



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0037625
(43) 공개일자 2017년04월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C07K 14/725 (2006.01) A61K 31/7068 (2006.01) A61K 35/17 (2014.01) A61K 39/00 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01) C07K 14/705 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01) (52) CPC특허분류 C07K 14/7051 (2013.01) A61K 31/7068 (2013.01) (21) 출원번호 10-2017-7004392 (22) 출원일자(국제) 2015년07월21일 심사청구일자 없음 (85) 번역문제출일자 2017년02월16일 (86) 국제출원번호 PCT/US2015/041337 (87) 국제공개번호 WO 2016/014535 국제공개일자 2016년01월28일 (30) 우선권주장 PCT/CN2014/082602 2014년07월21일 중국(CN) PCT/CN2014/090500 2014년11월06일 중국(CN)	(71) 출원인 노파르티스 아게 스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35 더 트러스티스 오브 더 유니버시티 오브 펜실바니아 미국 19104 펜실바니아주 필라델피아 슈트 200 캐스트너스트리트 3160 (72) 발명자 브로그돈, 제니퍼 미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크. 에베르스바흐, 힐마르 스위스 체하-4002 바젤 포스트파흐 노바티스 파마아게 (뒷면에 계속) (74) 대리인 김영

전체 청구항 수 : 총 65 항

(54) 발명의 명칭 CLL-1 키메라 항원 수용체를 사용한 암의 치료

(57) 요약

본 발명은 CLL-1의 발현과 연관된 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 CLL-1에 특이적인 키메라 항원 수용체 (CAR), 그를 코딩하는 벡터, 및 CLL-1 CAR을 포함하는 재조합 세포에 관한 것이다. 본 발명은 또한 CLL-1 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 유전자 변형된 세포를 투여하는 방법을 포함한다.

(52) CPC특허분류

A61K 35/17 (2013.01)
A61K 39/0011 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
C07K 14/70578 (2013.01)
C07K 16/2851 (2013.01)
A61K 2039/5156 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2319/02 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)

(72) 발명자

길, 사

미국 19106 펜실베이니아주 필라델피아 아파트먼트 4에이 노스 3알디 스트리트 30

글라스, 데이비드

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 테크놀로지 스쿼어 100 노바티스 인스티튜트 바이오메디칼 리서치, 인크.

자스커, 줄리아

스위스 제하-4002 바젤 포스트파흐 노바티스 파마아게

켄더리안, 사드

미국 19146 펜실베이니아주 필라델피아 서전 제너럴스 코트 103

만닉, 조안

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 220 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크.

밀론, 마이클, 썸.

미국 08002 뉴저지주 체리 힐 서리 로드 314

머피, 레온

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크.

리차드슨, 셀레스테

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 220 노바티스 인스티튜트 포 바이오메디칼 리서치, 인크.

싱, 레시마

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜트 포 바이오메디칼 리서치, 인크.

웨이, 라이

중국 201203 상하이 장지앙 하이-테크 파크 레인 3728 진케 로드 엔오. 3 빌딩 차이나 노바티스 인스티튜트 포 바이오메디칼 리서치

우, 치룽

중국 201203 상하이 장지앙 하이-테크 파크 레인 898 하레이 로드 엔오. 8 빌딩 차이나 노바티스 인스티튜트 포 바이오메디칼 리서치

양, 치우메이

중국 201203 상하이 장지앙 하이-테크 파크 레인 898 하레이 로드 엔오. 8 빌딩 차이나 노바티스 인스티튜트 포 바이오메디칼 리서치

장, 지추안

중국 201203 상하이 장지앙 하이-테크 파크 레인 3728 진케 로드 엔오. 3 빌딩 차이나 노바티스 인스티튜트 포 바이오메디칼 리서치

명세서

청구범위

청구항 1

키메라 항원 수용체 (CAR)를 코딩하는 단리된 핵산 분자이며, 여기서 CAR은 인간 항-CLL-1 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 여기서 상기 항-CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항-CLL-1 결합 도메인이 표 2에 열거된 임의의 항-CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3)을 추가로 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3이 표 6, 8 또는 4에 열거된 LC CDR 서열인 단리된 핵산 분자.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3이 표 5, 7 또는 2에 열거된 HC CDR 서열인 단리된 핵산 분자.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 표 2에 열거된 임의의 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열;
 - (ii) 표 2에 제공된 경쇄 가변 영역 중 임의의 것의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는
 - (iii) 표 2에 제공된 경쇄 가변 영역 중 임의의 것의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열
- 을 포함하는 CAR을 코딩하는 단리된 핵산 분자.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 표 2에 열거된 임의의 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열;
 - (ii) 표 2에 제공된 중쇄 가변 영역 중 임의의 것의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는
 - (iii) 표 2에 제공된 중쇄 가변 영역 중 임의의 것의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열
- 을 포함하는 CAR을 코딩하는 단리된 핵산 분자.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 표 2에 열거된 임의의 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 및 표 2에 열거된 임의의 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 포함하는 CAR을 코딩하는 단리된 핵산 분자.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인이

(i) 서열식별번호: 47, 44, 48, 49, 50, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 51, 73, 70, 74, 75, 76, 65, 66, 67, 68, 69, 71, 72, 77, 195, 86, 83, 87, 88, 89, 78, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 90, 또는 196으로 이루어진 군 으로부터 선택된 아미노산 서열;

(ii) 서열식별번호: 47, 44, 48, 49, 50, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 51, 73, 70, 74, 75, 76, 65, 66, 67, 68, 69, 71, 72, 77, 195, 86, 83, 87, 88, 89, 78, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 90, 또는 196 중 임의의 것에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는

(iii) 서열식별번호: 47, 44, 48, 49, 50, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 51, 73, 70, 74, 75, 76, 65, 66, 67, 68, 69, 71, 72, 77, 195, 86, 83, 87, 88, 89, 78, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 90, 또는 196 중 임의의 것에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열

을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, CLL-1 결합 도메인이 서열식별번호: 60, 44, 61, 62, 또는 63으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 코딩된 CAR이 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타쇄, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및 CD154로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함하는 막횡단 도메인을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 코딩된 막횡단 도메인이 서열식별번호: 6의 아미노산 서열, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 포함하는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 6의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는

(ii) 막횡단 도메인을 코딩하는 핵산 서열이 서열식별번호: 17의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인

단리된 핵산 분자.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인이 힌지 영역에 의해 막횡단 도메인에 연결된 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 13

제12항에 있어서,

(i) 코딩된 힌지 영역이 서열식별번호: 2의 아미노산 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는

(ii) 힌지 영역을 코딩하는 핵산 서열이 서열식별번호: 13의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인

핵산 분자.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 코딩된 공동자극 도메인이 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질,

이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, Nkp80 (KLRF1), Nkp44, Nkp30, Nkp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 수득된 기능적 신호전달 도메인인 단리된 핵산 분자.

청구항 15

제14항에 있어서, 코딩된 공동자극 도메인이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 16

제14항에 있어서, 공동자극 도메인을 코딩하는 핵산 서열이 서열식별번호: 18의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인이 4-1BB의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열; 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인이 서열식별번호: 7의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열이 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 채로서 발현되는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열이 서열식별번호: 18의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열 및/또는 서열식별번호: 20 또는 서열식별번호: 21의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 코딩하는 리더 서열을 추가로 포함하는 단리된 핵산 분자.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 서열식별번호: 99, 96, 100, 101, 102, 91, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 103, 또는 197 중 임의의 것의 아미노산 서열;

(ii) 서열식별번호: 99, 96, 100, 101, 102, 91, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 103, 또는 197 중 임의의 것에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는

(iii) 서열식별번호: 99, 96, 100, 101, 102, 91, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 103, 또는 197 중 임의의 것에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열

을 포함하는 CAR을 코딩하는 단리된 핵산 분자.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 112, 109, 113, 114, 115, 104, 105, 106, 107, 108, 110, 111, 116, 또는 198 중 임의의 것의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열식별번호: 112, 109, 113, 114, 115, 104, 105, 106, 107, 108, 110, 111, 116, 또는 198 중 임의의 것에 대해 95-99% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 핵산 분자에 의해 코딩된 단리된 폴리펩티드 분자.

청구항 25

단리된 키메라 항원 수용체 (CAR) 폴리펩티드이며, 여기서 CAR은 인간 항-CLL-1 결합 도메인을 포함하는 항체 또는 항체 단편, 막횡단 도메인, 및 공동자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 여기서 상기 항-CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함하는 것인 단리된 키메라 항원 수용체 (CAR) 폴리펩티드.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 항-CLL-1 결합 도메인이 표 2에 열거된 임의의 항-CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2) 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3)을 추가로 포함하는 것인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3이 표 6, 8 또는 4에 열거된 LC CDR 서열인 단리된 핵산 분자.

청구항 28

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3이 표 5, 7 또는 3에 열거된 HC CDR 서열인 단리된 핵산 분자.

