 전장보다 더 쉽게 용융되고, 매우 염격한 혼성화는 이들을 구분할 수 있게 만든다. 상대적으로 매우 염격한 조건은 예를 들어 약 0.02 내지 0.1 M NaCl 또는 등가물, 약 50-70°C의 온도로 제공되는 조건과 같이 저염 및/또는 고온 조건을 포함한다. 이러한 매우 염격한 조건은 뉴클레오티드 서열과 주형 또는 표적 가닥 사이에 불일치가 존재하는 경우 이를 거의 받아들이지 못하고, 본 발명의 임의의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)의 발현을 검출하는데 특히 적합하다. 일반적으로, 포름아미드 양을 증가시켜 첨가하여 더 염격한 조건을 만들 수 있는 것으로 인식되고 있다.

[0061] 본 발명은 또한 본원에서 기재된 임의의 핵산과 약 70% 이상, 예를 들어, 약 80%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 이상 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다.

[0062] 본 발명의 핵산은 재조합 발현 벡터 안으로 포함될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명은 본 발명의 임의의 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 본원에서 목적을 위해, 용어 "재조합 발현 벡터"는, 구조물이 mRNA, 단백질, 폴리펩티드, 또는 웨პ티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 세포 내에서 mRNA, 단백질, 폴리펩티드, 또는 웨პ티드가 발현되기에 충분한 조건하에서 벡터가 세포와 접촉될 때, 숙주 세포에 의해 mRNA, 단백질, 폴리펩티드, 또는 웨პ티드의 발현을 허용하는 유전적으로 변형된 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 구조물을 의미한다. 본 발명의 벡터는 대개는 자연 발생적이지 않다. 그러나 벡터의 일부분은 자연 발생적일 수 있다. 본 발명의 재조합 발현 벡터는 DNA 또는 RNA를 포함한 임의 유형의 뉴클레오티드를 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않으며, 이들은 단일 가닥 또는 이중 가닥이거나, 합성되거나 부분적으로 천연 공급원으로부터 얻을 수 있으며, 천연, 비천연 또는 변경된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 재조합 발현 벡터는 자연 발생적, 비자연 발생적 뉴클레오티드 사이의 결합 또는 두 가지 유형의 결합 모두를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 비자연 발생적 또는 변경된 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 사이의 결합은 벡터의 전사 또는 복제를 방해하지 않는다.

[0063] 본 발명의 재조합 발현 벡터는 임의의 적합한 재조합 발현 벡터일 수 있고, 임의의 적합한 숙주 세포를 형질전환 또는 형질감염시키는 데 사용될 수 있다. 적합한 벡터는 중식 및 확장을 위해, 또는 발현을 위해, 또는 둘 다를 위해 설계된 것, 예를 들어 플라스미드 및 바이러스를 포함한다. 벡터는 pUC 계열(Fermentas Life Sciences), pBluescript 계열(Stratagene, 캘리포니아주 라졸라), pET 계열(Novagen, 위스콘신주 매디슨), pGEX 계열(Pharmacia Biotech, 스웨덴 읍살라), 및 pEX 계열(Clontech, 캘리포니아주 팔로 알토)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 또한, λGT10, λGT11, λZapII(Stratagene), λEMBL4, 및 λNM1149와 같은 박테리오파아지가 사용될 수 있다. 식물 발현 벡터의 예로는 pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 및 pBIN19(Clontech)가 포함된다. 동물 발현 벡터의 예로는 pEUK-C1, pMAM 및 pMAMneo(Clontech)가 포함된다. 바람직하게는, 재조합 발현 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들어 레트로 바이러스 벡터이다.

[0064] 본 발명의 재조합 발현 벡터는 예를 들어 상기 문헌(Sambrook et al., 및 Ausubel et al.)에 기재된 표준 재조합 DNA 기술을 이용하여 제조될 수 있다. 원형 또는 선형인 발현 벡터의 구조물은 진핵 또는 원핵 숙주 세포에서 기능적인 복제 시스템을 포함하도록 제조될 수 있다. 복제 시스템은 예를 들어, ColE1, 2μ 플라스미드, λ,

SV40, 소 유두종 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다.

[0065] 바람직하게는, 재조합 발현 벡터는 적절하게 그리고 벡터가 DNA 또는 RNA 기재인지 여부를 고려하여 벡터가 도입될 숙주 세포 유형(예를 들어, 세균, 진균, 식물 또는 동물)에 특이적인 조절 서열, 예를 들어 전사 및 번역 개시 및 종료 코돈을 포함한다.

[0066] 재조합 발현 벡터는 형질전환된 또는 형질감염된 숙주 세포를 선별하도록 해주는 하나 이상의 마커 유전자를 포함할 수 있다. 마커 유전자는 살생제 내성, 예를 들어, 항생제, 중금속 등에 대한 내성, 영양 요구 숙주 세포에서 원영양체를 제공하는 보완성 등을 포함한다. 본 발명의 발현 벡터에 적합한 마커 유전자는 예를 들어, 네오마이신/G418 내성 유전자, 히그로마이신 내성 유전자, 히스티디놀 내성 유전자, 테트라사이클린 내성 유전자 및 앰피실린 내성 유전자를 포함한다.

[0067] 재조합 발현 벡터는 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질(이의 기능적 변이체를 포함)을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에, 또는 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질(이의 기능적 변이체를 포함)을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 상보적이거나 이에 혼성화하는 뉴클레오티드 서열에, 작동 가능하게 연결되는 고유 또는 비 고유의 프로모터를 포함할 수 있다. 강한, 약한, 유도성, 조직특이적, 및 발달 특이적인 프로모터의 선택은 당업자의 통상의 기술 내에 있다. 유사하게 뉴클레오티드 서열을 프로모터와 결합하는 것 또한 당업자의 기술 내에 있다. 프로모터는 비 바이러스성 프로모터 또는 바이러스성 프로모터, 예를 들어 거대세포 바이러스(CMV) 프로모터, SV40 프로모터, RSV 프로모터, 및 뮤린 출기세포 바이러스의 긴 말단 반복 순서(long terminal repeat)에서 발견된 프로모터일 수 있다.

[0068] 본 발명의 재조합 발현 벡터는 일시적인 반응, 안정적 발현, 또는 둘 다를 위해 설계될 수 있다. 또한, 재조합 발현 벡터는 구성적인 발현 또는 유도성 발현을 위해 제조될 수 있다. 또한, 재조합 발현 벡터는 자살 유전자를 포함하도록 만들어질 수 있다.

[0069] 본원에서 사용되는 용어 "자살 유전자"는 자살 유전자를 발현하는 세포가 사멸하도록 유발하는 유전자를 나타낸다. 자살 유전자는 유전자가 발현되는 세포에 제제, 예를 들어 약물에 대한 민감성을 부여하고, 세포가 제제에 접촉되거나 노출될 때 세포가 사멸하도록 유발하는 유전자일 수 있다. 자살 유전자는 당 업계에 공지되어 있으며(예를 들어, 문헌(*Suicide Gene Therapy: Methods and Reviews*, Springer, Caroline J. (Cancer Research UK Centre for Cancer Therapeutics at the Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, UK), Humana Press, 2004) 참조), 예를 들어, 단순 포진 바이러스(HSV) 티미딘 키나아제(TK) 유전자, 시토신 다미나아제, 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제, 및 니트로리덕타제를 포함한다.

[0070] 본 발명의 또 다른 실시양태는 또한 본원에서 기재된 임의의 재조합 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 본원에서 사용되는 용어 "숙주 세포"는 본 발명의 재조합 발현 벡터를 포함할 수 있는 임의 유형의 세포를 나타낸다. 숙주 세포는 진핵 세포, 예를 들어, 식물, 진균, 조류일 수 있으며, 또는 원핵 세포, 예를 들어, 세균 또는 원생동물일 수 있다. 숙주 세포는 배양된 세포 또는 1차 세포, 즉 유기체, 예를 들어 인간으로부터 직접 단리된 세포일 수 있다. 숙주 세포는 부착 세포 또는 혼탁된 세포, 즉 혼탁액에서 성장하는 세포일 수 있다. 적합한 숙주 세포는 당 업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 DH5 α 이. 콜라이(*E. coli*) 세포, 차이니즈 햄스터 난소 세포, 원숭이 VERO 세포, COS 세포, HEK293 세포 등을 포함한다. 재조합 발현 벡터를 증식하거나 복제하기 위해서, 숙주 세포는 바람직하게는 원핵 세포, 예를 들어, DH5 α 세포이다. 재조합 TCR, 폴리펩티드, 또는 단백질을 생산하기 위해서, 숙주 세포는 바람직하게는 포유동물 세포이다. 가장 바람직하게는, 숙주 세포는 인간 세포이다. 숙주 세포는 임의의 세포 유형일 수 있고, 임의 유형의 조직으로부터 유래할 수 있고, 임의의 발달 단계일 수 있지만, 숙주 세포는 바람직하게는 말초 혈액 백혈구(PBL) 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)이다. 보다 바람직하게는, 숙주 세포는 T 세포이다.

[0071] 본원에서 목적을 위해, T 세포는 임의의 T 세포, 예를 들어, 배양된 T 세포 예를 들어 1차 T 세포, 또는 배양된 T 세포주로부터의 T 세포, 예를 들어 Jurkat, SupT1 등, 또는 포유동물로부터 얻은 T 세포일 수 있다. 포유동물로부터 얻은 경우, T 세포는 혈액, 골수, 림프절, 흉선, 또는 그 밖의 조직 또는 체액을 포함한 수많은 공급원으로부터 얻을 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 또한, T 세포는 증식되거나 정제될 수 있다. 바람직하게는, T 세포는 인간 T 세포이다. 보다 바람직하게는, T 세포는 인간으로부터 단리된 T 세포이다. T 세포는 임의 유형의 T 세포일 수 있고, 임의의 발달 단계에 있을 수 있으며, CD4 $^+$ /CD8 $^+$ 이중 양성 T 세포, CD4 $^+$ 보조 T 세포, 예를 들어, Th₁ 및 Th₂ 세포, CD4+ T 세포, CD8 $^+$ T 세포(예를 들어, 세포 독성 T 세포), 종양 침윤 림프구(TIL), 기억 T 세포(예를 들어, 중앙 기억 T 세포 및 효과기 기억 T 세포), 미접촉 T 세포 등을 포함하나 이에 제한되지 않

는다.

[0072] 또한, 본 발명은 본원에서 기재된 하나 이상의 숙주 세포를 포함하는 세포 집단을 제공한다. 세포 집단은 기재된 임의의 재조합 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포, 그 외에 하나 이상의 다른 세포, 예를 들어, 임의의 재조합 발현 벡터, 또는 T 세포 이외의 세포, 예를 들어, B 세포, 대식구, 호중구, 적혈구, 간세포, 내피세포, 근육 세포, 뇌세포 등을 포함하지 않는 숙주 세포(예를 들어, T 세포)를 포함하는 이종 집단일 수 있다. 대안적으로, 세포 집단은 실질적으로 동종의 집단일 수 있으며, 상기 집단은 주로 재조합 발현 벡터를 포함하는(예를 들어, 필수적으로 이루어진) 숙주 세포를 포함한다. 집단은 또한 세포의 클론 집단일 수 있으며, 상기 집단의 모든 세포는 재조합 발현 벡터를 포함하는 단일 숙주 세포의 클론이어서, 집단의 모든 세포는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 세포 집단은 본원에서 기재된 바와 같은 재조합 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함하는 클론 집단이다.

[0073] 본 발명은 또한 본원에서 기재된 임의의 TCR(또는 이의 기능적 변이체)의 기능적 부분에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 부분을 제공한다. 바람직하게는, 기능적 부분, 예를 들어 서열 번호 3 또는 13(α 쇄의 CDR1), 4 또는 14(α 쇄의 CDR2), 5, 15, 또는 29(α 쇄의 CDR3), 6 또는 16(β 쇄의 CDR1), 7 또는 17(β 쇄의 CDR2), 8, 18, 또는 30(β 쇄의 CDR3), 서열 번호 9, 19, 또는 31(α 쇄의 가변 영역), 서열 번호 10, 20, 또는 32(β 쇄의 가변 영역), 또는 그들의 조합, 예를 들어, 3-5, 6-8, 3-8, 13-15, 16-18, 13-18, 3-4 및 29, 6-7 및 30, 3-4, 29, 및 6-8, 또는 3-7 및 30, 3-4, 29, 6-7, 및 30의 아미노산을 포함하는 기능적 부분은 암 항원에 특이적으로 결합한다. 보다 바람직하게는, 기능적 부분은 서열 번호 3-8 또는 서열 번호 3-4, 29, 및 6-8의 아미노산 서열을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 항체, 또는 이의 항원 결합 부분은 6개의 모든 CDR(알파 쇄의 CDR1-3 베타 쇄의 CDR1-3)에 의해서 형성되는 에피토프에 결합한다. 항체는 당 업계에 공지된 임의 유형의 면역글로불린일 수 있다. 예를 들어, 항체는 동종형, 예를 들어, IgA, IgD, IgE, IgG, IgM 등일 수 있다. 항체는 단클론 또는 다클론일 수 있다. 항체는 자연 발생 항체, 예를 들어 포유동물, 예를 들어 마우스, 토끼, 염소, 말, 닭, 햄스터, 인간 등으로부터 단리된 및/또는 정제된 항체일 수 있다. 대안적으로, 항체는 유전적으로 조작된 항체, 예를 들어 인간화 항체 또는 키메라 항체일 수 있다. 항체는 단량체 또는 중합체 형태일 수 있다. 또한, 항체는 본 발명의 TCR(또는 이의 기능적 변이체)의 기능적 부분에 대해 어느 수준의 친화도 또는 결합력을 가질 수 있다. 바람직하게는, 항체는 본 발명의 TCR(또는 이의 기능적 변이체)의 기능적 부분에 대해 특이적이어서, 다른 웨티드 또는 단백질과 최소한의 교차 반응만이 존재한다.

[0074] 본 발명의 TCR의 임의의 기능적 부분 또는 기능적 변이체에 결합하는 능력에 대해 항체를 시험하는 방법은 당 업계에 공지되어 있으며, 임의의 항체-항원 결합 분석법, 예를 들어, 방사성면역측정법(RIA), ELISA, 웨스턴 블로트, 면역침전법 및 경쟁적 저해 분석법을 포함한다(예를 들어, 하기 문헌(Janeway et al.) 및 미국 특허 출원 공보 제2002/0197266 A1호 참조).

[0075] 항체를 제조하는 적합한 방법은 당 업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 표준 하이브리도마 방법은 문헌(Kohler and Milstein, *Eur. J. Immunol.*, 5, 511-519 (1976), Harlow and Lane (eds.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, CSH Press (1988), and C.A. Janeway et al. (eds.), *Immunobiology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York, NY (2001))에 기재되어 있다. 대안적으로, 다른 방법, 예를 들어 EBV-하이브리도마 방법(Haskard and Archer, *J. Immunol. Methods*, 74(2), 361-67 (1984), and Roder et al., *Methods Enzymol.*, 121, 140-67 (1986)), 및 박테리오파아지 벡터 발현 시스템(예를 들어, 문헌(Huse et al., *Science*, 246, 1275-81 (1989) 참조)은 당 업계에 공지되어 있다. 또한, 비인간 동물에서 항체를 생산하는 방법은 예를 들어, 미국 특허 제5,545,806호, 제5,569,825호 및 제5,714,352호, 및 미국 특허 출원 공보 제2002/0197266 A1호에 기재되어 있다.

[0076] 또한, 과지 디스플레이가 본 발명의 항체를 생산하는데 사용될 수 있다. 이와 관련하여, 항체의 항원 결합 가변(V) 도메인을 코딩하는 과지 라이브러리는 표준 문자 생물학 및 재조합 DNA 기술(예를 들어, 문헌(Sambrook et al. (eds.), *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3rd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001))참조)을 이용하여 만들어질 수 있다. 원하는 특이성을 갖는 가변 영역을 코딩하는 과지는 원하는 항원에 대한 특이적 결합에 대해 선별되고, 선별된 가변 도메인을 포함하는 완전 또는 부분 항체가 재구성된다. 재구성된 항체를 코딩하는 핵산 서열은 적합한 세포주, 예를 들어 하이브리도마 생산을 위해 사용되는 골수종 세포에 도입되어, 단클론 항체의 특징을 갖는 항체가 세포에 의해 분비된다(예를 들어, 상기 문헌(Janeway et al., Huse et al.) 및 미국특허 제6,265,150호 참조).

[0077] 항체는 특이적 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉한 트랜스제닉 마우스에 의해 생산된다. 상

기 방법은 당 업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 미국 특허 제5,545,806호 및 제5,569,825호 및 상기 문헌(Janeway et al.)에 기재되어 있다.

[0078] 인간화 항체를 생산하는 방법은 당 업계에 잘 공지되어 있으며, 예를 들어 상기 문헌(Janeway et al.), 미국 특허 제5,225,539호, 제5,585,089호 및 제5,693,761호, 유럽 특허 제239400 B1호, 및 영국 특허 제2188638호에 상세하게 기재되어 있다. 또한, 인간화 항체는 예를 들어 미국 특허 제5,639,641호 및 문헌(Pedersen et al., *J. Mol. Biol.*, 235, 959-973 (1994))에 개시된 항체 리서파싱(resurfacing) 기술을 이용하여 생산될 수 있다.

[0079] 본 발명은 또한 본원에서 기재된 임의의 항체의 항원 결합 부분을 제공한다. 항원 결합 부분은 하나 이상의 항원 결합 부위, 예를 들어 Fab, F(ab')₂, dsFv, sFv, 디아바디, 및 트리아바디를 갖는 어떤 부분일 수 있다.

[0080] 합성 웨პ티드에 의해 항체 경쇄의 가변(V) 도메인에 연결된 항체 중쇄의 V 도메인을 포함하는 끝이 절단된 Fab 단편으로 이루어진 단쇄 가변 영역 단편(sFv) 항체 단편은 통상의 재조합 DNA 기술을 이용하여 만들어질 수 있다(예를 들어, 상기 문헌(Janeway et al.) 참조). 유사하게, 디설피드 안정화된 가변 영역 단편(dsFv)은 재조합 DNA 기술에 의해 제조될 수 있다(예를 들어, 문헌(Reiter et al., *Protein Engineering*, 7, 697-704 (1994)). 그러나 본 발명의 항체 단편은 상기 전형적인 유형의 항체 단편에 제한되는 것은 아니다.

[0081] 또한, 항체, 또는 이의 항원 결합 부분은 예를 들어, 방사성 동위 원소, 형광단(예를 들어, 플루오레신, 이소티오시아네이트(FITC), 피코에리트린(PE)), 효소(예를 들어, 알카리포스파타제, 겨자무 페옥시다아제), 및 원소입자(예를 들어, 금 입자)와 같은 검출가능한 표지를 포함하도록 변형될 수 있다.

[0082] 본 발명의 TCR, 폴리웨პ티드, 단백질(이의 기능적 변이체를 포함), 핵산, 재조합 밸현 벡터, 숙주 세포(이의 집단 포함), 및 항체(이의 항원 결합 부분 포함)은 단리되고/거나 정제될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "단리된"은 이의 천연 환경으로부터 제거되었다는 것을 의미한다. 본원에서 사용되는 "정제된"은 순도가 향상되었는 것을 의미한다. 여기서, "순도"는 상대적인 용어이고, 반드시 절대적인 순도로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 순도는 약 50% 이상일 수 있 수 있으며, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 초과될 수 있으며, 또는 100%일 수 있다.

[0083] 본 발명의 TCR, 폴리웨პ티드, 단백질(이의 기능적 변이체를 포함), 핵산, 재조합 밸현 벡터, 숙주 세포(이의 집단 포함), 및 항체(이의 항원 결합 부분 포함)는 전체를 총괄하여 이후로는 "본 발명의 TCR 물질"로 언급되며, 이들은 약학 조성물과 같은 조성물로 제제화될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명은 임의의 TCR, 폴리웨პ티드, 단백질, 기능적 부분, 기능적 변이체, 핵산, 밸현 벡터, 숙주 세포(이의 집단 포함), 및 항체(이의 항원 결합 부분 포함), 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 본 발명의 임의의 TCR 물질을 포함하는 본 발명의 약학 조성물은 하나보다 많은 본 발명의 TCR 물질, 예를 들어 폴리웨პ티드 및 핵산, 또는 둘 이상의 상이한 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함)을 포함할 수 있다. 대안적으로, 약학 조성물은 화학치료제와 같은 또 다른 약학적 활성 제제 또는 약물, 예를 들어, 아스파라기나제, 부설판, 카보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 켐시타민, 히드록시우레아, 메톡트렉세이트, 파클리탁센, 리툭시맙, 빈블라스틴, 빙크리스틴 등과 함께 본 발명의 TCR 물질을 포함할 수 있다.

[0084] 바람직하게는, 담체는 약학적으로 허용 가능한 담체이다. 약학 조성물과 관련하여, 담체는 고려중인 본 발명의 특정 TCR 물질에 통상적으로 사용되는 임의의 것일 수 있다. 이러한 약학적으로 허용 가능한 담체는 당업자에게 잘 공지되어 있으며 일반인에게 쉽게 이용 가능하다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 사용 조건하에서 유해한 부작용 또는 독성을 갖지 않는 것이 바람직하다.

[0085] 담체의 선택은 부분적으로 본 발명의 특정 TCR 물질, 및 본 발명의 TCR 물질을 투여하는데 사용되는 특정 방법에 의해 결정될 것이다. 따라서, 본 발명의 약학 조성물의 적합한 제형은 다양하다. 적합한 제형은 경구, 에어로졸, 비경구, 피하, 정맥내, 근육내, 동맥내, 경막내 또는 복강내 투여를 위한 것을 포함할 수 있다. 한 가지 이상의 경로를 사용하여 본 발명의 TCR 물질을 투여할 수 있으며, 어떤 경우에는 특정 경로가 또 다른 경로보다 더 즉각적이고 더 효과적인 반응을 제공할 수 있다.

[0086] 바람직하게는, 본 발명의 TCR 물질은 주사, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 본 발명의 TCR 물질이 본 발명의 TCR(또는 이의 기능적 변이체)을 발현하는 숙주 세포인 경우, 주사를 위한 세포의 약학적으로 허용 가능한 담체는 예를 들어 생리 식염수(약 0.90% w/v NaCl 수용액, 약 300 mOsm/L NaCl 수용액, 또는 물 1리터 당 약 9.0 g NaCl), 노르모졸 알(NORMOSOL R) 전해질 용액(Abbott, Chicago, IL), 플라즈마-라이트 에이(PLASMA-LYTE A)(Baxter, Deerfield, IL), 약 5% 텍스트로스 수용액, 또는 링거(Ringer's) 약테이트와 같은 등장성 담체를

포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 약학적으로 허용 가능한 담체는 인간 혈청 알부민이 보충된다.

[0087] 발명의 한 실시양태에서, 약학 조성물은 또한 MHC I형 제한된 TCR 또는 폴리펩티드, 또는 MHC I형 제한된 TCR을 코딩하는 단백질, 핵산, 또는 재조합 발현 벡터, 또는 MHC I형 제한된 TCR을 발현하는 숙주 세포 또는 세포 집단을 포함할 수 있다. 구체적인 이론에 얹매이지 않고서도, MHC I형 제한된 CD8+ T 세포는 MHC II형 제한된 CD4+ T 세포의 반응성을 증가시키고 MHC II형 제한된 CD4+ T 세포가 암을 치료 또는 예방하는 능력을 상승시키는 것으로 생각된다.

[0088] 본 발명을 위해서, 투여되는 본 발명의 TCR 물질의 양 또는 용량(예를 들어, 본 발명의 TCR 물질이 하나 이상의 세포일 때는 세포 수)은 적당한 기간 내에 피험체 또는 동물에서 예를 들어 치료적 또는 예방적 반응을 가져오기에 충분해야만 한다. 예를 들어, 본 발명의 TCR 물질의 용량은 투여 시간으로부터 약 2시간 이상, 예를 들어 12 내지 24 시간 이상의 기간 내에 암 항원에 결합하고, 암을 검출, 치료 또는 예방하기에 충분해야만 한다. 어떤 실시양태에서, 시간 간격은 훨씬 길어질 수 있다. 투여량은 본 발명의 특정 TCR 물질의 효능 및 동물(예를 들어, 인간)의 상태, 및 치료 받을 동물(예를 들어, 인간)의 체중에 의해 결정될 것이다.

[0089] 투여량을 결정하는 여러 가지 분석법은 당 업계에 공지되어 있다. 본 발명을 위하여, 각각 다른 용량의 T 세포가 주어진 한 세트의 포유동물 중 한 포유동물에게 본 발명의 TCR(또는 이의 기능적 변이체 또는 기능적 부분), 폴리펩티드, 또는 단백질을 발현하는 T 세포를 주어진 용량으로 투여시 표적 세포가 용해되거나, 상기 T 세포에 의해 분비되는 정도를 비교하는 단계를 포함하는 분석법은 포유동물에게 투여될 초기 용량을 결정하는데 이용될 수 있다. 특정 용량 투여 시 표적 세포가 용해되거나, IFN- γ 가 분비되는 정도는 당 업계에 공지된 방법에 의해 분석될 수 있다.

[0090] 또한, 본 발명의 TCR 물질의 용량은 본 발명의 특정 PCR 물질의 투여와 수반될 수 있는 부작용의 존재, 특성 및 정도에 의해서 결정될 것이다. 전형적으로, 담당 의사는 나이, 체중, 일반적인 건강, 식습관, 성별, 투여될 본 발명의 TCR 물질, 투여 경로, 및 치료될 병태의 중증도와 같은 다양한 인자를 고려하여 각각의 개별 환자를 치료할 본 발명의 TCR 물질의 투여량을 결정할 것이다. 본 발명의 TCR 물질이 세포 집단인 실시양태에서, 주입 당 투여되는 세포 수는 예를 들어, 약 1×10^6 내지 약 1×10^{11} 세포 또는 그 이상으로 달라질 수 있다.

[0091] 당업자는 본 발명의 TCR 물질의 치료적 또는 예방적 효능이 변형에 의해 향상될 수 있도록 본 발명의 TCR 물질이 많은 방법으로 변형될 수 있다는 것을 쉽게 인식할 것이다. 예를 들어, 본 발명의 TCR 물질은 표적화 부분에 가교를 통해 직접적으로 또는 간접적으로 접합될 수 있다. 화합물, 예를 들어 본 발명의 TCR 물질을 표적화 부분에 접합하는 방법은 당 업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌(Wadwa et al., *J. Drug Targeting* 3: 111 (1995)) 및 미국 특허 제5,087,616호를 참조한다. 본원에서 사용되는 용어 "표적화 부분(targeting moiety)"은 세포 표면 수용체를 특이적으로 인식하고 이에 결합하여 수용체가 표면에 발현되는 세포 집단에 본 발명의 TCR 물질의 전달을 지시하도록 하는 임의의 물질 또는 제제를 나타낸다. 표적화 부분은 항체, 또는 이의 단편, 웨프티드, 호르몬, 성장인자, 사이토카인, 세포 표면 수용체(예를 들어, 상피 성장 인자 수용체(EGFR), T 세포 수용체(TCR), B 세포 수용체(BCR), CD28, 혈소판 유래 성장 인자 수용체(PDGF), 니코틴 아세틸콜린 수용체(nAChR) 등)에 결합하는 그 밖의 모든 천연 또는 비천연 리간드를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본원에서 사용되는 용어 "가교"는 본 발명의 TCR 물질을 표적화 부분에 연결하는 어떤 제제 또는 문자를 나타낸다. 본 발명의 TCR 물질의 기능에 필수적이지 않은 TCR 물질 상의 부위는, 일단 본 발명의 TCR 물질에 부착된 가교 및/또는 표적화 부분이 본 발명의 TCR 물질의 기능, 즉 MAGE-A3 또는 MAGE-A6에 결합하는 능력, 또는 암을 검출, 치료 또는 예방하는 능력을 방해하지 않는다면, 가교 및/또는 표적화 부분을 부착하기에 이상적인 부위라는 것은 당업자에 의해 인식된다.

[0092] 본 발명의 약학 조성물, TCR(이의 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 또는 세포 집단이 암을 치료 또는 예방하는 방법에 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 구체적인 이론에 얹매이지 않고서도, 본 발명의 TCR(이의 기능적 변이체를 포함)은 MAGE-A3 및/또는 MAGE-A6에 특이적으로 결합하여, 세포에 의해 발현 시 TCR(또는 관련된 본 발명의 폴리펩티드 또는 단백질 및 이의 기능적 변이체)가 MAGE-A3 또는 MAGE-A6을 발현하는 표적 세포에 대한 면역 반응을 매개할 수 있을 것으로 생각된다. 이와 관련하여, 본 발명은 포유동물에서 암을 치료 또는 예방하는 방법으로서, 본원에서 기재된 임의의 약학조성물, TCR(및 이의 기능적 변이체), 폴리펩티드, 또는 단백질, 본원에서 기재된 임의의 TCR(및 이의 기능적 변이체), 폴리펩티드, 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 임의의 핵산 또는 재조합 발현 벡터, 또는 본원에서 기재된 임의의 TCR(및 이의 기능적 변이체), 폴리펩티드, 단백질을 코딩하는 재조합 벡터를 포함하는 임의의 숙주 세포 또는 세포 집단을 포유동물에서 암을 치료 또는 예방하기에 효과적인 양으로 포유동물에게 투여하는 단계

를 포함하는 방법을 제공한다.