청구항 29

제25항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 표 2에 열거된 임의의 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열;

(ii) 표 2에 제공된 경쇄 가변 영역 중 임의의 것의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는

(iii) 표 2에 제공된 경쇄 가변 영역 중 임의의 것의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열

을 포함하는 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 30

제25항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 표 2에 열거된 임의의 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열;
 - (ii) 표 2에 제공된 중쇄 가변 영역 중 임의의 것의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는
 - (iii) 표 2에 제공된 중쇄 가변 영역 중 임의의 것의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열
- 을 포함하는 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 31

제25항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 표 2에 열거된 임의의 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 및 표 2에 열거된 임의의 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 포함하는 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 32

제25항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 서열식별번호: 47, 44, 48, 49, 50, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 51, 73, 70, 74, 75, 76, 65, 66, 67, 68, 69, 71, 72, 77, 195, 86, 83, 87, 88, 89, 78, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 90, 또는 196으로 이루어진 군 으로부터 선택된 임의의 아미노산 서열;
 - (ii) 서열식별번호: 47, 44, 48, 49, 50, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 51, 73, 70, 74, 75, 76, 65, 66, 67, 68, 69, 71, 72, 77, 195, 86, 83, 87, 88, 89, 78, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 90, 또는 196 중 임의의 것에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는
 - (iii) 서열식별번호: 47, 44, 48, 49, 50, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 51, 73, 70, 74, 75, 76, 65, 66, 67, 68, 69, 71, 72, 77, 195, 86, 83, 87, 88, 89, 78, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 90, 또는 196 중 임의의 것에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열
- 을 포함하는 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 33

제25항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 막횡단 도메인이 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, CD28, CD3 앵실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및 CD154로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터의 막횡단 도메인을 포함하는 것인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 34

제25항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 막횡단 도메인이 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하거나;
 - (ii) 아미노산 서열이 서열식별번호: 6의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 포함하거나; 또는
 - (iii) 서열식별번호: 6의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열인
- 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 35

제25항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, CLL-1 결합 도메인이 힌지 영역에 의해 막횡단 도메인에 연결된 것인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 36

제35항에 있어서, 힌지 영역이 서열식별번호: 2, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 37

제25항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 공동자극 도메인이 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFTR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRP1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 수득된 기능적 신호전달 도메인인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 38

제25항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 공동자극 도메인이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 39

제25항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 4-1BB의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 것인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 40

제25항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열; 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 41

제25항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 서열식별번호: 7의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열이 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현되는 것인 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 42

제25항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 리더 서열을 추가로 포함하는 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 43

제25항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 서열식별번호: 99, 96, 100, 101, 102, 91, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 103, 또는 197 중 임의의 것의 아미노산 서열;
- (ii) 서열식별번호: 99, 96, 100, 101, 102, 91, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 103, 또는 197 중 임의의 것에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는
- (iii) 서열식별번호: 99, 96, 100, 101, 102, 91, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 103, 또는 197 중 임의의 것에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열

을 포함하는 단리된 CAR 폴리펩티드.

청구항 44

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 CAR 또는 항-CLL-1 결합 도메인을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터이며, DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된 벡터.

청구항 45

제44항에 있어서, 서열식별번호: 11의 서열을 포함하는 EF-1 프로모터를 추가로 포함하는 벡터.

청구항 46

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 핵산, 제24항 내지 제43항 중 어느 한 항의 CAR 폴리펩티드, 또는 제44항 또는 제45항의 벡터를 포함하는 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포.

청구항 47

세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포를 제44항 또는 제45항의 벡터로 형질도입하는 것을 포함하는, 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포를 제조하는 방법.

청구항 48

시험관내 전사된 RNA 또는 합성 RNA를 세포 내로 도입하는 것을 포함하는 RNA-조작된 세포의 집단을 생성하는 방법이며, 여기서 RNA는 제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 CAR 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 것인 방법.

청구항 49

포유동물에게 제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 CAR 핵산 또는 제24항 내지 제43항 중 어느 한 항의 CAR 폴리펩티드를 포함하는 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포의 집단의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 포유동물 내에 항종양 면역을 제공하는 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 세포가 자가 T 세포 또는 동종 T 세포인 방법.

청구항 51

CLL-1의 발현과 연관된 질환을 갖는 포유동물에게 제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 CAR 핵산 또는 제24항 내지 제43항 중 어느 한 항의 CAR 폴리펩티드를 포함하는 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포의 집단의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 포유동물을 치료하는 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, CLL-1 발현과 연관된 질환이

(i) 골수이형성증, 골수이형성 증후군 또는 전백혈병 중 1종 이상으로부터 선택된 암 또는 악성종양 또는 전암성 상태, 또는

(ii) CLL-1의 발현과 연관된 비-암 관련 적응증

인 방법.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 질환이 혈액암인 방법.

청구항 54

제51항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 질환이 급성 골수성 백혈병 (AML); 급성 림프모구성 B-세포 백혈

병 (B-세포 급성 림프성 백혈병, BALL), 급성 림프모구성 T-세포 백혈병 (T-세포 급성 림프성 백혈병, TALL) 중 1종 이상으로부터 선택된 급성 백혈병, B-세포 전림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 (CML), 골수이형성 증후군, 형질 세포 골수종, 또는 그의 조합인 방법.

청구항 55

제51항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포의 집단이

(i) CAR 핵산 또는 CAR 폴리펩티드를 포함하는 세포의 효능을 증가시키는 작용제;

(ii) CAR 핵산 또는 CAR 폴리펩티드를 포함하는 세포의 투여와 연관된 1종 이상의 부작용을 호전시키는 작용제; 또는

(iii) CLL-1의 발현과 연관된 질환을 치료하는 작용제

중 1종 이상과 조합되어 투여되는 것인 방법.

청구항 56

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 의약으로서 사용하기 위한 단리된 핵산 분자, 단리된 CAR 폴리펩티드 분자, 벡터 또는 세포.

청구항 57

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, CLL-1의 발현과 연관된 질환의 치료에 사용하기 위한 단리된 핵산 분자, 단리된 CAR 폴리펩티드 분자, 벡터 또는 세포.

청구항 58

제46항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인으로부터의 양성 신호를 포함하는 제2 폴리펩티드와 회합된, 억제 분자의 적어도 일부를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함하는 억제 분자를 추가로 발현하는 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포의 집단.

청구항 59

제58항에 있어서, 억제 분자가 PD1의 적어도 일부를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 공동자극 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것인 세포.

청구항 60

제55항에 있어서, 작용제가 mTOR 억제제이고, 대상체에게 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어 RAD001 또는 라파마이신을 투여하는 것인 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, mTOR 억제제가 대상체의 말초 혈액 또는 대상체로부터 단리된 T 세포의 표본에서 PD-1 양성 T 세포의 비율을 감소시키거나, PD-1 음성 T 세포의 비율을 증가시키거나, PD-1 음성 T 세포/ PD-1 양성 T 세포의 비를 증가시키는데 충분한 양의 시간 동안 투여되는 것인 방법.

청구항 62

대상체에게 제1항 내지 제23항 중 어느 한 항의 CAR 핵산 분자 또는 제24항 내지 제43항 중 어느 한 항의 CAR 폴리펩티드를 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 세포 이식 전에 대상체를 조건화하는 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 세포 이식이 줄기 세포 이식, 예를 들어 조혈 줄기 세포 이식 또는 골수 이식인 방법.

청구항 64

제62항 또는 제63항에 있어서, 세포 이식 전에 대상체를 조건화하는 것이 대상체 내 CLL-1-발현 세포, 예를 들어 CLL-1-발현 정상 세포 또는 CLL-1-발현 암 세포의 수를 감소시키는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 65

제51항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 화학요법제가 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포의 집단의 투여 전에 투여되고; 임의로, 여기서 화학요법제는 암 세포 상에서의 CLL-1 발현을 증가시키는 것이거나 또는 여기서 화학요법제는 시타라빈인 방법.

발명의 설명**기술 분야**

- [0001] 본 출원은 2014년 7월 21일에 출원된 PCT 출원 번호 PCT/CN2014/082602, 및 2014년 11월 6일에 출원된 PCT 출원 번호 PCT/CN2014/090500을 우선권 주장한다. 각각의 이들 출원의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.
- [0002] 서열 목록
- [0003] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 2015년 7월 15일에 생성된 상기 ASCII 카피는 N2067-7044W03_SL.txt로 명명되고, 339,932 바이트 크기이다.
- [0004] 발명의 분야
- [0005] 본 발명은 일반적으로 C-유형 렉틴-유사-1 (CLL-1)의 발현과 연관된 질환을 치료하기 위한, 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

- [0006] C-유형 렉틴-유사-1 (CLL-1)은 또한 MICL, CLEC12A, CLEC-1, 수지상 세포-연관 렉틴 1, 및 DCAL-2로 공지되어 있다. CLL-1은 당단백질 수용체이고, 면역 조절에 관여하는 C-유형 렉틴-유사 수용체의 거대 패밀리의 구성원이다. CLL-1은 조혈 세포에서, 주로 단핵구, DC, pDC 및 과립구를 비롯한 선천성 면역 세포 (Cancer Res. 2004; J Immunol 2009) 및 골수 전구세포 (Blood, 2007) 상에서 발현된다. CLL-1은 또한 급성 골수성 백혈병 (AML) 모세포 및 백혈병성 줄기 세포 (예를 들어, CD34⁺/CD38⁻) 상에서 발견된다 (Zhao et al., Haematologica. 2010, 95(1):71-78.). CLL-1 발현은 또한 다른 골수성 백혈병, 예컨대 급성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 (CML) 및 골수이형성 증후군 (MDS)과 관련될 수 있다.

발명의 내용

- [0007] 제1 측면에서, 본 발명은 키메라 항원 수용체 (CAR)를 코딩하는 단리된 핵산 분자이며, 여기서 CAR은 인간 항-CLL-1 결합 도메인을 포함하는 항체 또는 항체 단편, 막횡단 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 공동자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인)을 포함하는 것인 단리된 핵산 분자를 특색으로 한다. 한 실시양태에서, CAR은 본원에 기재된 인간 항-CLL-1 결합 도메인을 포함하는 항체 또는 항체 단편, 본원에 기재된 막횡단 도메인, 및 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 공동자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인)을 포함한다.
- [0008] 실시양태에서, CAR은 인간 항-CLL-1 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하며, 여기서 상기 항-CLL-1결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함한다. 실시양태에서, 인간 CLL-1결합 도메인은 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3)을 추가로 포함한다. 실시양태에서, 인간 CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3)을 포함한다.
- [0009] 일부 실시양태에서, CAR은 인간 CLL-1결합 도메인을 포함하는 항체 또는 항체 단편, 막횡단 도메인, 및 공동자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하며, 여기서 상기 CLL-1결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3) 중 1개 이상, 및 표 2에 열거된 임의의 CLL-1중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3) 중 1개 이상을 포함한다.

- [0010] 한 실시양태에서, 코딩된 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 인간 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3), 및/또는 본원에 기재된 인간 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함하고, 예를 들어 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 LC CDR 및 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 HC CDR을 포함한다.
- [0011] 한 실시양태에서, 코딩된 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 (예를 들어, 표 2에서의) 경쇄 가변 영역 및/또는 본원에 기재된 (예를 들어, 표 2에서의) 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 표 2의 아미노산 서열의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 scFv이다. 한 실시양태에서, 코딩된 인간 항-CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, scFv)은 표 2에 제공된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 표 2의 아미노산 서열과 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및/또는 표 2에 제공된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 표 2의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0012] 다른 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3을 포함한다. 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 추가로 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다. 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다.
- [0013] 일부 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3 중 1, 2개 또는 모두, 및 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3 중 1, 2개 또는 모두를 포함한다.
- [0014] 한 실시양태에서, 코딩된 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호(SEQ ID NO): 39-51, 65-77, 195, 78-90, 또는 196으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, scFv)은 서열식별번호: 39-51, 65-77, 195, 78-90, 또는 196의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 39-51, 65-77, 195, 78-90, 또는 196의 아미노산 서열과 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 65-77 또는 195로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 66-74 또는 196으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 핵산 분자는 서열식별번호: 52-64로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0015] 한 실시양태에서, 코딩된 인간화 항-CLL-1 결합 도메인은 (Gly₄-Ser)_n 링커를 포함하며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 3 또는 4 (서열식별번호: 26)이다. scFv의 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역은, 예를 들어 임의의 하기 배향: 경쇄 가변 영역-링커-중쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역-링커-경쇄 가변 영역일 수 있다.
- [0016] 한 실시양태에서, 코딩된 CAR은 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 체, CD28, CD3 엠실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및 CD154로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함하는 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 막횡단 도메인은 서열식별번호: 6의 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 막횡단 도메인은 서열식별번호: 6의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 포함하는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 6의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 17의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0017] 한 실시양태에서, 코딩된 항-CLL-1 결합 도메인은 힌지 영역, 예를 들어 본원에 기재된 힌지 영역에 의해 막횡

단 도메인에 연결된다. 한 실시양태에서, 코딩된 힌지 영역은 서열식별번호: 2, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 힌지 영역을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 13의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0018] 한 실시양태에서, 단리된 핵산 분자는 추가로 공동자극 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 공동자극 도메인을 코딩하는 서열을 포함한다. 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 도메인을 포함한다. 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 신호전달 도메인을 포함한다. 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함한다.

[0019] 한 실시양태에서, 코딩된 공동자극 도메인은 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 립프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 툴 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRP1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 수득된 기능적 신호전달 도메인이다. 실시양태에서, 코딩된 공동자극 도메인은 4-1BB, CD27, CD28, 또는 ICOS를 포함한다.

[0020] 한 실시양태에서, 4-1BB의 코딩된 공동자극 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 공동자극 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 18의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CD28의 코딩된 공동자극 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 공동자극 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 482의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, CD28의 공동자극 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 483의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CD27의 코딩된 공동자극 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 공동자극 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, CD27의 공동자극 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 19의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0021] 또 다른 실시양태에서, ICOS의 코딩된 공동자극 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 공동자극 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 484의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, ICOS의 공동자극 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 485의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0022] 실시양태에서, 코딩된 1차 신호전달 도메인은 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 실시양태에서, CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인은 서열식별번호: 9 (돌연변이체 CD3 제타) 또는 서열식별번호: 10 (야생형 인간 CD3 제타)의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0023] 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 4-1BB의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 4-1BB의 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 CD3 제타 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미

노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다. 한 실시양태에서, 4-1BB의 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 18의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열, 및/또는 서열식별번호: 20 또는 서열식별번호: 21의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 CD3 제타 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0024] 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 CD27의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, CD27의 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 CD3 제타 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 8의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다. 한 실시양태에서, CD27의 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 19의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열, 및/또는 서열식별번호: 20 또는 서열식별번호: 21의 CD3 제타 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0025] 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 CD28의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, CD28의 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 CD3 제타 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 482의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 482의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다. 한 실시양태에서, CD28의 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 483의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열, 및/또는 서열식별번호: 20 또는 서열식별번호: 21의 CD3 제타 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0026] 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 ICOS의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, ICOS의 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 CD3 제타 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 484의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 484의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다. 한 실시양태에서, ICOS의 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 485의 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열, 및/또는 서열식별번호: 20 또는 서열식별번호: 21의 CD3 제타 뉴클레오티드 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0027] 한 실시양태에서, 단리된 CAR 분자는 리더 서열, 예를 들어 본원에 기재된 리더 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 리더 서열은 서열식별번호: 1의 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 1의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0028] 또 다른 측면에서, 본 발명은 리더 서열, 예를 들어 본원에 기재된 리더 서열, 예를 들어 서열식별번호: 1의 아미노산 서열; 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 LC CDR1, LC CDR2, LC CDR3, HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3을 포함하는 인간 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 표 2에 기재된 인간 항-CLL-1 결합 도메인, 또는 그와 95-99% 동일성을 갖는 서열; 본원에 기재된 힌지 영역, 예를 들어 서열식별번호: 2의 아

미노산 서열; 예를 들어 서열식별번호: 6의 서열을 갖는 본원에 기재된 막횡단 도메인; 및 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR 구축물을 코딩하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 공동자극 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 4-1BB 공동자극 도메인, 서열식별번호: 482의 아미노산 서열을 갖는 CD28 공동자극 도메인, 또는 서열식별번호: 484의 아미노산 서열을 갖는 ICOS 공동자극 도메인, 또는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 갖는 CD27 공동자극 도메인), 및/또는 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 1차 신호전달 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 갖는 CD3 제타 자극 도메인)을 포함한다.

[0029] 한 실시양태에서, CAR 구축물을 코딩하는 단리된 핵산 분자는 서열식별번호: 52, 서열식별번호: 53, 서열식별번호: 54, 서열식별번호: 55, 서열식별번호: 56, 서열식별번호: 57, 서열식별번호: 58, 서열식별번호: 59, 서열식별번호: 60, 서열식별번호: 61, 서열식별번호: 62, 서열식별번호: 63, 및 서열식별번호: 64의 핵산 서열, 또는 그에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩된 인간 항-CLL-1 결합 도메인 서열을 포함한다.

[0030] 한 실시양태에서, 단리된 핵산 분자는 서열식별번호: 91, 서열식별번호: 92, 서열식별번호: 93, 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 95, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103, 또는 서열식별번호: 197의 CAR 아미노산 서열; 또는 서열식별번호: 91, 서열식별번호: 92, 서열식별번호: 93, 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 95, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103, 또는 서열식별번호: 197의 아미노산 서열의 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 서열식별번호: 91, 서열식별번호: 92, 서열식별번호: 93, 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 95, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103 또는 서열식별번호: 197의 아미노산 서열에 대해 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함한다 (예를 들어 그로 이루어진다).

[0031] 한 실시양태에서, 단리된 핵산 분자는 서열식별번호: 104, 서열식별번호: 105, 서열식별번호: 106, 서열식별번호: 107, 서열식별번호: 108, 서열식별번호: 109, 서열식별번호: 110, 서열식별번호: 111, 서열식별번호: 112, 서열식별번호: 113, 서열식별번호: 114, 서열식별번호: 115, 서열식별번호: 116, 또는 서열식별번호: 198의 핵산 서열; 또는 서열식별번호: 104, 서열식별번호: 105, 서열식별번호: 106, 서열식별번호: 107, 서열식별번호: 108, 서열식별번호: 109, 서열식별번호: 110, 서열식별번호: 111, 서열식별번호: 112, 서열식별번호: 113, 서열식별번호: 114, 서열식별번호: 115, 서열식별번호: 116, 또는 서열식별번호: 198의 핵산 서열에 대해 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다 (예를 들어 그로 이루어진다).

[0032] 한 측면에서, 본 발명은 항-CLL-1 결합 도메인을 코딩하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이며, 여기서 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3), 및/또는 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함하고, 예를 들어 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 LC CDR 및 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 HC CDR을 포함한다.

[0033] 다른 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3을 포함한다. 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 추가로 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다. 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다.

[0034] 일부 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3 중 1, 2개 또는 모두, 및 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3 중 1, 2개 또는 모두를 포함한다.

[0035] 한 실시양태에서, 코딩된 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 (예를 들어, 서열식별번호: 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 또는 196에서의) 경쇄 가변 영역 및/또는 본원에 기재된 (예를 들어, 서열식별번호: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 또는 195에서의) 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 또는 51에서의 아미노산 서열의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 scFv이다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1

결합 도메인 (예를 들어, scFv)은 서열식별번호: 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 또는 196에 제공된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 또는 196의 아미노산 서열과 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및/또는 서열식별번호: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 또는 195에 제공된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 또는 195에서의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39, 서열식별번호: 40, 서열식별번호: 41, 서열식별번호: 42, 서열식별번호: 43, 서열식별번호: 44, 서열식별번호: 45, 서열식별번호: 46, 서열식별번호: 47, 서열식별번호: 48, 서열식별번호: 49, 서열식별번호: 50, 및 서열식별번호: 51로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 항-CLL-1 결합 도메인은 scFv이고, 본원, 예를 들어 표 2에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역은 링커, 예를 들어 본원에 기재된 링커를 통해 본원, 예를 들어 표 2에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역에 부착된다. 한 실시양태에서, 코딩된 항-CLL-1 결합 도메인은 (Gly₄-Ser)_n 링커를 포함하며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 4 (서열식별번호: 26)이다. scFv의 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역은, 예를 들어 임의의 하기 배향: 경쇄 가변 영역-링커-중쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역-링커-경쇄 가변 영역일 수 있다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인을 코딩하는 단리된 핵산 서열은 서열식별번호: 52, 서열식별번호: 53, 서열식별번호: 54, 서열식별번호: 55, 서열식별번호: 56, 서열식별번호: 57, 서열식별번호: 58, 서열식별번호: 59, 서열식별번호: 60, 서열식별번호: 61, 서열식별번호: 62, 서열식별번호: 63, 및 서열식별번호: 64로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0036] 또 다른 측면에서, 본 발명은 핵산 분자에 의해 코딩된 단리된 CAR (예를 들어, 폴리펩티드) 분자에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 단리된 CAR 분자는 서열식별번호: 91, 서열식별번호: 92, 서열식별번호: 93, 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 95, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103, 및 서열식별번호: 197로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0037] 또 다른 측면에서, 본 발명은 항-CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, CLL-1에 특이적으로 결합하는 인간 항체 또는 항체 단편), 막횡단 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 공동자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인)을 포함하는 단리된 키메라 항원 수용체 (CAR) 분자 (예를 들어, 폴리펩티드)에 관한 것이다. 한 실시양태에서, CAR은 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인을 포함하는 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1에 특이적으로 결합하는 인간 항체 또는 항체 단편), 본원에 기재된 막횡단 도메인, 및 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 공동자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인)을 포함한다.