[0093] 발명의 한 실시양태에서, 암을 치료 또는 예방하는 본 발명의 방법은 또한 MHC I형 제한된 TCR, 또는 폴리펩티드, 단백질, MHC I형 제한된 TCR을 코딩하는 핵산, 또는 재조합 발현 벡터, 또는 MHC I형 제한된 TCR을 발현하는 숙주 세포 또는 세포 집단을 포유동물에 동시 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0094] 본원에서 사용되는 용어 "치료" 및 "예방", 및 그로부터 생겨난 단어는 반드시 100% 또는 완전한 치료 또는 예방을 의미하는 것은 아니다. 오히려, 당업자가 잠재적인 이점 또는 치료 효과를 갖는 것으로 인식하는 치료 또는 예방의 다양한 정도가 존재한다. 이와 관련하여, 본 발명의 방법은 포유동물에서 어느 수준의 치료 또는 예방을 위한 임의의 양을 제공할 수 있다. 또한, 본 발명의 방법에 의해 제공되는 치료 또는 예방은 치료 또는 예방되어야 할 질병, 예를 들어, 암의 하나 이상의 형태 또는 증상의 치료 또는 예방을 포함할 수 있다. 또한, 본원에 사용되는 "예방"은 질병의 시작 또는 이의 증상 또는 형태를 지연시키는 것을 포함할 수 있다.

[0095] 또한, 포유동물에서 암의 존재를 검출하는 방법을 제공한다. 방법은 (i) 암 세포를 포함하는 샘플을 본원에서 기재된 본 발명의 임의의 TCR(이의 기능적 부분 및 기능적 변이체를 포함), 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 숙주 세포 집단, 또는 항체, 또는 이의 항원 결합 부분과 접촉시켜 복합체를 형성하는 단계, 및 (ii) 복합체의 존재를 검출하는 단계를 포함하며, 상기에서 복합체의 검출이 포유동물에서 암의 존재를 나타낸다.

[0096] 포유동물에서 암을 검출하는 본 발명의 방법과 관련하여, 암 세포의 샘플은 전세포, 이의 용해물, 전세포 용해물의 분획, 예를 들어 핵 또는 세포질 분획, 전체 단백질 분획, 또는 핵산 분획을 포함하는 샘플일 수 있다.

[0097] 본 발명의 검출 방법을 위해, 접촉 단계는 포유동물과 관련하여 시험관 내 또는 생체 내에서 일어날 수 있다. 바람직하게는, 접촉단계는 시험관 내에 있다.

[0098] 또한, 복합체는 당 업계에 공지된 여러 가지 방법을 통해 검출될 수 있다. 예를 들어 본원에서 기재된 본 발명의 TCR(및 이의 기능적 변이체), 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 세포 집단, 또는 항체, 또는 이의 항원 결합 부분은 예를 들어, 방사성 동위 원소, 형광단(예를 들어, 플루오레신, 이소티오시아네이트(FITC), 피코에리트린(PE)), 효소(예를 들어, 알카리포스파타제, 겨자무 페옥시다아제), 및 원소 입자(예를 들어, 금 입자)와 같은 검출 가능한 표지로 표지될 수 있다.

[0099] 본 발명의 방법을 위하여, 숙주 세포 또는 세포 집단이 투여되는 경우, 세포는 포유동물에 동종(allogeneic) 또는 자가(자기유래)(autologous) 세포일 수 있다. 바람직하게는, 세포는 포유동물에 자기유래이다.

[0100] 본 발명의 방법과 관련하여, 암은 육종(예를 들어, 활막 세포 육종, 골육종, 자궁 평활근 육종, 허파짜리 횡문근육종), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 및 비호지킨 림프종), 간세포암종, 신경교종, 두부암(예를 들어, 편평세포암종), 경부암(예를 들어, 편평세포암종), 급성 림프구암, 백혈병(예를 들어, 급성 골수성 백혈구 및 만성 림프성 백혈병), 골암, 뇌암, 유방암, 항문암, 항문관암, 항문직장암, 안암, 간내담관암, 관절암, 경부암, 담낭암, 흉막암, 비암, 비강암, 또는 중이암, 구강암, 외음암, 만성 골수암, 결장암(예를 들어, 결장암종), 식도암, 자궁암, 위암, 위장관 유암종, 하인두암, 후두암, 간암(예를 들어, 간세포암종), 폐암(예를 들어, 비소세포성 폐암종), 악성중피종, 흑색종, 다발성 골수종, 비인두암, 난소암, 췌장암, 복막암, 장막암 및 장간막암, 인두암, 전립선암, 직장암, 신장암(예를 들어, 신장세포암), 소장암, 연조직암, 위암, 고환암, 갑상선암, 및 요로상피세포암(예를 들어, 요관암, 방광암)을 포함한 모든 암일 수 있다. 바람직하게는, 암은 흑색종, 유방암, 폐암, 전립선암, 활막 세포 육종, 두경부암, 식도암, 또는 난소암이다.

[0101] 본 발명의 방법에서 나타낸 포유동물은 모든 포유동물일 수 있다. 본원에서 사용되는 "포유동물"은 마우스 및 햄스터와 같은 설치목의 포유동물, 및 토끼와 같은 중치목의 포유동물을 포함한 모든 포유동물을 나타내나, 이에 제한되지 않는다. 포유동물은 고양이과(고양이) 및 갯과(개)를 포함한 식육목이 바람직하다. 포유동물은 우파(소) 및 맷돼지과(돼지)를 포함한 우제목, 또는 말과(말)을 포함한 기제목이 보다 바람직하다. 포유동물은 영장목의 세보이드(Ceboid), 또는 사이모이드(Simoid)(원숭이), 또는 유인원목(인간 및 유인원)이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 포유동물은 인간이다.

[0102] 하기의 실시예는 또한 발명을 예시하나, 물론 어떤 경우에도 그 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

실시예 1A

[0104] 본 실시예는 T 세포 클론으로부터 TCR의 단리를 증명한다.

[0105] 항 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ CD4+ 효과기 클론 R12C9 및 항 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ Treg 클론 6F9는 펩티드(MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈)-펄스된 EBV B 세포와 배양하였다. 사이토카인 분비, 억제된 지시자(indicator) 세포의 백분율, FOXP3+ Treg 세포의 백분율, 및 메틸화되지 않은 FOXP3 서열의 백분율을 측정하였다. 메틸화되지 않은 FOXP3 인트론 1 서열은 안정적인 Treg 표현형을 위한 마커로 생각된다. 6F9 및 R12C9 클론에 대한 결과는 표 1A 및 1B에 나타내었다.

[0106] [표 1A]

클론	% 억제된 지시자 세포	% FOXP3+	% 메틸화되지 않은 FOXP3 서열
6F9	57	95	72
R12C9	0	8	2

[0107] [표 1B]

클론	사이토카인 분비(pg/25,000 세포)					
	IFN-γ	IL-2	IL-10	IL-4	IL-5	TNF-α
6F9	0	0	0	0	0	12
R12C9	922	46	479	8	28	422

[0108] Treg 클론은 적합한 펩티드에 의한 자극 후에 지시자 세포의 증식을 억제할 수 있다. 표 1A에 나타낸 바와 같이, 클론 6F9는 Treg 클론이다.

[0111] 서열 번호 21 및 22를 포함하는 TCR을 항-MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ CD4+ 효과기 클론 R12C9("R12C9 TCR")로부터 클로닝하였다. 서열 번호 11 및 12를 포함하는 TCR은 항-MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ Treg 클론 6F9("6F9 TCR")로부터 클로닝하였다.

실시예 1B

[0113] 본 실시예는 실시예 1의 6F9 TCR 또는 R12C9 TCR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열로 형질도입된 PBMC의 형질 도입 효능을 증명한다.

[0114] R12C9 및 6F9의 TCR 알파 및 베타 쇄를 코딩하는 전사체를 P2A 자가 절단 펩티드를 코딩하는 서열과 연결하고 MSGV1 레트로바이러스 벡터에 클로닝하였다. 세 명의 환자의 PBMC를 OKT3로 자극하고, 2일째에 일시적인 레트로바이러스 상청액으로 형질도입시키고, 7일째 CD4+ T 세포에 대해 증식시켰다. TCR 발현 수준을 항Vβ22 또는 Vβ6.7로 형질도입된 세포를 염색하여 평가하였다. 이것으로 6F9 또는 R12C9 TCR을 각각 검출하였다. 환자 1의 PBMC 분석은 T 세포의 25 내지 35%가 각각의 TCR로 형질도입되었다는 것을 나타내었으며, 환자 2 및 3의 PBMC에서 유사한 형질도입 수준을 얻었다.

실시예 2

[0116] 본 실시예는 실시예 1의 항-MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ TCR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열로 형질도입된 T 세포가 MAGE-A3 및 펩티드-펄스된 표적의 293-II형 주조직적합성 복합체 트랜스액티베이터(CIITA) 형질감염체를 인식한다는 것을 증명한다. 본 실시예는 또한 6F9 TCR이 MAGE-A3 및 MAGE-A6의 293-CIITA 형질감염체를 인식한다는 것을 증명한다.

[0117] 두 명의 인간 공여자의 CD4+ 증식된 말초 혈액 백혈구(PBL)는 형질도입되지 않거나(UT) F5(항-MART-1) TCR, R12C9 TCR, 또는 6F9 TCR로 형질도입되었다. 세포는 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈(서열 번호 2) 펩티드로 펄스된 293-CIITA-형질감염된 표적 세포와 배양하였다. 293-CIITA 세포는 CIITA로 형질도입된 293 세포이다. CIITA는 II형 주조직접합성 복합체 트랜스액티베이터 단백질을 코딩하는 인간 유전자이다. 6F9 및 R12C9 TCR-형질도입된 세포로 얻어진 결과는 표 2 및 도 10A에 나타낸다. R12C9 TCR 또는 6F9 TCR에 의해 형질도입된 PBL은 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ 펩티드-펄스된 HLA-DP*0401+ 표적 세포를 인식하였다. MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ 펩티드의 역가 측정은 6F9 또는 R12C9 TCR로 형질도입된 CD4⁺ T 세포가 0.001 내지 0.01 mg/ml의 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ 펩티드의 최소량으로 펄스된 표적에 반응하여 비교할만한 수준의 IFN-γ를 분비하였다는 것을 나타내었다. 제3 인간 공여자의 PBL을 이용하여 실험을 반복하여 유사한 결과를 얻었다.

표 2

공여자 1		IFN- 감마 (pg/ml)		
293-CIITA + MAGE-A3 ₂₄₃₋₂₅₈	DP4+	펩티드 (μ g/ml)	형질도입되지 않음 (UT)	6F9 TCR로 형질도입됨
		0.0001	2	328
		0.001	17	596
		0.01	4	1609
		0.1	2	7440
		1	4	34800
		10	0	52100

공여자 2		IFN - 감마 (pg/ml)		
293-CIITA + MAGE-A3 ₂₄₃₋₂₅₈	DP4+	펩티드 (μ g/ml)	형질도입되지 않음 (UT)	6F9 TCR로 형질도입됨
		0.0001	28	110
		0.001	30	323
		0.01	37	1830
		0.1	40	9760
		1	44	55000
		10	0	59050

[0118]

[0119] 293-CIITA 표적 세포는 전장의 MAGE-A3 단백질, 또는 단일 위치 (249)에서만 상이한 MAGE-A6 단백질, 또는 전장의 MAGE-A1 단백질 또는 MAGE-A12 단백질을 코딩하는 DNA 구조물(pCDNA3 벡터)로 형질감염시켰다. 형질도입되지 않은 PBL 및 형질도입된 PBL은 형질감염된 293-CIITA 세포와 공동 배양하고 인터페론(IFN) 감마 분비를 측정하였다. 결과는 도 1A, 1B, 및 10A에 나타낸다.

[0120]

도 1A, 1B, 및 10A에 나타낸 바와 같이, R12C9 TCR 또는 6F9 TCR로 형질도입된 T 세포는 펩티드-펄스된 표적을 인식하였지만, 6F9 TCR로 형질도입된 PBL은 MAGE-A3 및 MAGE-A6 293-CIITA 형질감염체 각각에 가장 높은 반응성을 보였다. 6F9 TCR로 형질도입된 CD4⁺ T 세포는 MAGE-A1 또는 A12를 제외하고 MAGE-A3 또는 MAGE-A6을 코딩하는 유전자로 형질감염된 HLA DP*0401⁺ 293-CIITA 세포를 인식하였으나, R12C9 TCR은 그러지 못하였다. MAGE 패밀리 일원의 해당 영역의 아미노산 서열 비교에서 MAGE-A3 및 MAGE-A6은 단지 한 위치(249번 잔기)에서 상이했지만, 다른 MAGE 패밀리 일원은 MAGE-A3와 두 개(MAGE-A12₂₄₃₋₂₅₈ (서열 번호 70)) 또는 세 개 (MAGE-A1₂₄₃₋₂₅₈ (서열 번호 71))의 위치에서 상이하였다는 것이 나타났다. 또한, 6F9 TCR로 형질도입된 CD4⁺ T 세포는 MAGE-A3⁺/HLA-DP*0401⁺ 흑색종 세포주 1359 mel-CIITA를 인식하였으나, MAGE-A3⁺/HLA-DP*0401⁻ 흑색종 세포주 624 mel-CIITA를 인식하지 못하였다. 그러나 R12C9 TCR는 그러지 못하였다. R12C9 TCR로 형질도입된 CD4⁺ T 세포는 시험된 흑색종 세포주 모두를 인식하지 못하였다. MART-1 반응성인 TCR DMF5로 형질도입된 세포는 형질감염된 293-CIITA 세포 또는 MAGE-A3₂₄₃₋₂₅₈ 펄스된 표적 세포를 인식하지 못하였으나, HLA-A*0201+ 및 MART-1+ 세포주 624 mel-CIITA를 인식하였다. 제3 인간 공여자의 PBL을 이용하여 실험을 반복하여 유사한 결과를 얻었다. 6F9 TCR은 면역 활성의 억제와 관련된 Treg 클론으로부터 얻었기 때문에, 6F9 TCR의 반응성은 놀랍고 예상치 못했던 것이다. 초기 결과는 6F9 또는 R12C9로 형질도입된 CD4⁺ T 세포가 펩티드 펄스된 표적 세포를 인식하였지만, 6F9 TCR로 형질도입된 세포만이 형질감염된 표적 세포뿐 아니라 MAGE-A3⁺ 및 HLA-DP*04⁺ 종양 세포를 인식하였다는 것을 나타내었다.

실시예 3

[0122]

본 실시예는 6F9-형질도입된 PBL이 HLA-DP4+ B 세포에 의해 프로세스되고 제시되는 MAGE-A3 전장 단백질에 대해

높은 반응성을 나타낸다는 것을 증명한다.

[0123]

두 명의 인간 공여자의 PBL은 형질도입되지 않았거나, 6F9 TCR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열로 형질도입되었다. 세포는 전장 MAGE-A3 단백질(서열 번호 1)을 프로세스하고 제시하는 HLA-DP4+ B 세포와 공동 배양하였다. 결과는 표 3 및 도 10A에 나타낸다. 표 3 및 도 10A에 나타낸 바와 같이, 6F9-형질도입된 PBL은 HLA-DP4+ B 세포에 의해 프로세스되고 제시되는 MAGE-A3 전장 단백질에 대해 높은 반응성을 나타내었다.