[0038] 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3), 및/또는 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및/또는 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함하고, 예를 들어 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 LC CDR 및 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 HC CDR을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 (예를 들어, 표 2에서의) 경쇄 가변 영역 및/또는 본원에 기재된 (예를 들어, 표 2에서의) 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 아미노산 서열의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 scFv이다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, scFv)은 표 2에 제공된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 표 2에 제공된 아미노산 서열과 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및/또는 표 2에 제공된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 표 2에 제공된 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

- [0039] 다른 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3을 포함한다. 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 추가로 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다. 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다.
- [0040] 일부 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3 중 1, 2개 또는 모두, 및 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3 중 1, 2개 또는 모두를 포함한다.
- [0041] 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39, 서열식별번호: 40, 서열식별번호: 41, 서열식별번호: 42, 서열식별번호: 43, 서열식별번호: 44, 서열식별번호: 45, 서열식별번호: 46, 서열식별번호: 47, 서열식별번호: 48, 서열식별번호: 49, 서열식별번호: 50, 서열식별번호: 51, 서열식별번호: 65-90, 또는 서열식별번호: 195-196으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 scFv이고, 및 본원, 예를 들어 표 2에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역은 링커, 예를 들어 본원에 기재된 링커를 통해 본원, 예를 들어 표 2에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역에 부착된다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 (Gly₄-Ser)_n 링커를 포함하며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 4 (서열식별번호: 26)이다. scFv의 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역은, 예를 들어 임의의 하기 배향: 경쇄 가변 영역-링커-중쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역-링커-경쇄 가변 영역일 수 있다.
- [0042] 한 실시양태에서, 단리된 CAR 분자는 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 채, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및 CD154로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 서열식별번호: 6의 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 서열식별번호: 6의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 6의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0043] 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 힌지 영역, 예를 들어 본원에 기재된 힌지 영역에 의해 막횡단 도메인에 연결된다. 한 실시양태에서, 코딩된 힌지 영역은 서열식별번호: 2, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0044] 실시양태에서, 단리된 CAR 분자의 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 도메인을 포함한다. 실시양태에서, 단리된 CAR 분자의 세포내 신호전달 도메인은 1차 신호전달 도메인을 포함한다. 실시양태에서, 단리된 CAR 분자의 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 단리된 CAR 분자는 추가로 공동자극 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 공동자극 도메인을 코딩하는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인은 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 4-1BB의 공동자극 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CD28의 공동자극 도메인은 서열식별번호:

482의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 482의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CD27의 공동자극 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, ICOS의 공동자극 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 484의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0045] 실시양태에서, 1차 신호전달 도메인은 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 실시양태에서, CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인은 서열식별번호: 9 (돌연변이체 CD3 제타) 또는 서열식별번호: 10 (야생형 인간 CD3 제타)의 아미노산 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0046] 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 4-1BB의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다.

[0047] 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD27의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, CD27의 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 CD3 제타 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 8의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 8의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다.

[0048] 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD28의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, CD28의 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 CD3 제타 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 482의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 482의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다.

[0049] 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 ICOS의 기능적 신호전달 도메인 및/또는 CD3 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, ICOS의 코딩된 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 CD3 제타 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 482의 아미노산 서열 및/또는 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 484의 서열 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메

인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 채로서 발현된다.

- [0050] 한 실시양태에서, 단리된 CAR 분자는 추가로 리더 서열, 예를 들어 본원에 기재된 리더 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 리더 서열은 서열식별번호: 1의 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 1의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0051] 또 다른 측면에서, 본 발명은 리더 서열, 예를 들어 본원에 기재된 리더 서열, 예를 들어 서열식별번호: 1 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 리더 서열, 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 LC CDR1, LC CDR2, LC CDR3, HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3을 포함하는 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 표 2에 기재된 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열의 항-CLL-1 결합 도메인, 힌지 영역, 예를 들어 본원에 기재된 힌지 영역, 예를 들어 서열식별번호: 2 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 힌지 영역, 막횡단 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 막횡단 도메인, 예를 들어 서열식별번호: 6의 서열 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 갖는 막횡단 도메인, 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 공동자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인)을 포함하는 단리된 CAR 분자에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 공동자극 도메인, 예를 들어 서열식별번호: 7의 서열 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 갖는 4-1BB 공동자극 도메인, 및/또는 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 갖는 CD3 제타 자극 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 공동자극 도메인, 예를 들어 서열식별번호: 7의 서열을 갖는 4-1BB 공동자극 도메인, 및/또는 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 갖는 CD3 제타 자극 도메인을 포함한다.
- [0052] 한 실시양태에서, 단리된 CAR 분자는 서열식별번호: 91, 서열식별번호: 92, 서열식별번호: 93, 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 95, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103, 또는 서열식별번호: 197의 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 91, 서열식별번호: 92, 서열식별번호: 93, 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 95, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103, 또는 서열식별번호: 197의 아미노산 서열의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 또는 30개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 60, 50 또는 40개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 91, 서열식별번호: 92, 서열식별번호: 93, 서열식별번호: 94, 서열식별번호: 95, 서열식별번호: 96, 서열식별번호: 97, 서열식별번호: 98, 서열식별번호: 99, 서열식별번호: 100, 서열식별번호: 101, 서열식별번호: 102, 서열식별번호: 103, 및 서열식별번호: 197의 아미노산 서열에 대해 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다 (예를 들어 그로 이루어진다).
- [0053] 한 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3), 및/또는 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함하는 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 LC CDR 및 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 HC CDR을 포함하는 인간 항-CLL-1 결합 도메인에 관한 것이다.
- [0054] 다른 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3을 포함한다. 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 추가로 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다. 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다.
- [0055] 일부 실시양태에서, 코딩된 CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3 중 1, 2개 또는 모두, 및 표 2에 열거된 임의의 CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3 중 1, 2개 또는 모두를 포함한다.
- [0056] 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 (예를 들어, 서열식별번호: 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 또는 196에서의) 경쇄 가변 영역 및/또는 본원에 기재된 (예를 들어 서열식별번호: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 또는 195에서의) 중쇄 가변 영역을 포함

한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 또는 51의 아미노산 서열의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 scFv이다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, scFv)은 서열식별번호: 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 또는 196에 제공된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 또는 196에서의 아미노산 서열과 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및/또는 서열식별번호: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 또는 195에 제공된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 또는 195에서의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39, 서열식별번호: 40, 서열식별번호: 41, 서열식별번호: 42, 서열식별번호: 43, 서열식별번호: 44, 서열식별번호: 45, 서열식별번호: 46, 서열식별번호: 47, 서열식별번호: 48, 서열식별번호: 49, 서열식별번호: 50, 또는 서열식별번호: 51로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 scFv이고, 본원, 예를 들어 표 2에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역은 링커, 예를 들어 본원에 기재된 링커를 통해 본원, 예를 들어 표 2에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역에 부착된다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 (Gly₄-Ser)_n 링커를 포함하며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 4 (서열식별번호: 26)이다. scFv의 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역은, 예를 들어 임의의 하기 배향: 경쇄 가변 영역-링커-중쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역-링커-경쇄 가변 영역일 수 있다.

[0057] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 핵산 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 벡터는 DNA, RNA, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 또는 레트로바이러스 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0058] 한 실시양태에서, 벡터는 렌티바이러스 벡터이다. 한 실시양태에서, 벡터는 추가로 프로모터를 포함한다. 한 실시양태에서, 프로모터는 EF-1 프로모터이다. 한 실시양태에서, EF-1 프로모터는 서열식별번호: 11의 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 프로모터는 PGK 프로모터, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 말단절단된 PGK 프로모터이다.

[0059] 한 실시양태에서, 벡터는 시험관내 전사되는 벡터, 예를 들어 본원에 기재된 핵산 분자의 RNA를 전사하는 벡터이다. 한 실시양태에서, 벡터 내의 핵산 서열은 추가로 폴리(A) 테일, 예를 들어 약 150개의 아데노신 염기를 포함하는 예를 들어 본원에 기재된 폴리 A 테일을 포함한다 (서열식별번호: 312). 한 실시양태에서, 벡터 내의 핵산 서열은 추가로 3' UTR, 예를 들어 인간 베타-글로불린으로부터 유래된 3' UTR의 적어도 1개의 반복부를 포함하는 예를 들어 본원에 기재된 3' UTR을 포함한다. 한 실시양태에서, 벡터 내의 핵산 서열은 추가로 프로모터, 예를 들어 T2A 프로모터를 포함한다.

[0060] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 벡터를 포함하는 세포에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 세포는 본원에 기재된 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 인간 T 세포, 예를 들어 본원에 기재된 인간 T 세포, 또는 인간 NK 세포, 예를 들어 본원에 기재된 인간 NK 세포이다. 한 실시양태에서, 인간 T 세포는 CD8+ T 세포이다.

[0061] 또 다른 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또 다른 작용제, 예를 들어 CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제를 추가로 발현할 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 작용제는 억제 분자를 억제하는 작용제일 수 있다. 억제 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 분자를 억제하는 작용제는 양성 신호를 세포에 제공하는 제2 폴리펩티드, 예를 들어 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인과 회합된 제1 폴리펩티드, 예를 들어 억제 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 작용제는 예를 들어 억제 분자, 예컨대 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타, 또는 임의의 이들의 단편 (예를 들어, 임의의 이들의 세포외 도메인의 적어도 일부)의

제1 폴리펩티드, 및 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 공동자극 도메인 (예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 예를 들어 41BB, CD27 또는 CD28) 및/또는 1차 신호전달 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 CD3 제타 신호전달 도메인) 포함)인 제2 폴리펩티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 작용제는 PD1 또는 그의 단편 (예를 들어, PD1의 세포외 도메인의 적어도 일부)의 제1 폴리펩티드, 및 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 CD28 신호전달 도메인 및/또는 본원에 기재된 CD3 제타 신호전달 도메인)의 제2 폴리펩티드를 포함한다.

[0062] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 세포, 예를 들어 본원에 기재된 면역 이펙터 세포, 예를 들어 본원에 기재된 T 세포 또는 NK 세포를 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터로 형질 도입하는 것을 포함하는, 세포를 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0063] 본 발명은 또한 외인성 RNA를 일시적으로 발현하는 RNA-조작된 세포, 예를 들어 본원에 기재된 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 집단을 생성하는 방법을 제공한다. 방법은 시험관내에서 전사된 RNA 또는 합성 RNA를 세포 내로 도입하는 것을 포함하며, 여기서 RNA는 본원에 기재된 CAR 분자를 코딩하는 핵산을 포함한다.

[0064] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 CAR 분자를 발현하는 세포, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 포유동물에 항종양 면역을 제공하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 세포는 자가 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포이다. 한 실시양태에서, 세포는 동종 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포이다. 한 실시양태에서, 포유동물은 인간, 예를 들어 혈액암을 갖는 환자이다.

[0065] 또 다른 측면에서, 본 발명은 CLL-1의 발현과 연관된 질환 (예를 들어, 증식성 질환, 전암성 상태, 및 CLL-1의 발현과 연관된 비-암 관련 적응증)을 갖는 포유동물에게 CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 포유동물을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 포유동물은 인간, 예를 들어 혈액암을 갖는 환자이다.

[0066] 한 실시양태에서, 질환은 본원에 기재된 질환이다. 한 실시양태에서, CLL-1 발현과 연관된 질환은 혈액암, 예컨대 급성 골수성 백혈병 (AML)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 급성 백혈병; 골수이형성 증후군; 골수증식성 신생물; 만성 골수성 백혈병 (CML); 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물; 및 CLL-1을 발현하는 비정형 및/또는 비-전형적 암, 악성종양, 전암성 상태 또는 증식성 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는 CLL-1 발현과 연관된 질환; 및 그의 조합으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, CLL-1 발현과 연관된 질환은 급성 골수 백혈병 (또는 급성 골수성 백혈병, AML)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 급성 백혈병; 만성 골수 백혈병 (또는 만성 골수성 백혈병, CML); 급성 림프성 백혈병 (또는 급성 림프모구성 백혈병, ALL); 만성 림프성 백혈병 (또는 만성 림프구성 백혈병, CLL) 및 골수이형성 증후군, B-세포 급성 림프성 백혈병 ("BALL", 또는 급성 림프모구성 B-세포 백혈병), T-세포 급성 림프성 백혈병 ("TALL", 또는 급성 림프모구성 T-세포 백혈병), 급성 림프성 백혈병 (ALL); 만성 골수 백혈병 (CML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 만성 백혈병으로 이루어진 군으로부터 선택된 혈액암; B 세포 전림프구성 백혈병, 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 림프종, 예컨대 비제한적으로 다발성 골수종; 비-호지킨 림프종; 버킷 림프종; 소세포-여포성 림프종; 및 대세포-여포성 림프종, 버킷 림프종, 미만성 대 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 모발상 세포 백혈병, 소세포- 또는 대세포-여포성 림프종, 악성 림프증식성 상태, MALT 림프종, 외투 세포 림프종, 변연부 림프종, 다발성 골수종, 골수이형성증 및 골수이형성 증후군, 호지킨 림프종, 형질모구성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 형질 세포 골수종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 및 골수 혈액 세포의 비유효 생산 (또는 이형성증)과 연관된 혈액 상태의 다양한 집단인 "전백혈병"을 포함하나 이에 제한되지는 않는 추가의 혈액암 또는 혈액 상태, 및 CLL-1을 발현하는 비정형 및/또는 비-전형적 암, 악성종양, 전암성 상태 또는 증식성 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는 CLL-1 발현과 연관된 질환; 및 그의 조합이다.

[0067] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체에게 본원에 개시된 CAR 분자를 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 세포 이식 전에 대상체를 조건화하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 세포 이식은 줄기 세포 이식이다. 줄기 세포 이식은 조혈 줄기 세포 이식 또는 골수 이식이다. 한 실시양태에서, 세포 이식은 동종 또는 자가이다.

[0068] 한 실시양태에서, 세포 이식 전에 대상체를 조건화하는 것은 대상체 내 CLL-1-발현 세포의 수를 감소시키는 것을 포함한다. 대상체 내 CLL-1-발현 세포는 CLL-1-발현 정상 세포 또는 CLL-1-발현 암 세포이고, 일부 경우에 대상체에서의 조건은 세포 이식 전에 CLL-1-발현 정상 및 암 세포 둘 다를 감소시킬 것이다.

- [0069] 한 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포는 CAR 분자를 발현하는 세포의 효능을 증가시키는 작용제, 예를 들어 본원에 기재된 작용제와 조합되어 투여된다.
- [0070] 한 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포는 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제와 조합되어 투여된다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 낮은, 면역 증진 용량 (예를 들어, 면역계를 완전히 억제하기에 불충분하지만 면역 기능을 개선시키기에는 충분한 용량)을 사용한 처리는 PD-1 양성 T 세포의 감소 또는 PD-1 음성 세포의 증가를 동반하는 것으로 여겨진다. PD-1 양성 T 세포는 PD-1 리간드, 예를 들어 PD-L1 또는 PD-L2를 발현하는 세포에 의한 관여에 의해 고갈될 수 있지만, PD-1 음성 T 세포는 그렇지 않다.
- [0071] 한 실시양태에서, 이러한 접근법은 대상체에서 본원에 기재된 CAR 세포의 성능을 최적화하는데 사용될 수 있다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 한 실시양태에서, 내인성, 비-변형된 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 성능이 개선된 것으로 여겨진다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 한 실시양태에서, CLL-1 CAR 발현 세포의 성능이 개선된 것으로 여겨진다. 다른 실시양태에서, CAR을 발현하거나 발현할 세포, 예를 들어 T 세포는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수를 증가시키거나, 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/ PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비를 증가시키는 양의 mTOR 억제제와 접촉시키는 것에 의해 생체의 처리될 수 있다.
- [0072] 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어 알로스테릭 억제제, 예를 들어 RAD001, 또는 촉매 억제제의 투여는 본원에 기재된 CAR 발현 세포, 예를 들어 T 세포의 투여 전에 개시된다. 한 실시양태에서, CAR 세포는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수준, 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비가 적어도 일시적으로 증가하도록 mTOR 억제제의 충분한 시간 또는 충분한 투여 후에 투여된다.
- [0073] 한 실시양태에서, 본 발명은 대상체의 치료에 사용하기 위한 mTOR 억제제를 제공하며, 여기서 상기 mTOR 억제제는 상기 대상체의 면역 반응을 증진시키고, 여기서 상기 대상체는 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1 CAR을 발현하는 면역 이펙터 세포를 제공받은 바 있거나, 제공받고 있거나, 또는 제공받을 예정이다.
- [0074] 한 실시양태에서, CAR을 발현하도록 조작될 세포, 예를 들어 T 세포는 대상체 내의 또는 대상체로부터 수거된 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수준, 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비가 적어도 일시적으로 증가하도록 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 충분한 시간 후에 또는 충분한 투여 후에 수거된다.
- [0075] 한 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포는 CAR 분자를 발현하는 세포의 투여와 연관된 1종 이상의 부작용을 개선시키는 작용제, 예를 들어 본원에 기재된 작용제와 조합되어 투여된다.
- [0076] 한 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포는 CLL-1과 연관된 질환을 치료하는 작용제, 예를 들어 본원에 기재된 작용제와 조합되어 투여된다. 또 다른 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포는 화학요법제, 예를 들어 본원에 기재된 화학요법제와 조합되어 투여된다. 한 실시양태에서, 화학요법제는 CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포의 투여 전에 투여된다. 예를 들어, 화학요법제의 1회 초과 투여가 바람직한 화학치료 요법에서, 화학치료 요법은 CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포의 투여 전에 개시 또는 완료된다. 실시양태에서, 화학요법제는 CAR 분자를 발현하는 세포의 투여의 적어도 5일, 10일, 15일, 30일 전에 투여된다. 실시양태에서, 화학요법제는 예를 들어 정상 또는 비-암 세포 상에서의 CLL-1 발현과 비교하여 암 세포, 예를 들어 종양 세포 상에서 CLL-1 발현을 증가시키는 화학요법제이다. 예를 들어, 화학요법제는 시타라빈 (Ara-C)이다. 실시양태에서, 화학요법 및 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포의 조합은 혈액암, 예를 들어 백혈병, 예를 들어 AML 또는 본원에 기재된 혈액암의 최소 잔류 질환 (MRD)을 치료하는데 유용하다.
- [0077] 또 다른 측면에서, 본 발명은 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 의약으로서 사용하기 위한 본 발명의 CAR을 코딩하는 단리된 핵산 분자, 본 발명의 CAR의 단리된 폴리펩티드 분자, 본 발명의 CAR을 포함하는 벡터, 및 본 발명의 CAR을 포함하는 세포에 관한 것이다.
- [0078] 또 다른 측면에서, 본 발명은 CLL-1을 발현하는 질환, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1을 발현하는 질환의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 CAR을 코딩하는 단리된 핵산 분자, 본 발명의 CAR의 단리된 폴리펩티드 분자, 본 발명의 CAR을 포함하는 벡터, 및 본 발명의 CAR을 포함하는 세포에 관한 것이다.