표 3

공여자1			IFN- γ (pg/ml)	
B 세포 + MAGE-A3 전장	DP4	MAGE-A3 (μ g/ml)	형질도입되지 않음 (UT)	6F9 TCR로 형질도입됨
B 세포 + NY-ESO-1 전장	+	10	360	23640
	+	1	420	12440
	+	0.1	358	2360
	+	0.01	362	580
	+	0.001	343	427
	+	0.0001	349	387
	+	0	343	405
	+	10	313	363
공여자 2			IFN- γ (pg/ml)	
B 세포 + MAGE-A3 전장	DP4	MAGE-A3 (μ g/ml)	형질도입되지 않음 (UT)	6F9 TCR로 형질도입됨
B 세포 + NY-ESO-1 전장	+	10	2080	63100
	+	1	1810	21270
	+	0.1	1382	3590
	+	0.01	1519	685
	+	0.001	1297	470
	+	0.0001	1568	542
	+	0	1351	404
	+	10	1549	530

[0124]

실시예 4

[0125]

본 실시예는 6F9 TCR-형질도입된 PBL이 MAGE-A3 단백질의 내인성 II형을 제시하는 종양주에 반응성을 갖는다는 것을 증명한다.

[0126]

두 명의 공여자의 PBL은 형질도입되지 않았거나, 6F9 TCR 또는 F5 TCR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열로 형질도입되었다. 세포는 단독(T 세포 단독) 배양되거나 624-CIITA 세포, 526-CIITA 세포, 또는 H1299-CIITA 세포(CIITA로 형질감염된 종양 세포주)와 공동 배양하였다. 결과는 표 4에 나타낸다. 표 4에 나타낸 바와 같이, 6F9 TCR-형질도입된 PBL은 MAGE-A3 단백질의 내인성 II형을 제시하는 종양주에 반응성을 보였다.

표 4

공여자 1			IFN- 감마 (pg/ml)		
	DP4	MAGE A3	형질도입되지 않음	F5로 형질도입됨	6F9로 형질도입됨
624-CIITA	-	+	223	1483	238
526-CIITA	+ (DP4 0401)	+	636	2360	1314
H1299-CIITA	+ (DP4 0401)	+	284	243	4330
T 세포 단독			131	45	112
공여자 2					
			IFN- 감마 (pg/ml)		
	DP4	MAGE A3	형질도입되지 않음	F5로 형질도입됨	6F9로 형질도입됨
624-CIITA	-	+	819	1435	153
526-CIITA	+	+	117	2530	1339
H1299-CIITA	+	+	147	172	3630
T 세포 단독			65	27	88

[0128]

실시예 5

본 실시예는 6F9 TCR이 MAGE-A3 특이적이라는 것을 증명한다.

[0131]

인간 공여자의 PBL은 CD4+ 증식되었으며, 세포 수는 27일째 빠르게 확장되었다. 세포는 형질도입되지 않거나, F5 TCR 또는 6F9 TCR로 형질도입하고, 526-CIITA 세포 또는 H1299-CIITA 세포 단독 또는 항-MAGE-A3 siRNA 또는 항-MART-1 siRNA와 공동 배양하였다. IFN-감마 분비를 측정하였다. 결과는 도 2A 및 2B에 나타낸다.

[0132]

도 2A 및 2B에 나타낸 바와 같이, 항-MAGE-A3 siRNA는 6F9-TCR 형질도입된 세포의 반응성을 감소시켰다. 따라서, siRNA 녹아웃 분석은 6F9 TCR이 MAGE-A3 특이적이라는 것을 확인해 주었다.

[0133]

실시예 6

본 실시예는 6F9 TCR이 HLA-DP 제한된 방식으로 MAGE-A3을 인식한다는 것을 증명한다.

[0135]

624, 526, 1359, H1299, 1300, 1764, 3071, 397, 2630, 및 2984 종양 세포주는 CIITA(624-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 1300-CIITA, 1764-CIITA, 3071-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 및 2984-CIITA)로 형질도입되었고, HLA-DP 발현은 유세포 분석법으로 측정되었다. DP4 및 MAGE-A3 발현은 표 5A에 나타낸다.

[0136]

[표 5A]

형질도입된 종양세포주	DP4	MAGE-A3
624-CIITA	-	+
1300-CIITA	-	+
3071-CIITA	0402	+
휘팅턴 -CIITA	0401	-
526-CIITA	0401	+
1359-CIITA	0401	+
H1299-CIITA	0401	+
397-CIITA	0401	+
2630-CIITA	0401	+
2984-CIITA	0401	+

[0137]

[0138]

6F9-형질도입된 PBL을 단독(T 세포 단독) 배양하거나 3071 세포, 3071-CIITA 세포, 397 세포, 397-CIITA 세포, 2630 세포, 2630-CIITA 세포, 2984 세포, 및 2984-CIITA 세포와 공동 배양하였다. IFN-감마 분비를 측정하였다. 결과는 도 3에 나타낸다. 도 3에 나타낸 바와 같이, 6F9-형질도입된 PBL은 CIITA-발현 종양 세포주에 반응성을 나타내었다.

[0139]

또한, 두 명의 환자 PBMC로부터 분리된 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포의 624-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, SK37-CIITA, 1764-CIITA, 3071-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 및 2984-CIITA를 포함하는 일단의 종양 세포주에 대한 반응성을 결정하여 6F9 TCR을 평가하였다. 비소세포성 폐암종 세포주 H1299 NSCLC-CIITA뿐 아니라 MAGE-A3 및 HLA-DP*0401(2630-CIITA, 397-CIITA, 2984-CIITA, 526-CIITA, 및 1359-CIITA)을 발현하는 5가지 흑색종 세포주는 형질도입된 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포에 의해 인식되었다. 그렇지만, CD4⁺ T 세포는 종양 표적에 반응하여 형질도입된 CD8⁺ T 세포에 비해 더 많은 양의 사이토카인을 분비하였다.

[0140]

H1299-CIITA 및 526-CIITA 세포는 항-HLA-DP 또는 항-HLA-DR siRNA로 형질감염시켜 HLA-DP 또는 HLA-DR 발현을 낙다운시켰다. 3071-CIITA 및 526-CIITA 세포는 항-HLA-DQ siRNA로 형질감염시켜 HLA-DQ 발현을 낙다운시켰다. HLA-DP, HLA-DR, 또는 HLA-DQ 낙아웃은 유세포 분석으로 확인하였다.

[0141]

인간 공여자의 PBL을 CD4+ 대해 중식시키고 30일째 세포 수를 빠르게 확장시켰다. 세포는 6F9 TCR로 형질도입되거나 형질도입되지 않았다. 세포는 단독(T 세포 단독)으로 배양하거나 처리되지 않은 H1299-CIITA 세포, 항-HLA-DP 또는 항-HLA-DR siRNA로 형질감염된 H1299-CIITA, 처리되지 않은 526-CIITA 세포, 또는 항-HLA-DP 또는 항-HLA-DR siRNA로 형질감염된 526-CIITA와 공동 배양하였다. IFN-감마 분비를 측정하였다. 결과는 도 4에 나타낸다. 도 4에 나타낸 바와 같이, 항-HLA-DP siRNA는 6F9-TCR 형질도입된 세포의 반응성을 감소시켰다.

[0142]

항체를 이용한 추가의 연구는 6F9 TCR이 HLA II형 제한된 방식으로 MAGE-A3을 인식한다는 것을 확인하였다. 6F9 TCR로 형질도입된 PBL은 표 5B에 개시된 세포와 공동 배양하고 표 5B에 개시된 항체로 차단하였다. IFN-감마를 측정하고 결과를 표 5B에 개시한다.

[0143]

[표 5B]

6F9 TCR-형질도입된 PBL과 공동 배양된 세포	차단에 사용된 항체	IFN-감마 (pg/ml)
MAGE-A3 유전자로 형질감염된 293-CIITA (DP4+)	W6/32 (α -HLA I 형)	>10,000
	HB22 (α -HLA DR 형)	>10,000
	IVA12 (α -HLA II 형)	902
MAGE-A3 단백질로 인큐베이션된 알렌 B 세포 (A2+ DP4+)	W6/32 (α -HLA I 형)	15038
	HB22 (α -HLA DR 형)	16599
	IVA12 (α -HLA II 형)	129
SK37 CIITA (A2+ DP4+ MAGE-A3+)	W6/32 (α -HLA I 형)	1965
	HB22 (α -HLA DR 형)	6248
	IVA12 (α -HLA II 형)	674
H1299 CIITA (A2- DP4+ MAGE-A3+)	W6/32 (α -HLA I 형)	2684
	HB22 (α -HLA DR 형)	7888
	IVA12 (α -HLA II 형)	0
1764 RCC CIITA (A2-DP4+ MAGE-A3-)	W6/32 (α -HLA I 형)	0
	HB22 (α -HLA DR 형)	0
	IVA12 (α -HLA II 형)	0

[0144]

[0145]

표 5B에 나타낸 바와 같이, 항체 차단 연구는 6F9 TCR이 HLA-DR-제한된 방식 또는 HLA I 형-제한된 방식이 아니라 HLA II 형-제한된 방식으로 MAGE-A3를 인식한다는 것을 나타내었다.

[0146]

실시예 7

[0147]

본 실시예는 6F9 TCR의 알파쇄 116 또는 117 위치에서 알라닌 치환이 6F9 TCR의 반응성을 증가시킨다는 것을 증명한다.

[0148]

6F9 TCR의 CDR3 영역에 다른 위치에서의 하나의 알라닌 치환을 각각 갖는 상이하게 치환된 8가지 TCR은 표 6에 개시한 바와 같이 제조하였다.

표 6

이름	설명	서열 번호
a1	알파 사슬의 116 위치에서 알라닌 치환 (S116A)	서열 번호 12 (야생형 (wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ala, 117에서 Xaa는 Ser, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a2	알파 사슬의 117 위치에서 알라닌 치환 (S117A)	서열 번호 12 (야생형 (wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ser, 117에서 Xaa는 Ala, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a3	알파 사슬의 118 위치에서 알라닌 치환 (G118A)	서열 번호 12 (야생형 (wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ser, 117에서 Xaa는 Ser, 118에서 Xaa는 Ala, 및 119에서 Xaa는 Thr
a4	알파 사슬의 119 위치에서 알라닌 치환 (T119A)	서열 번호 12 (야생형 (wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ser, 117에서 Xaa는 Ser, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
b1	베타 사슬의 115 위치에서 알라닌 치환 (R115A)	서열 번호 11 (야생형 (wt) 알파 사슬) 서열 번호 34, 여기에서 115에서 Xaa는 Ala, 116에서 Xaa는 Thr, 117에서 Xaa는 Gly, 및 118에서 Xaa는 Pro
b2	베타 사슬의 116 위치에서 알라닌 치환 (T116A)	서열 번호 11 (야생형 (wt) 알파 사슬) 서열 번호 34, 여기에서 115에서 Xaa는 Arg, 116에서 Xaa는 Ala, 117에서 Xaa는 Gly, 및 118에서 Xaa는 Pro
b3	베타 사슬의 117 위치에서 알라닌 치환 (G117A)	서열 번호 11 (야생형 (wt) 알파 사슬) 서열 번호 34, 여기에서 115에서 Xaa는 Arg, 116에서 Xaa는 Thr, 117에서 Xaa는 Ala, 및 118에서 Xaa는 Pro
b4	베타 사슬의 118 위치에서 알라닌 치환 (P118A)	서열 번호 11 (야생형 (wt) 알파 사슬) 서열 번호 34, 여기에서 115에서 Xaa는 Arg, 116에서 Xaa는 Thr, 117에서 Xaa는 Gly, 및 118에서 Xaa는 Ala

[0149]

[0150]

인간 공여자의 PBL은 형질도입되지 않거나 야생형(wt) 6F9 TCR 또는 표 6의 8가지 치환된 TCR 각각으로 형질도 입되었다. 세포는 단독(T 세포 단독)으로 배양하거나 624-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 또는 1764-CIITA와 공동 배양하였다. IFN-감마 분비를 측정하였다. 결과는 도 5에 개시한다. 도 5에 나타낸 바와 같이, a1 및 a2 치환된 TCR은 wt 6F9 TCR에 비해 증가된 반응성을 증명하였다.

[0151]

형질도입되고, CD4+ 증식된 PBL을 이용한 별개의 실험은 또한 a1 및 a2 치환된 TCR의 우수한 반응성을 확인해 주었다(도 6). 도 6에 나타낸 바와 같이, a1 및 a2 치환된 TCR은 wt 6F9 TCR에 비해 항종양 활성에 있어 대략 2 배의 증가를 보였다. 또한, a1 및 a2 치환된 TCR은 유세포 분석에 의해 측정된 바와 같이 wt 6F9 TCR에 비해 우수한 테트라머(서열 번호 2) 결합을 나타내었다.

[0152]

실시예 8

[0153]

본 실시예는 치환된 6F9 TCR의 반응성을 증명한다.

[0154]

6F9 TCR의 알파 쇄의 CDR3 영역에 각각 다른 위치에서의 하나의 아미노산치환을 각각 갖는 상이하게 치환된 8가

지 TCR은 표 7에 개시한 바와 같이 제조하였다.

표 7

이름	설명	서열 번호
a1-1	알파 사슬의 116 위치에서 류신 치환 (S116L)	서열 번호 12 (야생형(wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Leu, 117에서 Xaa는 Ser, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a1-2	알파 사슬의 116 위치에서 이소류신 치환 (S116I)	서열 번호 12 (야생형(wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ile, 117에서 Xaa는 Ser, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a1-3	알파 사슬의 116 위치에서 발린 치환 (S116V)	서열 번호 12 (야생형(wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Val, 117에서 Xaa는 Ser, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a1-4	알파 사슬의 116 위치에서 메티오닌 치환 (S116M)	서열 번호 12 (야생형(wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Met, 117에서 Xaa는 Ser, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a2-1	베타 사슬의 117 위치에서 류신 치환 (S117L)	서열 번호 12 (야생형(wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ser, 117에서 Xaa는 Leu, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a2-2	베타 사슬의 117 위치에서 이소류신 치환 (S117I)	서열 번호 12 (야생형(wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ser, 117에서 Xaa는 Ile, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a2-3	베타 사슬의 117 위치에서 발린 치환 (S117V)	서열 번호 12 (야생형(wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ser, 117에서 Xaa는 Val, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr
a2-4	베타 사슬의 117 위치에서 메티오닌 치환 (S117M)	서열 번호 12 (야생형(wt) 베타 사슬) 서열 번호 33 (치환된 알파 사슬), 여기에서 116에서 Xaa는 Ser, 117에서 Xaa는 Met, 118에서 Xaa는 Gly, 및 119에서 Xaa는 Thr

[0155]

인간 공여자의 PBL은 형질도입되지 않거나 야생형(wt) 6F9 TCR 또는 8가지 치환된 TCR 각각으로 형질도입되었다. 세포는 단독(T 세포 단독)으로 배양하거나 624-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 또는 1764-CIITA와 공동 배양하였다. IFN-감마 분비를 측정하였다. 결과는 도 7에 개시한다. 도 7에 나타낸 바와 같이, a1, a2, 및 a1-3 치환된 TCR은 CIITA-중양 세포주에 대한 반응성을 증명하였다.

[0157]

실시예 9

[0158]

본 실시예는 6F9 TCR의 고유의 불변 영역의 뮤린 불변 영역으로 치환은 6F9 TCR의 반응성을 증가시킨다는 것을 증명한다.

[0159]

wt 6F9 TCR의 α 및 β 쇄의 가변 영역 및 뮤린 불변 영역(6F9mC TCR)(서열 번호 27 및 28)을 포함하는 TCR을 제조하였다.

[0160]

6F9mC TCR은 유세포 분석에 의해 측정된 바와 같이 wt 6F9 TCR에 비해 더 우수한 MAGE-A3 테트라머 및 V β 염색

을 증명하였다. 구체적인 이론에 얹매이지 않고서도, 6F9mC TCR이 TCR α 및 β 쇄의 향상된 짹짓기를 제공하는 것으로 생각된다.

[0161] 인간 공여자의 PBL은 형질도입되지 않거나 6F9 TCR 또는 6F9mC TCR로 형질도입되었다. 세포는 단독(T 세포 단독)으로 배양하거나 624-CIITA, 1300-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 3071-CIITA, 또는 1764-CIITA 세포와 공동 배양하였다. IFN-감마 분비를 측정하였다. 결과는 도 8에 개시한다. 도 8에 나타낸 바와 같이, 6F9mC-형질도입된 세포는 wt 6F9 TCR-형질도입된 세포에 비해 항종양 활성을 있어 2 내지 5 배의 증가를 나타냈다.

[0162] 형질도입되지 않은 세포, 6F9 TCR-형질도입된 세포, 또는 6F9mC TCR-형질도입된 세포는 CD8 또는 CD4에 대해 증식시키고 단독(T 세포 단독)으로 배양하거나 624-CIITA, SK37-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 3071-CIITA, 또는 1764-CIITA 세포와 공동 배양하였다. 인터페론 감마 분비를 측정하였다. 결과는 도 9A 및 9B에 개시한다. 도 9A 및 9B에 나타낸 바와 같이, CD8 및 CD4 증식되고 6F9mC-형질도입된 세포는 6F9 TCR 형질도입된 세포에 비해 여러 세포주에 대해 더 높은 항종양 활성을 유지하였으며, 이것은 공수용체와 독립적으로 6F9mC TCR이 높은 친화도를 갖는다는 것을 나타낸다. 제2 인간 공여자의 PBL을 이용하여 실험을 반복하여 유사한 결과를 얻었다. 6F9mc TCR로 형질도입된 세포 반응과 야생형(Wt) 6F9 TCR로 형질도입된 CD4+ T 세포 반응의 비교는 뮤린 불변 영역이 평가된 7가지의 MAGE-A3⁺ 및 HLA-DP*0401⁺ 표적에 대한 형질도입된 T 세포의 반응에 있어 2 내지 5 배의 상승을 가져왔다는 것을 나타내었다. 또한, 6F9mc로 형질도입된 CD8⁺ T 세포의 반응은 wt 6F9 TCR로 형질도입된 세포에서 보였던 것보다 2 내지 10배 상승되었다. 일부 종양 표적에 대한 반응에서 비교할만한 사이토카인 반응이 관찰되었지만, 6F9mc로 형질도입된 CD8⁺ T 세포의 반응은 상기 TCR로 형질도입된 CD4⁺ T 세포보다 전반적으로 낮았다.

실시예 10

[0164] 본 실시예는 종양 자극시 6F9mC TCR-형질도입된 세포가 높은 수준의 IFN-감마 및 TNF-알파를 생산하고 매우 활성화된 표현형(4-1BB, CD25, 및 CD69 발현의 증가로 측정됨)을 나타낸다는 것을 증명한다.

[0165] 세포는 CD4 또는 CD8 증식되고 6F9mC TCR로 형질도입되었다. 형질도입된 세포는 종양주 624-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 또는 휘팅턴(Whittington)-CIITA로 6시간 동안 공동 배양한 후 세포 내 IFN-감마, 인터류킨(IL)-2, 또는 종양 괴사 인자(TNF)-α에 대해 염색하였다. 6F9mC TCR 형질도입된 세포는 종양 자극 시 특이적인 세포 내 IFN-감마 생산을 나타냈다. 6F9mC TCR 형질도입된 세포는 CD4-증식된 분획에서 종양 자극시 검출 가능한 IL-2 생산 및 특이적으로 높은 TNF-α 생산을 나타냈다.

[0166] 세포는 CD4 증식되고 6F9mC TCR로 형질도입되었다. 형질도입된 세포는 종양주 624-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 또는 휘팅턴-CIITA로 밤새 공동 배양한 후 4-1BB, CD25, 및 CD69에 대해 염색하였다. 밤새 종양 자극 후, 대부분의 6F9mC TCR-형질도입된 세포는 높은 수준의 4-1BB(항원-특이적 활성화를 나타냄), CD25, 및 CD69를 발현하였다.

실시예 11

[0168] 본 실시예는 6F9 TCR이 종양 세포 인식을 매개한다는 것을 증명한다.

[0169] PBL은 형질도입되지 않거나, 야생형 6F9 TCR로 형질도입되고, 단독(T 세포 단독)으로 배양되거나 비소세포성 폐암(NSCLC) 세포주 H11299 또는 흑색종 세포주 526 mel, 624 mel, 또는 1359 mel 세포와 공동 배양되었다. MAGE-A3 및 DP*04 발현은 표 8에 나타낸다.

표 8

세포주	MAGE-A3	DP*04
H11299 NSCLC	+	+
526 mel	+	+
624 mel	+	-
1359 mel	+	-

[0171] IFN-감마 발현을 측정하였다. 결과는 도 10B에 나타낸다. 도 10B에 나타낸 바와 같이, 6F9 TCR은 종양 세포 인

식을 매개한다.

[0172] 실시예 12

[0173] 본 실시예는 6F9 및 6F9mc TCR이 MAGE-A3_{:248-258} 웨티드에 대한 높은 정도의 특이성을 갖는다는 것을 증명한다.

[0174] 6F9 및 6F9mc TCR로 형질도입된 세포에 의해 매개된 항원 인식의 우수한 특이성을 평가하기 위하여, HLA-DP*0401⁺ 표적 세포를 끝이 절단된 MAGE-A3_{:243-258} 웨티드 또는 MAGE 패밀리 일원으로부터의 관련 웨티드로 펄스하였다. 음성 선별에 의해 두 명의 환자의 PBMC(PBMC-1 또는 PBMC-2)로부터 단리된 CD4+ T 세포는 6F9 TCR, 6F9mc TCR로 형질도입되거나, 또는 형질도입되지 않았으며, 표 9에 나타낸 웨티드 10 mg/ml로 펄스된 293-CIITA 세포에 대한 반응을 위해 OKT3 자극후 10일째 분석되었다.

[0175] 형질도입된 CD4⁺ PBMC의 두 배양물로부터 끝이 절단된 MAGE-A3 웨티드에 대한 반응의 분석은 MAGE-A3 단백질의 아미노산 248-258에 해당하는 11-mer 웨티드 QHVFQENYLEY(서열 번호 54)가 MAGE-A3_{:243-258} 웨티드에 의해 유발된 것에 비교할만한 반응을 유발한 최소한의 웨티드를 제시하였다는 것을 나타내었다(표 9). MAGE-A3_{:243-258} 웨티드는 에피토프 예측 알고리즘을 이용하여 HLA-DP*0401에 대한 높은 친화도를 갖도록 예측되었으며, 또한 끝이 절단된 MAGE-A3 웨티드의 인식은 T 세포 인식과 연관성이 있는 것으로 나타났다(표 9). 249 위치에서 히스티딘의 티로신으로의 단일 치환을 포함한 MAGE-A6_{:248-258} 웨티드에 대해 유의한 인식이 확인되었으나, MAGE-A3_{:248-258} 웨티드와 2 내지 5개의 차이를 갖는 유전자 산물의 MAGE 패밀리의 다른 일원에 대해서는 최소한의 반응성이 확인되었다. NCBI 데이터베이스의 BLAST 검색은 가장 근접하게 관련된 웨티드는 단백질 네크딘으로부터 유래된다는 것을 밝혔다. 또한, MAGE-A3_{:248-258} 웨티드와 5개가 다른 상기 웨티드는 6F9 또는 6F9mc TCR로 형질도입된 T 세포에 의해 인식되지 않았다. 이러한 발견은 MAGE-A3_{:248-258} 웨티드에 대한 높은 정도의 특이성을 가진다는 것을 나타내고, 상기 TCR로 형질도입된 T 세포는 또 다른 인간 단백질로부터 유래된 웨티드와 교차 반응성을 거의 또는 전혀 갖지 않을 수 있다는 것을 나타낸다.

표 9

	유전자(위치) 서열번호	아미노산 서열	PBMC-1 형질도입에 사용된 TCR			PBMC- 형질도입에 사용된 TCR		
			6F9 6F9mc	8F9 8F9mc	IFN-g (pg/ml)	6F9 6F9mc	8F9 8F9mc	예측포 트(%)
MAGE-A3:243-258	2	KKLLTQHFWQENYLEX	10,220	15,210	33	10,350	17,520	45
MAGE-A3:243-256	47	KKLLTQHFWQENYL	1,018	1,815	72	1,670	2,490	78
MAGE-A3:243-255	48	KKLLTQHFWQENY	76	137	29	111	117	71
MAGE-A3:243-254	49	KKLLTQHFWQEN	28	0	67	30	39	78
MAGE-A3:243-253	50	KKLLTQHFWQE	0	40	38	30	45	90
MAGE-A3:245-258	51	LLTOHFVQENYLEY	9,290	14,370	84	8,920	17,820	74
MAGE-A3:246-258	52	LIQHEVQENYLEY	7,140	12,700	56	9,200	16,170	76
MAGE-A3:247-258	53	TQHFVQENYLEY	6,710	10,600	30	6,810	13,280	41
MAGE-A3:248-258	54	QHFVQENYLEY	6,220	9,000	52	7,400	8,700	56
MAGE-A3:249-258	55	HFVQENYLEY	659	1,643	57	922	2,034	66
MAGE-A6:248-258	56	QYFYQENYLEY	6,440	11,800	54	13,200	8,370	127
MAGE-A2/A15:249-258	57	QDLVQENYLEY	33	66	49	37	56	65
MAGE-A4/A9:249-259	58	QDWVQENYLEY	0	23	32	22	26	62
MAGE-A8:251-261	59	QEWVQENYLEY	43	58	79	39	41	55
MAGE-A1/B4:241-251	60	QDLVQEKEYLEY	129	126	55	108	84	53
MAGE-B2:250-260	61	KDLVQEKEYLEY	0	0	43	7	20	38
MAGE-B10:250-260	62	KDLVKENYLEY	22	18	69	28	34	66
MAGE-B16:252-262	63	KDFEKKEYLEY	0	27	16	11	28	42
MAGE-C1:113-123	64	KVWVQEHLEY	9	0	30	25	27	30
MAGE-D1:300-315	65	RKLITIDDFVQKQKLDY	193	234	81	194	268	80
MAGE-D2:413-428	66	KHLITIDDFVQKQKLDY	82	43	56	226	223	71
MAGE-L2:582-597	67	KHLITIDDFVFRQKLDY	45	56	58	78	107	114
MAGE-G1:220-235	68	KHLITIDDFVRQRLEY	0	29	68	25	33	62
Necdin:237-247	69	EEFYQMVNLKY	0	22	59	21	32	83
펩티드 해석		0	5	58	15	25	59	59

[0176]

본원에서 인용된 간행물, 특히 출원 및 특허를 포함한 모든 참고 문헌은 각각의 참고가 참고로 포함된다는 것이 개별적으로 구체적으로 나타나고 본원에서 그 전문이 개시된 것과 같은 정도로 참고에 포함된다.

[0177]

발명을 기재하는 문맥(특히 하기 청구항의 문맥) 내에서 용어 하나의("a" 및 "an" 및 "the") "하나 이상" 및 유사한 지시어의 사용은 본원에서 지시되지 않거나 문맥에 명백하게 상충되지 않는다면 단수 및 복수 모두를 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 하나 이상의 항목을 열거에 이어 용어 "하나 이상"의 사용(예를 들어, "A 및 B 중 하나 이상")은 본원에서 지시되지 않거나 문맥에 명백하게 상충되지 않는다면 열거된 항목(A 또는 B) 또는 둘 이상의 열거된 항목의 조합(A 및 B)으로부터 선택된 한 항목을 의미하는 것으로 해석되어야 한다. 용어 "포함하는"("comprising," "including," 및 "containing") 또는 "갖는"("having,")은 그외 언급되지 않는다면 확장 가능한 용어(즉, "포함하나 제한되지 않는"을 의미함)로 해석되어야 한다. 본원에서 수치의 범위의 인용은 본원에서 지시되지 않는다면 범위 내에 해당하는 각각의 개별 수치를 개별적으로 나타내는 간단한 방법으로 역할을 하는 것으로 단지 의도되며, 각각의 개별 수치는 본원에서 개별적으로 인용된 것처럼 명세서에 포함된다.

발명을 기재하는 문맥(특히 하기 청구항의 문맥) 내에서 용어 하나의("a" 및 "an" 및 "the") "하나 이상" 및 유사한 지시어의 사용은 본원에서 지시되지 않거나 문맥에 명백하게 상충되지 않는다면 단수 및 복수 모두를 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 하나 이상의 항목을 열거에 이어 용어 "하나 이상"의 사용(예를 들어, "A 및 B 중 하나 이상")은 본원에서 지시되지 않거나 문맥에 명백하게 상충되지 않는다면 열거된 항목(A 또는 B) 또는 둘 이상의 열거된 항목의 조합(A 및 B)으로부터 선택된 한 항목을 의미하는 것으로 해석되어야 한다. 용어 "포함하는"("comprising," "including," 및 "containing") 또는 "갖는"("having,")은 그외 언급되지 않는다면 확장 가능한 용어(즉, "포함하나 제한되지 않는"을 의미함)로 해석되어야 한다. 본원에서 수치의 범위의 인용은 본원에서 지시되지 않는다면 범위 내에 해당하는 각각의 개별 수치를 개별적으로 나타내는 간단한 방법으로 역할을 하는 것으로 단지 의도되며, 각각의 개별 수치는 본원에서 개별적으로 인용된 것처럼 명세서에 포함된다.