- [0079] 상기 언급된 조성물 및 방법의 추가의 특색 및 실시양태는 하기 중 1개 이상을 포함한다:
- [0080] 특정 실시양태에서, CLL-1 CAR 분자 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1 CAR 핵산 또는 CLL-1 CAR 폴리펩티드), 또는 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1 결합 도메인은 표 3에 제공된 중쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, HC CDR1, HC CDR2 및/또는 HC CDR3); 및/또는 표 4에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 또는 181268의 경쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, LC CDR1, LC CDR2 및/또는 LC CDR3); 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 실질적으로 동일한 서열 (예를 들어, 95-99% 동일, 또는 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 변화, 예를 들어 치환 (예를 들어, 예를 들어, 보존적 치환))을 포함한다.
- [0081] 특정 실시양태에서, CLL-1 CAR 분자 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1 CAR 핵산 또는 CLL-1 CAR 폴리펩티드), 또는 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1 결합 도메인은 표 5에 제공된 중쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, HC CDR1, HC CDR2 및/또는 HC CDR3); 및/또는 표 6에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 또는 181268의 경쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, LC CDR1, LC CDR2 및/또는 LC CDR3); 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 실질적으로 동일한 서열 (예를 들어, 95-99% 동일, 또는 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 변화, 예를 들어, 치환 (예를 들어, 예를 들어, 보존적 치환))을 포함한다.
- [0082] 특정 실시양태에서, CLL-1 CAR 분자 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1 CAR 핵산 또는 CLL-1 CAR 폴리펩티드), 또는 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1 결합 도메인은 표 7에 제공된 중쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, HC CDR1, HC CDR2 및/또는 HC CDR3); 및/또는 표 8에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 또는 181268의 경쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, LC CDR1, LC CDR2 및/또는 LC CDR3); 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 실질적으로 동일한 서열 (예를 들어, 95-99% 동일, 또는 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 변화, 예를 들어, 치환 (예를 들어, 예를 들어, 보존적 치환))을 포함한다.
- [0083] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자 (예를 들어, CAR 핵산 또는 CAR 폴리펩티드)는
- [0084] (1) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 경쇄 (LC) CDR:
- [0085] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 156의 LC CDR1, 서열식별번호: 169의 LC CDR2 및 서열식별번호: 182의 LC CDR3;
- [0086] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 157의 LC CDR1, 서열식별번호: 170의 LC CDR2 및 서열식별번호: 183의 LC CDR3;
- [0087] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 158의 LC CDR1, 서열식별번호: 171의 LC CDR2 및 서열식별번호: 184의 LC CDR3;
- [0088] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 159의 LC CDR1, 서열식별번호: 172의 LC CDR2 및 서열식별번호: 185의 LC CDR3;
- [0089] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 160의 LC CDR1, 서열식별번호: 173의 LC CDR2 및 서열식별번호: 186의 LC CDR3;
- [0090] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 161의 LC CDR1, 서열식별번호: 174의 LC CDR2 및 서열식별번호: 187의 LC CDR3;
- [0091] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 162의 LC CDR1, 서열식별번호: 175의 LC CDR2 및 서열식별번호: 188의 LC CDR3;
- [0092] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 163의 LC CDR1, 서열식별번호: 176의 LC CDR2 및 서열식별번호: 189의 LC CDR3; 또는
- [0093] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 164의 LC CDR1, 서열식별번호: 177의 LC CDR2 및 서열식별번호: 190의 LC

CDR3;

- [0094] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 165의 LC CDR1, 서열식별번호: 178의 LC CDR2 및 서열식별번호: 191의 LC CDR3;
- [0095] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 166의 LC CDR1, 서열식별번호: 179의 LC CDR2 및 서열식별번호: 192의 LC CDR3;
- [0096] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 167의 LC CDR1, 서열식별번호: 180의 LC CDR2 및 서열식별번호: 193의 LC CDR3;
- [0097] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 168의 LC CDR1, 서열식별번호: 181의 LC CDR2 및 서열식별번호: 194의 LC CDR3;
- [0098] (xiv) 181286의 서열식별번호: 202의 LC CDR1, 서열식별번호: 203의 LC CDR2 및 서열식별번호: 204의 LC CDR3; 및/또는
- [0099] (2) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 중쇄 (HC) CDR:
- [0100] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 117의 HC CDR1, 서열식별번호: 130의 HC CDR2 및 서열식별번호: 143의 HC CDR3;
- [0101] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 118의 HC CDR1, 서열식별번호: 131의 HC CDR2 및 서열식별번호: 144의 HC CDR3;
- [0102] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 119의 HC CDR1, 서열식별번호: 132의 HC CDR2 및 서열식별번호: 145의 HC CDR3;
- [0103] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 120의 HC CDR1, 서열식별번호: 133의 HC CDR2 및 서열식별번호: 146의 HC CDR3;
- [0104] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 121의 HC CDR1, 서열식별번호: 134의 HC CDR2 및 서열식별번호: 147의 HC CDR3;
- [0105] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 122의 HC CDR1, 서열식별번호: 135의 HC CDR2 및 서열식별번호: 148의 HC CDR3;
- [0106] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 123의 HC CDR1, 서열식별번호: 136의 HC CDR2 및 서열식별번호: 149의 HC CDR3;
- [0107] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 124의 HC CDR1, 서열식별번호: 137의 HC CDR2 및 서열식별번호: 150의 HC CDR3; 또는
- [0108] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 125의 HC CDR1, 서열식별번호: 138의 HC CDR2 및 서열식별번호: 151의 HC CDR3;
- [0109] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 126의 HC CDR1, 서열식별번호: 139의 HC CDR2 및 서열식별번호: 152의 HC CDR3;
- [0110] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 127의 HC CDR1, 서열식별번호: 140의 HC CDR2 및 서열식별번호: 153의 HC CDR3;
- [0111] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 128의 HC CDR1, 서열식별번호: 141의 HC CDR2 및 서열식별번호: 154의 HC CDR3;
- [0112] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 129의 HC CDR1, 서열식별번호: 142의 HC CDR2 및 서열식별번호: 155의 HC CDR3;
- [0113] (xiv) 181286의 서열식별번호: 199의 HC CDR1, 서열식별번호: 200의 HC CDR2 및 서열식별번호: 201의 HC CDR3
- [0114] 을 포함한다.
- [0115] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자 (예를 들어, CAR 핵산 또는 CAR 폴리펩티드) 또는 CLL-1 결합 도메

인은

- [0116] (1) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 경쇄 (LC) CDR:
- [0117] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 356의 LC CDR1, 서열식별번호: 370의 LC CDR2 및 서열식별번호: 384의 LC CDR3;
- [0118] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 357의 LC CDR1, 서열식별번호: 371의 LC CDR2 및 서열식별번호: 385의 LC CDR3;
- [0119] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 358의 LC CDR1, 서열식별번호: 372의 LC CDR2 및 서열식별번호: 386의 LC CDR3;
- [0120] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 359의 LC CDR1, 서열식별번호: 373의 LC CDR2 및 서열식별번호: 387의 LC CDR3;
- [0121] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 360의 LC CDR1, 서열식별번호: 374의 LC CDR2 및 서열식별번호: 388의 LC CDR3;
- [0122] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 361의 LC CDR1, 서열식별번호: 375의 LC CDR2 및 서열식별번호: 389의 LC CDR3;
- [0123] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 362의 LC CDR1, 서열식별번호: 376의 LC CDR2 및 서열식별번호: 390의 LC CDR3;
- [0124] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 363의 LC CDR1, 서열식별번호: 377의 LC CDR2 및 서열식별번호: 391의 LC CDR3; 또는
- [0125] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 364의 LC CDR1, 서열식별번호: 378의 LC CDR2 및 서열식별번호: 392의 LC CDR3;
- [0126] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 365의 LC CDR1, 서열식별번호: 379의 LC CDR2 및 서열식별번호: 393의 LC CDR3;
- [0127] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 366의 LC CDR1, 서열식별번호: 380의 LC CDR2 및 서열식별번호: 394의 LC CDR3;
- [0128] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 367의 LC CDR1, 서열식별번호: 381의 LC CDR2 및 서열식별번호: 395의 LC CDR3;
- [0129] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 368의 LC CDR1, 서열식별번호: 382의 LC CDR2 및 서열식별번호: 396의 LC CDR3;
- [0130] (xiv) 181286의 서열식별번호: 369의 LC CDR1, 서열식별번호: 383의 LC CDR2 및 서열식별번호: 397의 LC CDR3; 및/또는
- [0131] (2) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 중쇄 (HC) CDR:
- [0132] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 314의 HC CDR1, 서열식별번호: 328의 HC CDR2 및 서열식별번호: 342의 HC CDR3;
- [0133] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 315의 HC CDR1, 서열식별번호: 329의 HC CDR2 및 서열식별번호: 343의 HC CDR3;
- [0134] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 316의 HC CDR1, 서열식별번호: 330의 HC CDR2 및 서열식별번호: 344의 HC CDR3;
- [0135] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 317의 HC CDR1, 서열식별번호: 331의 HC CDR2 및 서열식별번호: 345의 HC CDR3;
- [0136] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 318의 HC CDR1, 서열식별번호: 332의 HC CDR2 및 서열식별번호: 346의 HC CDR3;
- [0137] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 319의 HC CDR1, 서열식별번호: 333의 HC CDR2 및 서열식별번호: 347의 HC

CDR3;

- [0138] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 320의 HC CDR1, 서열식별번호: 334의 HC CDR2 및 서열식별번호: 348의 HC CDR3;
- [0139] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 321의 HC CDR1, 서열식별번호: 335의 HC CDR2 및 서열식별번호: 349의 HC CDR3; 또는
- [0140] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 322의 HC CDR1, 서열식별번호: 336의 HC CDR2 및 서열식별번호: 350의 HC CDR3;
- [0141] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 323의 HC CDR1, 서열식별번호: 337의 HC CDR2 및 서열식별번호: 351의 HC CDR3;
- [0142] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 324의 HC CDR1, 서열식별번호: 338의 HC CDR2 및 서열식별번호: 352의 HC CDR3;
- [0143] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 325의 HC CDR1, 서열식별번호: 339의 HC CDR2 및 서열식별번호: 353의 HC CDR3;
- [0144] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 326의 HC CDR1, 서열식별번호: 340의 HC CDR2 및 서열식별번호: 354의 HC CDR3;
- [0145] (xiv) 181286의 서열식별번호: 327의 HC CDR1, 서열식별번호: 341의 HC CDR2 및 서열식별번호: 355의 HC CDR3
- [0146] 을 포함한다.
- [0147] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자 (예를 들어, CAR 핵산 또는 CAR 폴리펩티드)는
- [0148] (1) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 경쇄 (LC) CDR:
- [0149] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 440의 LC CDR1, 서열식별번호: 454의 LC CDR2 및 서열식별번호: 468의 LC CDR3;
- [0150] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 441의 LC CDR1, 서열식별번호: 455의 LC CDR2 및 서열식별번호: 469의 LC CDR3;
- [0151] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 442의 LC CDR1, 서열식별번호: 456의 LC CDR2 및 서열식별번호: 470의 LC CDR3;
- [0152] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 443의 LC CDR1, 서열식별번호: 457의 LC CDR2 및 서열식별번호: 471의 LC CDR3;
- [0153] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 444의 LC CDR1, 서열식별번호: 458의 LC CDR2 및 서열식별번호: 472의 LC CDR3;
- [0154] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 445의 LC CDR1, 서열식별번호: 459의 LC CDR2 및 서열식별번호: 473의 LC CDR3;
- [0155] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 446의 LC CDR1, 서열식별번호: 460의 LC CDR2 및 서열식별번호: 474의 LC CDR3;
- [0156] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 447의 LC CDR1, 서열식별번호: 461의 LC CDR2 및 서열식별번호: 475의 LC CDR3; 또는
- [0157] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 448의 LC CDR1, 서열식별번호: 462의 LC CDR2 및 서열식별번호: 476의 LC CDR3;
- [0158] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 449의 LC CDR1, 서열식별번호: 463의 LC CDR2 및 서열식별번호: 477의 LC CDR3;
- [0159] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 450의 LC CDR1, 서열식별번호: 464의 LC CDR2 및 서열식별번호: 478의 LC CDR3;

- [0160] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 451의 LC CDR1, 서열식별번호: 465의 LC CDR2 및 서열식별번호: 479의 LC CDR3;
- [0161] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 452의 LC CDR1, 서열식별번호: 466의 LC CDR2 및 서열식별번호: 480의 LC CDR3;
- [0162] (xiv) 181286의 서열식별번호: 453의 LC CDR1, 서열식별번호: 467의 LC CDR2 및 서열식별번호: 481의 LC CDR3; 및/또는
- [0163] (2) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 중쇄 (HC) CDR:
- [0164] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 398의 HC CDR1, 서열식별번호: 412의 HC CDR2 및 서열식별번호: 426의 HC CDR3;
- [0165] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 399의 HC CDR1, 서열식별번호: 413의 HC CDR2 및 서열식별번호: 427의 HC CDR3;
- [0166] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 400의 HC CDR1, 서열식별번호: 414의 HC CDR2 및 서열식별번호: 428의 HC CDR3;
- [0167] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 401의 HC CDR1, 서열식별번호: 415의 HC CDR2 및 서열식별번호: 429의 HC CDR3;
- [0168] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 402의 HC CDR1, 서열식별번호: 416의 HC CDR2 및 서열식별번호: 430의 HC CDR3;
- [0169] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 403의 HC CDR1, 서열식별번호: 417의 HC CDR2 및 서열식별번호: 431의 HC CDR3;
- [0170] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 404의 HC CDR1, 서열식별번호: 418의 HC CDR2 및 서열식별번호: 432의 HC CDR3;
- [0171] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 405의 HC CDR1, 서열식별번호: 419의 HC CDR2 및 서열식별번호: 433의 HC CDR3; 또는
- [0172] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 406의 HC CDR1, 서열식별번호: 420의 HC CDR2 및 서열식별번호: 434의 HC CDR3;
- [0173] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 407의 HC CDR1, 서열식별번호: 421의 HC CDR2 및 서열식별번호: 435의 HC CDR3;
- [0174] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 408의 HC CDR1, 서열식별번호: 422의 HC CDR2 및 서열식별번호: 436의 HC CDR3;
- [0175] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 409의 HC CDR1, 서열식별번호: 423의 HC CDR2 및 서열식별번호: 437의 HC CDR3;
- [0176] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 410의 HC CDR1, 서열식별번호: 424의 HC CDR2 및 서열식별번호: 438의 HC CDR3;
- [0177] (xiv) 181286의 서열식별번호: 411의 HC CDR1, 서열식별번호: 425의 HC CDR2 및 서열식별번호: 439의 HC CDR3
- [0178] 을 포함한다.
- [0179] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질은 하기 기재된다. 본원에 언급된 모든 공개, 특허 출원, 특허, 및 다른 참고문헌은 그 전문이 참조로 포함된다. 또한, 물질, 방법 및 예는 단지 예시를 위한 것이며, 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 표제, 하위-표제 또는 숫자화 또는 문자화 요소, 예를 들어 (a), (b), (i) 등은 단지 읽기의 용이성을 위해 제시된다. 본 문서에서 표제 또는 숫자화 또는 문자화 요소의 사용은 단계 또는 요소가 알파벳 순서로 수행될 것 또는 단계 또는 요소가 반드시 서로 개별적일 것을 요구하지 않는다. 본 발명의 다른 특색, 목적 및 이점은 상세한 설명 및 도면으로부터, 및 청구범위로부터 명백해질 것

이다.

도면의 간단한 설명

[0180]

본 발명의 바람직한 실시양태의 하기 상세한 설명은 첨부된 도면과 함께 읽을 때 더 잘 이해될 것이다. 본 발명을 예시하기 위한 목적으로, 현재 바람직한 도면 실시양태로 제시된다. 그러나, 본 발명은 도면에 제시된 실시양태의 정확한 배열 및 수단으로 제한되지 않는다는 것을 이해해야 한다.

도 1a, 1b, 및 1c를 포함하는 도 1은 항-CLL-1 CAR로 형질도입된 JNL 세포주와 혼합된 표적-양성 (PL21, THP1, HL60, U937) 또는 표적-음성 (K562) 세포주에서의 루시페라제 수준을 입증하는 일련의 영상이다.

도 2a, 2b, 및 2c를 포함하는 도 2는 항-CLL-1 CAR로 형질도입된 JNL 세포주에서의 FACS에 의해 평가된 바와 같은 CAR 발현을 입증하는 일련의 영상이다.

도 3a 및 3b를 포함하는 도 3은 FACS로부터의 상대 형광 강도의 히스토그램 플롯이 형질도입된 T 세포의 백분율을 제시한다는 것을 입증하는 일련의 영상이다. 도 3a는 단백질 L을 사용한 1차 T 세포에서의 CART 발현의 검출을 제시한다. 도 3b는 재조합 CLL-1 단백질을 사용한 1차 T 세포에서의 CART 발현의 검출을 제시한다.

도 4a, 4b, 및 4c를 포함하는 도 4는 루시페라제화 PL21 (도 4a), HL60 (도 4b) 및 U87 세포 (도 4c)의 항-CLL-1 CART 세포 사멸을 입증하는 일련의 영상이다.

도 5a, 5b, 및 5c를 포함하는 도 5는 CART-CLL-1 세포에서의 시토카인 생산을 입증하는 일련의 영상이다. 비형질도입된 T 세포 (UTD)를 배경 T 세포 효과에 대한 비-특이적 대조군으로서 사용하였다. TNF-알파 (도 5a), IL-2 (도 5b), 및 인터페론 (IFN)-감마 (도 5c)를 측정하였다.

도 6은 CLL-1이 AML을 갖는 대부분의 원발성 환자 샘플에서 발현된다는 것을 입증하는 영상이다 (AML 모세포는 표준 측방 산란^지 CD45^{dim} 특징을 사용하여 게이팅됨). CLL-1은 상업적으로 입수가 가능한 항체 (클론 HIM3-4, 이바이오사이언스(eBioscience))를 사용하는 유동 세포측정법에 의해 측정되었다.

도 7a 및 7b를 포함하는 도 7은 CAR로 형질도입된 T 세포의 형질도입 효율을 입증하는 일련의 영상이다.

도 8a 및 8b를 포함하는 도 8은 CLL1-CART 세포가 CLL1+ 세포주 및 원발성 AML 샘플에 대해 특이적 탈과립화를 거친다는 것을 입증하는 일련의 영상이다. CD107a 탈과립화를 유동 세포측정법에 의해 측정하였다 (도 8a). CLL-1 CART 세포는 THP1 및 원발성 AML 샘플에 대해서는 특이적 탈과립화를 거쳤지만 대조군 세포주에 대해서는 그렇지 않았다 (도 8b).

도 9a 및 9b를 포함하는 도 9는 CLL1-CART 세포가 CLL1+ 세포주 및 원발성 AML 샘플과의 인큐베이션 후에 TNF-α를 생산한다는 것을 입증하는 일련의 영상이다.

도 10a 및 10b를 포함하는 도 10은 CLL1-CART 세포가 CLL1+ 세포주 및 원발성 AML 샘플과의 인큐베이션 후에 IL-2를 생산한다는 것을 입증하는 일련의 영상이다.