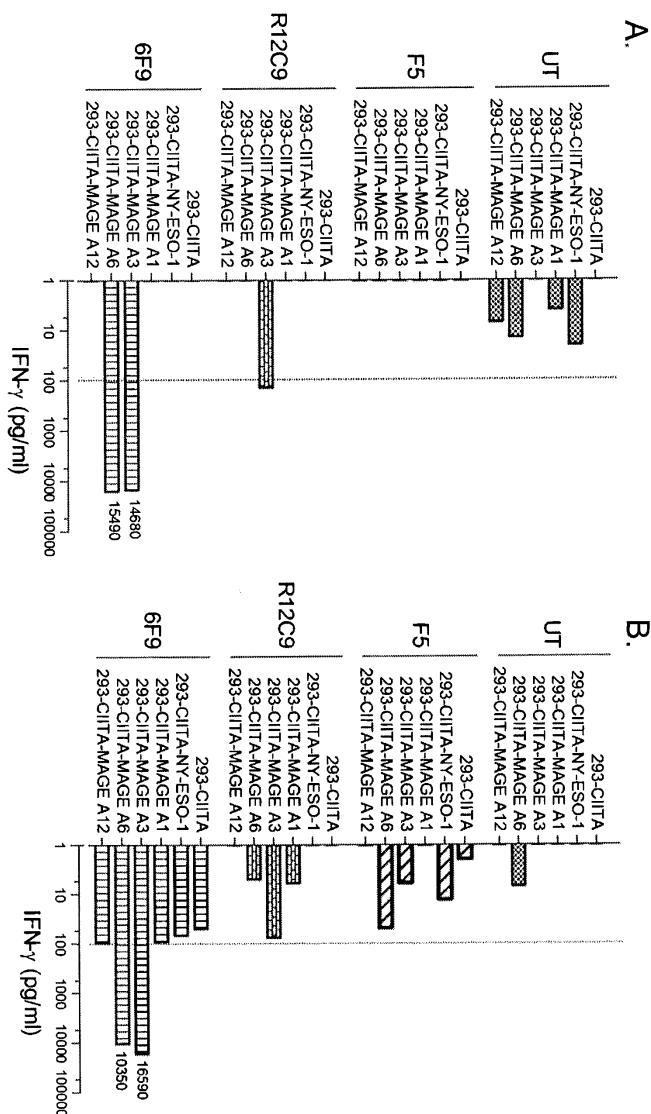
본원에서 기재된 모든 방법은 본원에서 지시되지 않거나 문맥에 명백하게 상충되지 않는다면 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에서 제공된 임의의 및 모든 예 또는 전형적인 표현(예를 들어, "와 같은"("such as"))은 단지 발명을 보다 분명하고자 하는 것이며 청구되지 않는다면 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다. 명세서 내에 언급되지 않은 것은 미청구된 요소가 발명의 실시에 필수적임을 나타내는 것으로 해석되어야 한다.

[0179]

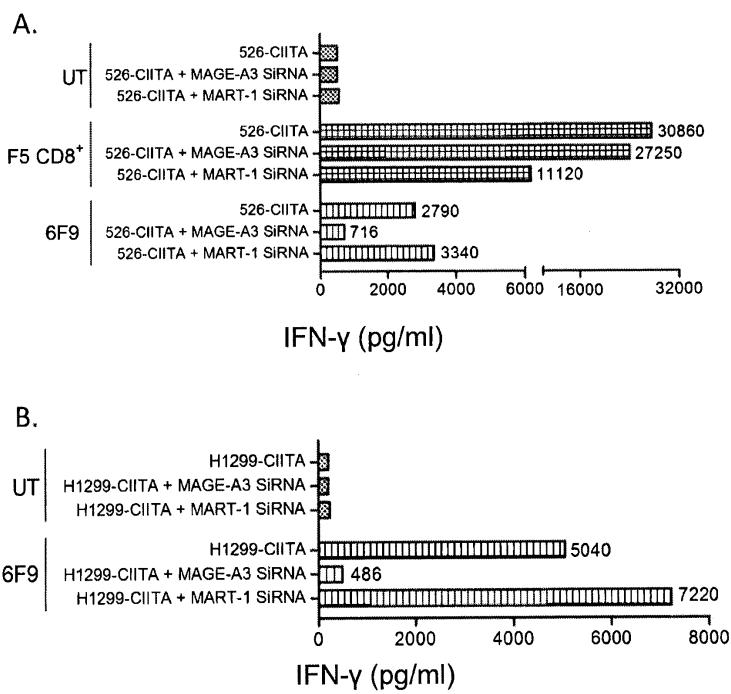
발명을 실시하기 위해 발명자들에게 공지된 최상의 방법을 포함하여 본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 기재되어 있다. 상기 기재 내용을 이해할 때, 바람직한 실시양태의 변형은 당업자에게 명백할 수 있다. 본 발명자들은 숙련된 기술자들이 상기 변형을 적절하게 이용하기를 기대하고, 본 발명자들은 발명이 본원에서 구체적으로 기재된 것 이외로 실행될 것으로 생각한다. 따라서, 본 발명은 여기에 첨부된 청구항에서 인용된 주제의 모든 변형 및 등가물을 적용법에 의해 허용되는 만큼 포함한다. 또한, 본원에서 지시되지 않거나 문맥에 명백하게 상충되지 않는다면 상기에 기재된 요소의 이의 모든 가능한 변형 안에서의 임의의 조합은 본 발명에 포함된다.

도면

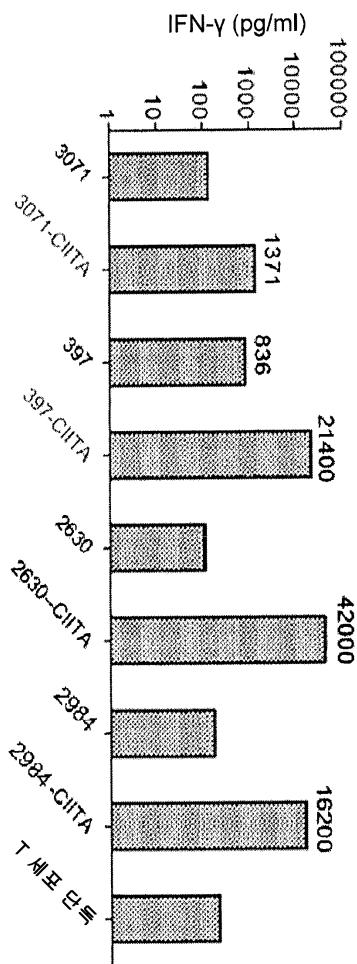
도면1



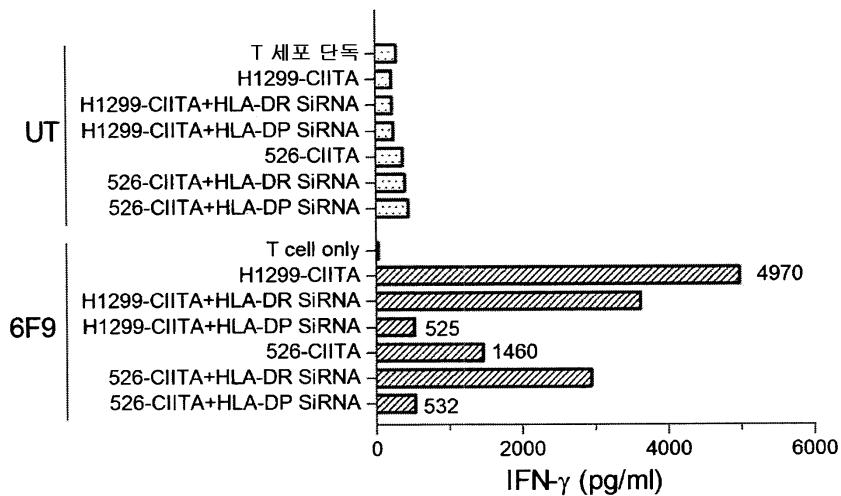
도면2



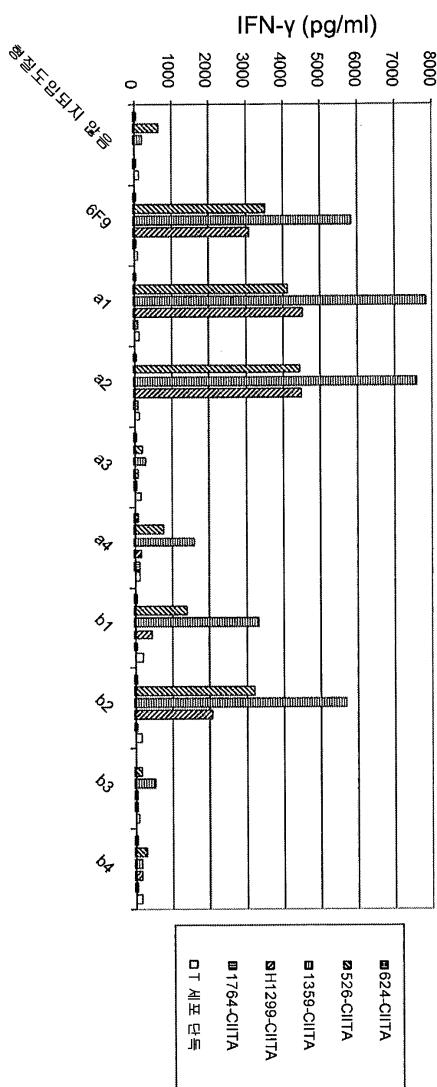
도면3



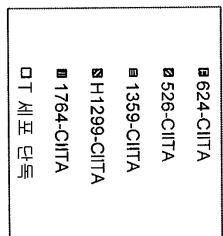
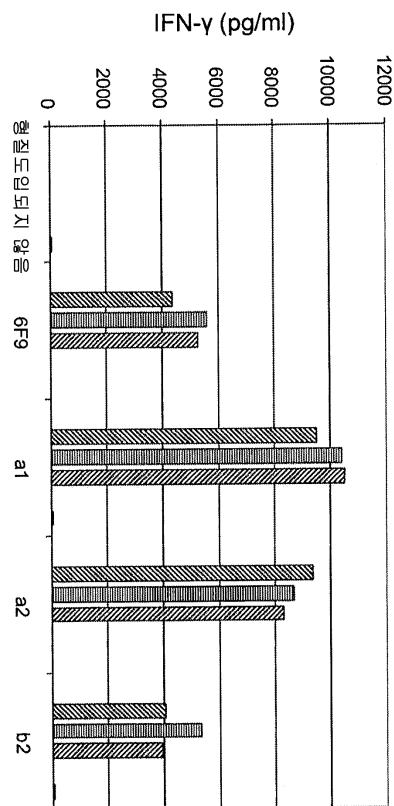
도면4



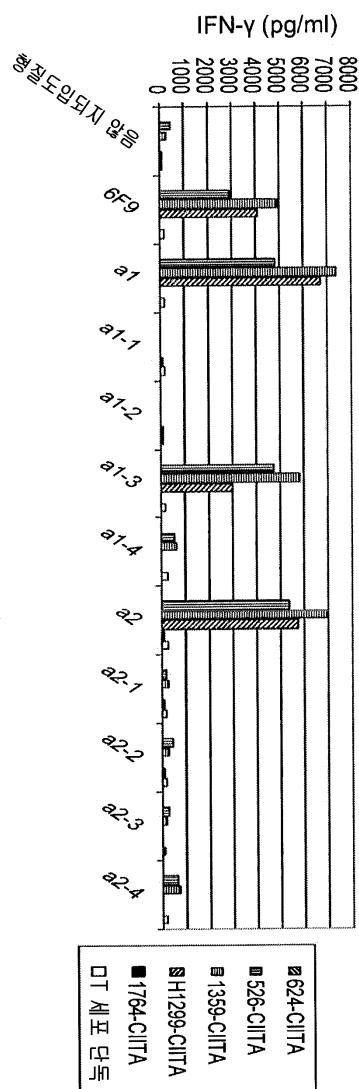
도면5



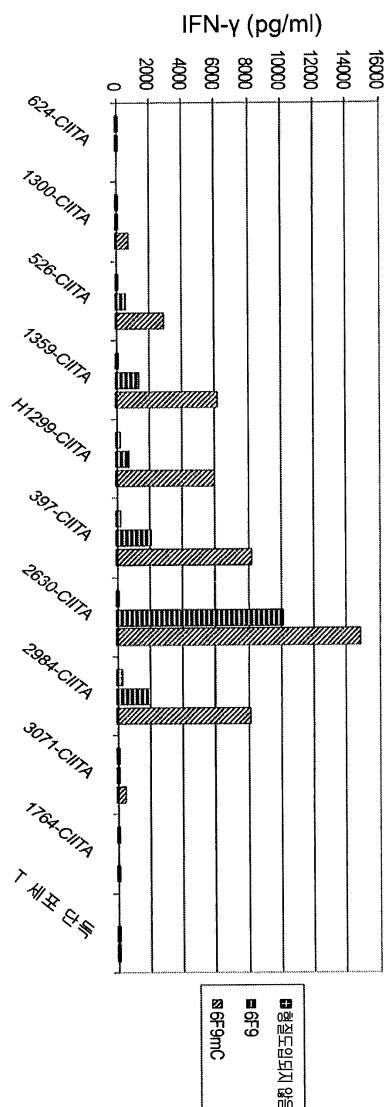
도면6



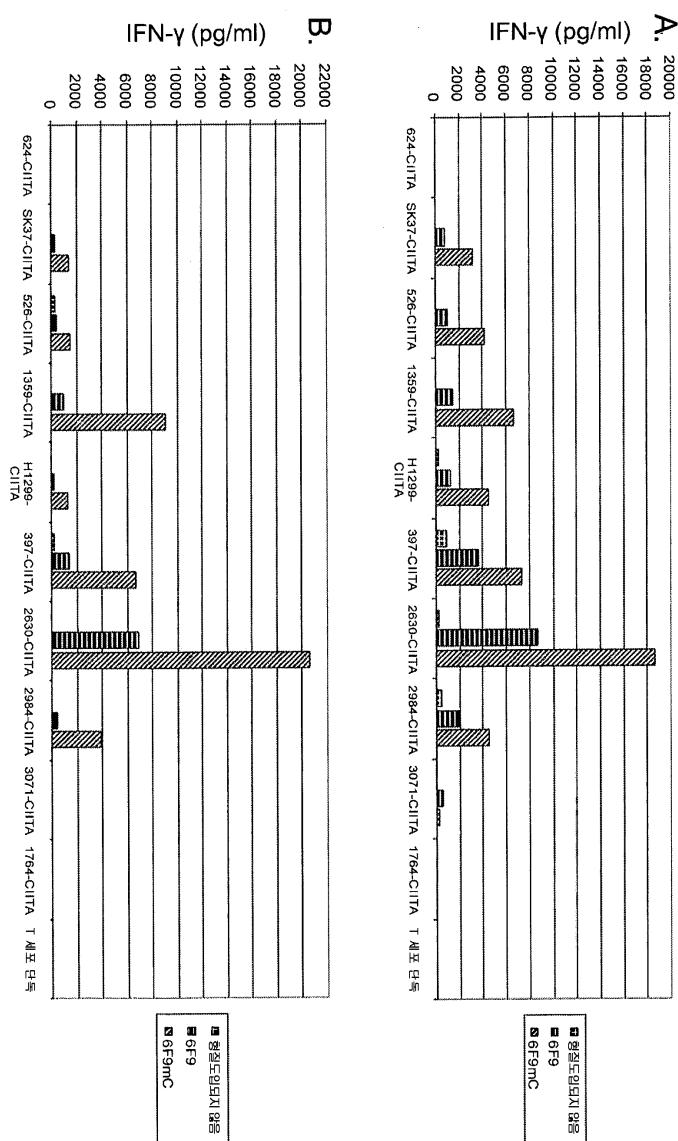
도면7



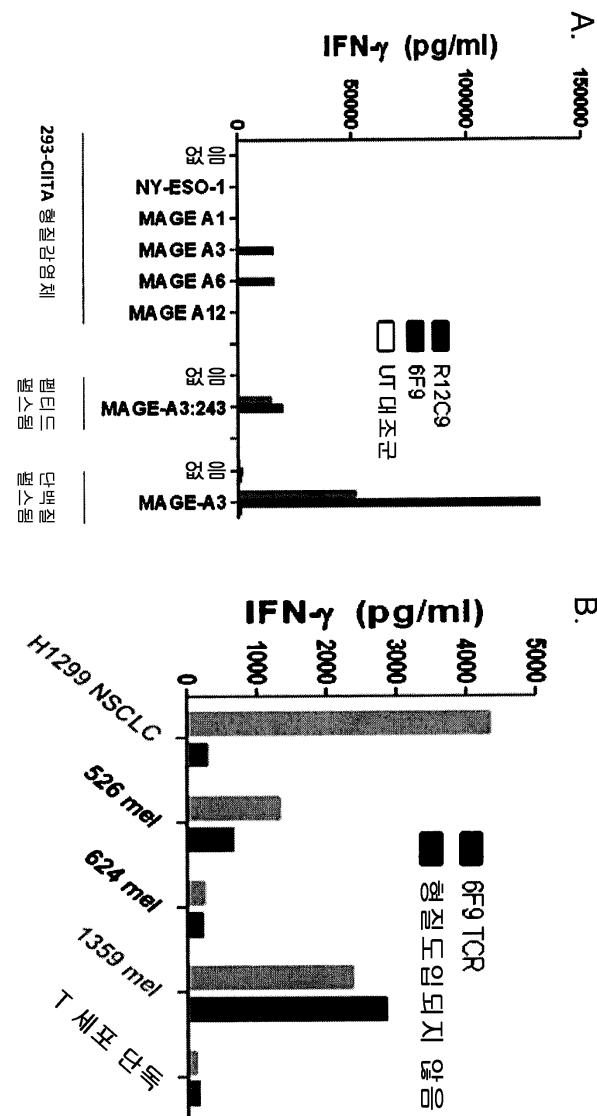
도면8



도면9



도면10



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE
SECRETARY, DEPARTMENT OF HELATH AND HUMAN SERVICES

- <120> T CELL RECEPTORS RECOGNIZING MHC CLASS II-RESTRICTED MAGE-A3
<130> 719663
<150> PCT/US2013/059608
<151> 2013-09-13
<150> US 61/701,056
<151> 2012-09-14
<160> 71

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 314

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

Glu Ala Arg Gly Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Ala

20	25	30
----	----	----

Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val

35	40	45
----	----	----

Thr Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro Gln Ser

50	55	60
----	----	----

Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp

65	70	75	80
----	----	----	----

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Gly Pro Ser

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys

100	105	110
-----	-----	-----

Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu

115	120	125
-----	-----	-----

Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln

130	135	140
-----	-----	-----

Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr

165	170	175
-----	-----	-----

Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp

180	185	190
-----	-----	-----

Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile

195

200

205

Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu

210

215

220

Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly

225 230 235 240

Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu

245

250

255

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

260

265

270

Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His

275

280

285

His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu

290

295

300

His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu

305

310

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1

5

10

15

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Thr Ser Glu Ser Asp Tyr Tyr

1

5

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln

1 5

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Leu Arg Ser Ser Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile

1 5 10

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Ser Gly His Thr Ala

1 5

<210> 7

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Phe Gln Gly Asn Ser Ala

1 5

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Ala Ser Ile Arg Thr Gly Pro Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 9

<211> 134

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

1 5 10 15

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser

20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr

65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser

85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys

100 105 110

Ala Leu Arg Ser Ser Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr

115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala

130

<210> 10

<211> 137

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<

<400> 10

Met Gly Thr Arg Leu Leu Phe Trp Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His

35 40 45

Thr Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Leu Glu Phe
 50 55 60

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

Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu
 130 135

<210> 11

<211> 275

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

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

Glu Ser Asp Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Arg Gln
 50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr
 65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys
 100 105 110

Ala Leu Arg Ser Ser Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr

115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr

130 135 140

Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr

145 150 155 160

Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val

165 170 175

Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys

180 185 190

Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala

195 200 205

Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser

210 215 220

Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr

225 230 235 240

Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile

245 250 255

Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu

260 265 270

Trp Ser Ser

275

<210> 12

<211> 313

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Gly Thr Arg Leu Leu Phe Trp Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His

35 40 45

Thr Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Leu Glu Phe
 50 55 60
 Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro
 65 70 75 80
 Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Thr Gly Gly Ser Val Ser Thr Leu

85 90 95

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

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

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

275 280 285

Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu

290 295 300

Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

305 310

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Thr Ser Glu Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln

1 5

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Ala Tyr Thr Val Pro Ser Asn Ala Gly Gly Thr Ser Tyr Gly Lys Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 16

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Ser Asn His Leu Tyr

1 5

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 17

Phe Tyr Asn Asn Glu Ile

1 5

<210> 18
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Ala Ser Ser Glu Arg Gly Gln Gly Tyr Gly Tyr Thr

1 5 10

<210> 19
<211> 140
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 19

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

1 5 10 15

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser
20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser

35 40 45

Glu Ser Asp Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Arg Gln
50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr
65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys

100	105	110
Ala Tyr Thr Val Pro Ser Asn Ala Gly Gly Thr Ser Tyr Gly Lys Leu		
115	120	125
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Ile Leu Thr Val His Pro		
130	135	140
<210> 20		
<211> 134		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 20		
Met Asp Thr Trp Leu Val Cys Trp Ala Ile Phe Ser Leu Leu Lys Ala		
1	5	10
Gly Leu Thr Glu Pro Glu Val Thr Gln Thr Pro Ser His Gln Val Thr		
20 25 30		
Gln Met Gly Gln Glu Val Ile Leu Arg Cys Val Pro Ile Ser Asn His		
35	40	45
Leu Tyr Phe Tyr Trp Tyr Arg Gln Ile Leu Gly Gln Lys Val Glu Phe		
50	55	60
Leu Val Ser Phe Tyr Asn Asn Glu Ile Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe		
65	70	75
Asp Asp Gln Phe Ser Val Glu Arg Pro Asp Gly Ser Asn Phe Thr Leu		
85 90 95		
Lys Ile Arg Ser Thr Lys Leu Glu Asp Ser Ala Met Tyr Phe Cys Ala		
100	105	110
Ser Ser Glu Arg Gly Gln Gly Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr		
115	120	125
Arg Leu Thr Val Val Glu		
130		
<210> 21		
<211> 281		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 21		

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

1 5 10 15

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser

20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr

65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser

85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys

100 105 110

Ala Tyr Thr Val Pro Ser Asn Ala Gly Gly Thr Ser Tyr Gly Lys Leu

115 120 125

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Ile Leu Thr Val His Pro Asn Ile Gln Asn

130 135 140

Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys

145 150 155 160

Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln

165 170 175

Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met

180 185 190

Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys

195 200 205

Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu

210 215 220

Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val

225 230 235 240

Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser

245	250	255
Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu		
260	265	270
Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
275	280	
<210> 22		
<211> 310		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 22		
Met Asp Thr Trp Leu Val Cys Trp Ala Ile Phe Ser Leu Leu Lys Ala		
1	5	10
Gly Leu Thr Glu Pro Glu Val Thr Gln Thr Pro Ser His Gln Val Thr		
20	25	30
Gln Met Gly Gln Glu Val Ile Leu Arg Cys Val Pro Ile Ser Asn His		
35	40	45
Leu Tyr Phe Tyr Trp Tyr Arg Gln Ile Leu Gly Gln Lys Val Glu Phe		
50	55	60
Leu Val Ser Phe Tyr Asn Asn Glu Ile Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe		
65	70	75
Asp Asp Gln Phe Ser Val Glu Arg Pro Asp Gly Ser Asn Phe Thr Leu		
85	90	95
Lys Ile Arg Ser Thr Lys Leu Glu Asp Ser Ala Met Tyr Phe Cys Ala		
100	105	110
Ser Ser Glu Arg Gly Gln Gly Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr		
115	120	125
Arg Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val		
130	135	140
Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala		
145	150	155
Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu		

165	170	175	
Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp			
180	185	190	
Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys			
195	200	205	
Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg			
210	215	220	
Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp			
225	230	235	240
Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala			
245	250	255	
Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln			
260	265	270	
Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys			
275	280	285	
Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met			
290	295	300	
Val Lys Arg Lys Asp Phe			
305	310		
<210> 23			
<211> 141			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 23			
Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys			
1	5	10	15
Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr			
20	25	30	
Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr			
35	40	45	
Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala			
50	55	60	

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
 65 70 75 80
 Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
 85 90 95
 Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
 100 105 110
 Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Lys Val Ala
 115 120 125
 Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 130 135 140
 <210> 24
 <211> 176
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 24
 Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser
 1 5 10 15

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

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

130	135	140
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val		
145	150	155
Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe		
165	170	175
<210> 25		
<211> 137		
<212> PRT		
<213> Mus musculus		
<400> 25		
Asn Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg		
1	5	10
Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile		
20	25	30
Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Thr		
35	40	45
Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala		
50	55	60
Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr		
65	70	75
Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr		
85	90	95
Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser		
100	105	110
Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu		
115	120	125
Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
130	135	
<210> 26		
<211> 172		
<212> PRT		
<213> Mus musculus		

<400> 26

Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser

1 5 10 15

Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala

20 25 30

Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly

35 40 45

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

50 55 60

Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr

65 70 75 80

Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His

85 90 95

Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val

100 105 110

Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile

115 120 125

Thr Ser Ala Ser Tyr His Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr

130 135 140

Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Gly

145 150 155 160

Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn Ser

165 170

<210> 27

<211> 271

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

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

1 5 10 15

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

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

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

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

260 265 270

<210> 28

<211> 309

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 28

Met Gly Thr Arg Leu Leu Phe Trp Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His

35	40	45
----	----	----

Thr Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Leu Glu Phe

50	55	60
----	----	----

Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Thr Gly Gly Ser Val Ser Thr Leu

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Ser Ile Arg Thr Gly Pro Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Phe Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro

130	135	140
-----	-----	-----

Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His

165	170	175
-----	-----	-----

Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val

180	185	190
-----	-----	-----

Ser Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu
 195 200 205
 Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn
 210 215 220
 His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys
 225 230 235 240
 Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu
 245 250 255
 Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr His Gln
 260 265 270
 Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala
 275 280 285
 Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Gly Leu Val Leu Met Ala Met Val
 290 295 300
 Lys Arg Lys Asn Ser
 305
 <210
 > 29
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(5)
 <223> X at 4 and 5 is Ser, Ala, Leu, Ile, Val, or Met
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X at 6 is Gly, Ala, Leu, Ile, Val, or Met
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X at 7 is Thr, Ala, Leu, Ile, Val, or Met
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X at 7 is Thr, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<400> 29

Ala Leu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Lys Tyr Ile

1 5 10

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X at 4 is Arg, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X at 5 is Thr, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X at 6 is Gly, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X at 7 is Pro, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<400> 30

Ala Ser Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 31

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (116)..(117)

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (116)..(117)

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (118)..(118)

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (119)..(119)

<400> 31

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

1 5 10 15

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser

20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr

65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser

85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys

100 105 110

Ala Leu Arg Xaa Xaa Xaa Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr

115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala

130

<210> 32

<211> 137

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (115)..(115)

<223> X at 115 is Arg, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (116)..(116)

<223> X at 116 is Thr, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (117)..(117)

<223> X at 117 is Gly, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (118)..(118)

<223> X at 118 is Pro, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<400> 32

Met Gly Thr Arg Leu Leu Phe Trp Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His

35	40	45
----	----	----

Thr Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Leu Glu Phe

50	55	60
----	----	----

Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Thr Gly Gly Ser Val Ser Thr Leu

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Ser Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Phe Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu

130	135
-----	-----

<210> 33

<211> 275

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (116)..(117)

<223> X at 116 and 117 is Ser, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (118)..(118)

<223> X at 118 is Gly, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (119)..(119)

<223> X at 119 is Thr, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<400> 33

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

1 5 10 15

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser

20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr

65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser

85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys

100 105 110

Ala Leu Arg Xaa Xaa Xaa Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr

115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr

130 135 140

Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr

145 150 155 160

Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val

165 170 175

Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys

180	185	190
Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala		
195	200	205
Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser		
210	215	220
Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr		
225	230	235
Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile		
245	250	255
Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu		
260	265	270

Trp Ser Ser

275

<210> 34

<211> 313

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (115)..(115)

<223> X at 115 is Arg, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (116)..(116)

<223> X at 116 is Thr, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (117)..(117)

<223> X at 117 is Gly, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (118)..(118)

<223> X at 118 is Pro, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<400> 34

Met Gly Thr Arg Leu Leu Phe Trp Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala

1	5	10	15
Asp His Thr Gly Ala Gly Val Ser Gln Ser Pro Ser Asn Lys Val Thr			
20	25	30	
Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His			
35	40	45	
Thr Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Leu Glu Phe			
50	55	60	
Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro			
65	70	75	80
Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Thr Gly Gly Ser Val Ser Thr Leu			
85	90	95	
Thr Ile Gln Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala			
100	105	110	
Ser Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Phe Gly			
115	120	125	
Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro			
130	135	140	
Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr			
145	150	155	160
Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His			
165	170	175	
Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val			
180	185	190	
Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser			
195	200	205	
Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln			
210	215	220	
Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser			
225	230	235	240
Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile			
245	250	255	

Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val
 260 265 270

Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu
 275 280 285

Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu
 290 295 300

Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe
 305 310

<210> 35

<211> 141

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
 20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr
 35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
 50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
 65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
 85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
 100 105 110

Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Lys Val Ala
 115 120 125

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 130 135 140

<210> 36

<211> 176

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser

1 5 10 15

Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala

20 25 30

Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly

35 40 45

Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu

50 55 60

Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg

65 70 75 80

Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln

85 90 95

Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg

100 105 110

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

115 120 125

Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala

130 135 140

Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val

145 150 155 160

Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

165 170 175

<210> 37

<211> 828

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 37

atggcatgcc ctggcttcgttggcactt gtgatctcca cctgttttga attagcatg 60

gctcagacag tcactcgatc tcaaccagag atgtctgtgc aggaggcaga gaccgtgacc	120
ctgagctgca catatgacac cagttagtatt tattctggta caagcagcc	180
cccagcagc agatgattct cgttattcgc caagaagctt ataagcaaca gaatgcaaca	240
gagaatcgaa tctctgtgaa ctccagaaa gcagccaat ctttcagtc caagatctca	300
gactcacagc tggggatgc cgcatgtat ttctgtgctc tccggagctc aggaacctac	360
aaatacatct ttgaaacagg caccaggctg aaggtttag caaatatcca gaaccctgac	420
cctgccgtt accagctgag agactctaa tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc	480
gatttgatt ctcaaacaaa tgtgtcacaa agtaaggatt ctgatgtgta tatcacagac	540
aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtgt ggcctggagc	600
aacaaatctg actttgcatt tgcaaacgccc ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc	660
ttctccccca gcccagaaag ttccctgtat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaaca	720
gatacgaacc taaaacttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatctt cctcctgaaa	780
gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg cggctgtggt ccagctga	828
<210> 38	
<211> 942	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 38	
atggcacca ggctccttctt ctgggtggcc ttctgtctcc tggggcaga tcacacagga	60
gctggagtct cccagtcggc cagtaacaag gtcacagaga agggaaagga tgttagagctc	120
aggtgtgatc caatttcagg tcatactgcc cttaactggtt accgacagag cctggggcag	180
ggcctggagt tttaatttca cttccaaaggc aacagtgcac cagacaaatc agggctgccc	240
agtgtatcgct tctctgcaga gaggactggg ggatccgtt ccactctgac gatccagcgc	300
acacagcagg aggactcgcc cgttatctc tggccagca tccggacagg gcctttttc	360
tctgaaaca ccatatattt tggagaggga agttggctca ctgttgtaga ggacctgaac	420
aagggtttcc cacccgaggt cgctgtgtt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	480
caaaaggcca cactgggtgt cctggccaca ggcttcttcc ctgaccacgt ggagctgagc	540
tgggggtga atggaaagga ggtgcacagt ggggtcagca cggaccgca gcccctcaag	600
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcctgagca gcccctgag ggtctggcc	660
accttctggc agaaccctcg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg	720
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacccgtca cccagatcgt cagcgccgag	780

gcctgggta gagcagactg tggcttacc tcgggtcct accagcaagg ggtccgtct	840
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgtgt gctggtcagc	900
gcccttgtt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga	942
<210> 39	
<211> 846	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 39	
atggcatgcc ctggcttcct gtggcactt gtgatctcca cctgtttga atttagcatg	60
gctcagacag tcactcagtc tcaaccagag atgtctgtgc aggaggcaga gaccgtgacc	120
ctgagctgca catatgacac cagttagatg gattattatt tattctggta caagcagcc	180
cccgaggc agatgattct cggttattcgc caagaagctt ataagcaaca gaatgcaaca	240
gagaatcgaa tctctgtgaa cttccagaaa gcagccaaat ctttcagtct caagatctca	300
gactcacagc tggggatgc cgcgatgtat ttctgtgctt acacggttcc ctctaattgt	360
gggtgtacta gctatggaaa gctgacattt ggacaaggaa ccatcttgac tgtccatcca	420
aatatccaga accctgaccc tgccgtgtac cagctgagag actctaaatc cagtgacaag	480
tctgtctgcc tattcaccga ttttgattct caaacaaatg tgtcacaag taaggattct	540
gatgtgtata tcacagacaa aactgtgcta gacatgaggt ctatggactt caagagcaac	600
agtgtgtgg cctggagcaa caaatctgac tttgcatgtg caaacgcctt caacaacagc	660
attattccag aagacacctt cttccccagc ccagaaagtt cctgtgtatg caagctggc	720
gagaaaagct ttgaaacaga tacgaaccta aactttcaaa acctgtcagt gattgggttc	780
cgaatccccc tcctgaaagt ggccgggttt aatctgctca tgacgctgct gctgtggcc	840
agctga	846
<210> 40	
<211> 933	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 40	
atggataacct ggctcgatg ctggcaatt ttttagtctt taaaaggcagg actcacagaa	60
cctgaagtca cccagactcc cagccatcg gtcacacaga tggacagga agtcatctt	120
cgctgtgtcc ccatctctaa tcacttatac ttctattgtt acagacaaat cttggggcag	180
aaagtcgagt ttctggtttc ctttataat aatgaaatct cagagaagtc taaaatattc	240

gatgatcaat tctcagttga aaggcctgtat ggtcaaaatt tcactctgaa gatccgggcc	300
acaaggctgg aggactcagc catgtacttc tgtgccagca gtgaaagggg acagggttat	360
ggctacacct tcggttcgaa gaccaggta accgttgttag aggacctgaa caagggttcc	420
ccacccgagg tcgctgtgtt tgagccatca gaagcagaga tctcccacac ccaaaaggcc	480
acactgggtgc gcctggccac aggcttcttc cccgaccacg tggagctgag ctgggggttg	540
aatgggaagg aggtgcacag tgggtcagc acagaccgc agccctcaa ggagcagccc	600
gccctcaatg actccagata ctgcctgagc agccgcctga gggctcggc cacctctgg	660
cagaaccccc gcaaccactt ccgctgtcaa gtccagttt acgggccttc ggagaatgac	720
gagtggaccc aggttagggc caaaccgtc acccagatcg tcagcggcga ggcctgggt	780
agagcagact gtggcttac ctgggtgtcc taccagcaag gggcctgtc tgccaccatc	840
ctctatgaga tcctgctagg gaaggccacc ctgtatgctg tgctggcag cgcccttg	900
ttgatggcca tggtaagag aaaggatttc tga	933
<210> 41	
<211> 816	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 41	
atggcatgcc ctggcttcgtt gtggcactt gtgatctcca cctgtcttga atttagcatg	60
gctcagacag tcactcagtc tcaaccagag atgtctgtgc aggaggcaga gaccgtgacc	120
ctgagctgca catatgacac cagttagtattt tattctggta caagcagcct	180
cccagcagggc agatgattct cgttattcgc caagaagctt ataagcaaca gaatgcaaca	240
gagaatcggtt tctctgtgaa cttccagaaa gcagccaaat ctttcgtctt caagatctca	300
gactcacagc tggtttatgc cgcgtatgtat ttctgtgtc tccggagctc aggaacctac	360
aaatacatct ttggaacagg caccaggctg aaggtttag caaatatcca gaaccctgaa	420
cctgctgtgtt accagttaaa agatcctcggt tctcaggaca gcaccctctg cctgttacc	480
gactttgact cccaaatcaa tgtgccgaaa accatggaat ctggaaacgtt catcactgac	540
aaaactgtgc tggacatgaa agctatggat tccaaagagca atggggccat tgcctggagc	600
aaccagacaa gttcacctg ccaagatata tcctaaagaga ccaacgccac ctacccagt	660
tctgacgttc cctgtgtatgc cacgttgact gagaaaagct ttgaaacaga tatgaaccta	720
aactttcaaa acctgtcagt tatggactc cgaatcctcc tgctgaaagt agccggattt	780

aacctgctca tgacgctgag gctgtggtcc agttga	816
<210> 42	
<211> 930	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 42	
atggcacca ggctccttt ctgggtggcc ttctgtctcc tggggcaga tcacacagga	60
gctggagtct cccagtcccc cagtaacaag gtcacagaga agggaaagga tgttagagctc	120
aggtgtgatc caattcagg tcatactgcc cttaactggt accgacagag cctggggcag	180
ggcctggagt ttttaattta cttccaaggc aacagtgcac cagacaaaatc agggctgccc	240
agtgtatcgct tctctgcaga gaggactggg ggatccgtct ccactctgac gatccagcgc	300
acacacggagg aggactcgcc cgttatctc tggccagca tccggacagg gccttttc	360
tctggaaaca ccatatattt tggagaggga agttggctca ctgttgtaga ggacctgaga	420
aacgtgaccc caccaaggt ctccctgtt gagccatcaa aagcagagat tgcaaacaaa	480
caaaaggcta ccctcgatgt cttggccagg ggcttcttcc ctgaccacgt ggagctgagc	540
tgggggtga atggcaagga ggtccacagt ggggtcagca cggaccctca ggcctacaag	600
gagagcaatt atagctactg cctgagcagc cgccctgaggg tctctgtac cttctggcac	660
aatccctgaa accacttcg cttccaaatgt cagttccatg ggcttcaga ggaggacaag	720
tggccagagg gtcacccaa acctgtcaca cagaacatca gtgcagaggc ctggggccga	780
gcagactgtg gaatcacttc agcatcctat catcaggggg ttctgtctgc aaccatcctc	840
tatgagatcc tactggggaa ggccacccta tatgctgtgc tggcagtgcc cctggtgctg	900
atggctatgg tcaaaagaaa gaactcatga	930
<210> 43	
<211> 828	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<220><221> misc_feature	
<222> (346)..(348)	
<223> nnn at 346-348 is AGC, GCC, or any codon that encodes Ser, Ala, Leu, Ile, Val, or Met	

<220><221> misc_feature

<222> (349)..(351)

<223> nnn at 349-351 is TCA, GCC, or any codon that encodes Ser, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (352)..(354)

<223> 352-354 is GGA, GCC, or any codon that encodes Gly, Ala, Leu,

Ile, Val, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (355)..(357)

<223> nnn at misc feature: nnn at 355-357 is ACC, GCC, or any codon that encodes Thr, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<400> 43

atggcatgcc ctggcttcct gtgggcactt gtgatctcca cctgtcttga atttagcatg	60
gctcagacag tcactcagtc tcaaccagag atgtctgtgc aggaggcaga gaccgtgacc	120
ctgagctgca catatgacac cagtgagagt gattattatt tattctggta caagcagcct	180
cccagcaggc agatgattct cgttattcgc caagaagctt ataagcaaca gaatgcaaca	240

gagaatcggt tctctgtgaa cttccagaaa gcagccaaat ctttcagttt ct caagatctca	300
gactcacagc tggtggatgc cgcatgtat ttctgtgtc tccggnnnnnnnnnnnnntac	360
aaatacatct ttggAACAGG caccaggctg aaggtttag caaatatcca gaaccctgac	420
cctggcgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc	480
gattttgatt ctcaaACAAA tgtgtcacaa agtaaggatt ctgatgtgta tatcacagac	540
aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtgtt ggcctggagc	600
aacaaatctg actttgcattt tgcaaacGCC ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc	660

ttctccccca gcccagaaaag ttctgtgtat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttggaaaca	720
gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct cctcctgaaa	780
gtggccgggt ttaatctgtt catgacgctg cggctgttgtt ccagctga	828

<210> 44

<211> 942

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (343)..(345)

<223> NNN at 343-345 is CGG, GCC, or any codon that encodes Arg, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (346)..(348)

<223> NNN at 346-348 is ACA, GCC, or any codon that encodes Thr, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (349)..(351)

<223> NNN at 349-351 is GGG, GCC, or any codon that encodes Gly, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<220><221> misc_feature

<222> (352)..(354)

<223> NNN at 352-354 is CCT, GCC, or any codon that encodes Pro, Ala, Leu, Ile, Val, or Met

<400> 44

atgggcacca ggctccctt ctgggtggcc ttctgtctcc tggggcaga tcacacagga	60
gctggagtct cccagtcccc cagtaacaag gtcacagaga agggaaagga tgttagagtc	120

agggtgtatc caattttagg tcataactgcc cttaactggg accgacagag cctggggcag	180
ggcctggagt tttaatttta cttccaaggc aacagtgcac cagacaaatc agggctgccc	240
agtgtatcgct tctctgcaga gaggactggg ggatccgtct ccactctgac gatccagcgc	300
acacagcagg aggactcgcc cgttatctc tgtgccagca tcnnnnnnnn nnnnttttc	360
tctgaaaca ccatatattt tggagaggga agttggctca ctgttgtaga ggacctgaac	420
aagggtttcc caccggaggt cgctgtttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	480
caaaaggcca cactgggttg cctggccaca ggcttcttcc ctgaccacgt ggagctgaggc	540

tgggggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cggaccgcga gccctcaag	600
gagcagcccg ccctaatgc ctccagatac tgcctgagca gccgcctgag ggtctcgccc	660
accttctggc agaaccggcg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggtctcg	720
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca cccagatcgt cagcgccgag	780
gcctgggtta gagcagactg tggcttacc tcgggtgtctt accagcaagg ggtcctgtct	840
gccaccatcc tctatgagat cctgcttaggg aaggccaccc tgtatgtgt gctggcagc	900

gcccttgtt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 942

<210> 45

<211> 314

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Pro Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu

1 5 10 15

Glu Ala Arg Gly Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Ala

20 25 30

Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val

35 40 45

Thr Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro Gln Ser

50 55 60

Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp

65 70 75 80

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Gly Pro Ser

85 90 95

Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys

100 105 110

Val Ala Lys Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu

115 120 125

Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln

130 135 140

Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Asp Ser Leu Gln Leu

145 150 155 160

Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Val Tyr

165 170 175

Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp

180 185 190

Asn Gln Ile Met Pro Lys Thr Gly Phe Leu Ile Ile Ile Leu Ala Ile

195	200	205
Ile Ala Lys Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu		
210	215	220
Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Phe Gly		
225	230	235
Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln Tyr Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu		240
245	250	255
Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu		
260	265	270
Trp Gly Pro Arg Ala Leu Ile Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His		
275	280	285
His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro Arg Ile Ser Tyr Pro Leu Leu		
290	295	300
His Glu Trp Ala Leu Arg Glu Gly Glu Glu		
305	310	

<210> 46			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 46			
Lys Lys Leu Leu Thr Gln Tyr Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr			
1	5	10	15
<210> 47			
<211> 14			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic			
<400> 47			
Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu			
1	5	10	
<210> 48			
<211> 13			
<212> PRT			

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 48

Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr

1 5 10

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 49

Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn

1 5 10

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 50

Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu

1 5 10

<210> 51

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 51

Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 52

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 52

Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 53

Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 55

His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 56

Gln Tyr Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

Gln Asp Leu Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 58

Gln Asp Trp Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 59

Gln Glu Trp Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

Gln Asp Leu Val Gln Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic

<400> 61

Lys Asp Leu Val Gln Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 62

Lys Asp Leu Val Lys Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 63

Lys Asp Phe Val Lys Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210

> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 64

Lys Val Trp Val Gln Glu His Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 65

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 65

Arg Lys Leu Ile Thr Asp Asp Phe Val Lys Gln Lys Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10 15

<210> 66

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 66

Lys Lys Leu Ile Thr Asp Glu Phe Val Lys Gln Lys Tyr Leu Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 67

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 67

Lys Lys Leu Ile Thr Glu Val Phe Val Arg Gln Lys Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10 15

<210> 68

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 68

Lys Lys Leu Ile Thr Glu Asp Phe Val Arg Gln Arg Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10 15

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 69

Glu Glu Phe Val Gln Met Asn Tyr Leu Lys Tyr

1 5 10

<210> 70

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 70

Lys Lys Leu Leu Thr Gln Asp Leu Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10 15

<210> 71

<211>

> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 71

Lys Lys Leu Leu Thr Gln Asp Leu Val Gln Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr

1 5 10 15