도 11a-11d를 포함하는 도 11은 CLL1-CART 세포가 CLL-1+ 세포주 MOLM14 및 THP-1 및 원발성 AML 샘플을 특이적으로 사멸시킨다는 것을 입증하는 일련의 영상이다. CLL1-CART 세포는 표시된 E:T 비에서 MOLM14 (도 11d), THP-1 (도 11a) 및 원발성 AML 샘플 (도 11b)의 특이적 용해를 발생시켰지만 대조군 세포주 JEKO (도 11c)는 그렇지 않았다.

도 12a 및 12b를 포함하는 도 12는 CLL1-CART 세포가 MOLM14, THP-1 및 원발성 AML 샘플에 반응하여 증식한다는 것을 입증하는 일련의 영상이다.

도 13은 자가 이중이식편을 사용하여 CLL-1 CART 세포의 조혈 줄기 세포 독성을 검정하는 것에 대한 개략적 다이어그램을 예시한 영상이다.

도 14a, 14b, 및 14c를 포함하는 도 14는 CLL-1이 인간화 마우스에서 상이한 골수계 세포 및 B 세포 상에서 발현된다는 것을 입증하는 일련의 영상이다. 1마리의 마우스의 말초 혈액 분석의 대표적인 FACS 플롯을 제시한다 (도 14a). CLL-1은 단핵구 (CD14+ 세포), 골수 세포 (CD33+ 및 CD123+ 세포), B 세포 (CD19+ 세포) 상에서 발현되지만, 혈소판 (CD41+ 세포) 또는 T 세포 (CD3+ 세포) 상에서는 발현되지 않는다. 대표적인 히스토그램 표현을 제시한다 (도 14b). 24마리의 마우스로부터의 말초 혈액 분석의 개략적 플롯 표현을 제시한다 (도 14c).

도 15a, 15b, 15c, 및 15d를 포함하는 도 15는 CLL-1이 인간화 마우스에서 상이한 골수계 세포 및 B 세포 상에

서 발현된다는 것을 입증하는 일련의 영상이다.

도 16a, 16b, 16c, 및 16d를 포함하는 도 16은 CLL-1이 인간화 마우스에서 상이한 골수 전구세포 및 조혈 줄기 세포 상에서 발현된다는 것을 입증하는 일련의 영상이다.

도 17은 인간화 면역계 (HIS) 이종이식편을 사용하여 CLL-1 CART 세포의 조혈 줄기 세포 독성을 검정하는 것에 대한 개략적 다이어그램을 예시한 영상이다.

도 18a 및 18b를 포함하는 도 18은 CLL-1 CAR T 세포 주입 4주 후의 골수 분석을 입증하는 일련의 영상이다. 유동 세포측정 분석을 CD34+CD38- 성분 (조혈 줄기 세포) (도 18a) 및 CD34+CD38+ 성분 (전구 세포) (도 18b)에서 수행하였다.

도 19a, 19b, 19c, 19d, 및 19e를 포함하는 도 19는 T 세포 4주 후 골수 분석을 입증하는 일련의 영상이다.

도 20은 T 세포 4주 후 HIS 마우스에서의 골수 분석을 입증하는 영상이다. HIS 이종이식편을 사용한 CLL1-CART 세포의 조혈 줄기 세포 독성.

도 21a, 21b, 21c, 21d, 및 21e를 포함하는 도 21은 T 세포 4주 후 HIS 마우스에서의 골수 분석을 입증하는 일련의 영상이다. 상이한 CART 세포로 처리된 마우스로부터의 골수의 대표적인 플롯을 제시한다.

도 22a 및 22b를 포함하는 도 22는 형질도입된 T 세포의 백분율을 제시하는 FACS 분석으로부터의 상대 형광 강도를 제시하는 일련의 히스토그램 플롯이다. 도 22a는 단백질 L을 사용한 1차 T 세포에서의 CART 발현의 검출을 제시한다. 도 22b는 재조합 CLL-1 단백질을 사용한 1차 T 세포에서의 CART 발현의 검출을 제시한다.

도 23a 및 23b를 포함하는 도 23은 표적 세포와 배양한 경우에 CLL-1 CART 세포의 증식 능력을 제시하는 2개의 그래프이다.

도 24는 CLL-1 CAR T 세포에 의한 처리 후 PL-21-luc 이종이식편 모델에서의 AML 질환 진행을 입증하는 그래프 표현이다. 종양 세포의 평균 생물발광 (+/- SEM)은 전체 동물에서의 질환 부담을 제시하고, 이는 전체 마우스 인 ROI (관심 영역)의 광자/초 (p/s)로서 제시된다.

도 25a 및 25b를 포함하는 도 25는 PL-21-luc 종양-보유 마우스의 말초 혈액에서의 $CD4^{+}$ (도 25a) 및 $CD8^{+}$ (도 25b) CAR^{+} T 세포의 정량화를 제시하는 2개의 그래프이다.

도 26a, 26b, 26c, 및 26d를 포함하는 도 26은 PL-21-luc 종양-보유 마우스의 골수에서의 $CD4^{+}$ T 세포 (도 26a), $CD4^{+}$ CLL-1 CAR-발현 T 세포 (도 26b), $CD8^{+}$ T 세포 (도 26c), 및 $CD8^{+}$ CLL-1 CAR-발현 T 세포 (도 26d)를 정량화한 막대 그래프이다. 백만개의 골수 세포당 평균 T 세포 수 (+/- SEM)를 제시한다. 유의성은 일원 ANOVA에 의해 계산하고, * $P<0.05$ 및 ** $P<0.01$ 로 나타낸다.

도 27a, 27b, 27c, 및 27d를 포함하는 도 27은 PL-21-luc 종양-보유 마우스의 비장에서의 $CD4^{+}$ T 세포 (도 27a), $CD4^{+}$ CLL-1 CAR-발현 T 세포 (도 27b), $CD8^{+}$ T 세포 (도 27c), 및 $CD8^{+}$ CLL-1 CAR-발현 T 세포 (도 27d)를 정량화한 막대 그래프이다. 백만개의 비장세포당 평균 T 세포 수 (+/- SEM)를 제시한다. 유의성은 일원 ANOVA에 의해 계산하고, * $P<0.05$ 및 ** $P<0.01$ 로 나타낸다.

도 28a, 28b, 28c, 및 28d를 포함하는 도 28은 유도 화학요법에 이어 CLL1-CART 세포에 의한 처리가 원발성 AML 이종이식편에서 백혈병성 근절을 발생시킨다는 것을 제시한다. 도 28a는 원발성 AML 이종이식편에서의 화학요법 및 CLL-1-CART 세포의 조합 요법에 대한 실험 개요를 예시하는 개략도이다. 도 28b는 백혈병성 세포 (살아있는 huCD45dim 구획)에서의 CLL1의 평균 형광 강도 (MFI)를 제시하는 막대 그래프이다. 도 28c는 표시된 바와 같은 AML 주사 후 상이한 시점에서의 말초 혈액 1 μ l당 말초 혈액 백혈병성 모세포 카운트의 정량화를 제시하는 그래프이다 (평균 +/- SD). 화살표는 Ara-C (회색 화살표)의 투여 및 T 세포 (비형질도입된 또는 CLL-1 CAR-발현 T 세포, 흑색 화살표)의 투여를 나타낸다. 도 28d는 AML 이종이식편의 생존을 제시하는 그래프이다.

도 29a, 29b, 29c, 29d, 및 29e를 포함하는 도 29는 단일 벡터 상에서의 다양한 구성을 제시하며, 예를 들어 여기서 U6 조절 shRNA는 EF1 알파 조절 CAR 코딩 요소의 상류 또는 하류에 있다. 도 29a 및 29b에 도시된 예시적인 구축물에서, 전사는 U6 및 EF1 알파 프로모터를 통해 동일한 방향으로 일어난다. 도 29c 및 29d에 도시된 예시적인 구축물에서, 전사는 U6 및 EF1 알파 프로모터를 통해 상이한 방향으로 일어난다. 도 29e에서, shRNA (및 상응하는 U6 프로모터)는 제1 벡터 상에 존재하고, CAR (및 상응하는 EF1 알파 프로모터)은 제2 벡터 상에

존재한다.

도 30은 2종의 예시적인 RCAR 구성의 구조를 도시한다. 항원 결합 구성원은 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 스위치 도메인을 포함한다. 세포내 결합 구성원은 스위치 도메인, 공동-자극 신호전달 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함한다. 2종의 구성은 본원에 기재된 제1 및 제2 스위치 도메인이 항원 결합 구성원 및 세포내 결합 구성원과 관련하여 상이한 배향으로 존재할 수 있음을 입증한다. 다른 RCAR 구성이 본원에 추가로 기재되어 있다.

도 31은 CAR-발현, 형질도입된 T 세포의 증식이 세포 배양 시스템에서 낮은 용량의 RAD001에 의해 증진된다는 것을 제시한다. CART를 상이한 농도의 RAD001의 존재 하에 NaIm-6 세포와 공동-배양하였다. CAR-양성 CD3-양성 T 세포 (흑색) 및 총 T 세포 (회색)의 수를 공동-배양 4일 후에 평가하였다.

도 32는 0.3, 1, 3, 및 10 mg/kg (mpk)으로의 매일 RAD001 투여 또는 비히클 투여에 의한 NALM6-luc 세포의 종양 성장 측정을 도시한다. 원형은 비히클을 나타내고; 사각형은 10 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; 삼각형은 3 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고, 역삼각형은 1 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; 다이아몬드형은 0.3 mg/kg 용량의 RAD001을 나타낸다.

도 33a 및 33b를 포함하는 도 33은 NALM6 종양을 갖는 NSG 마우스의 혈액 중 RAD001의 양을 제시하는 약동학 곡선을 제시한다. 도 33a는 RAD001의 제1 용량 후 제0일 PK를 제시한다. 도 33b는 최종 RAD001 용량 후 제14일 PK를 제시한다. 다이아몬드형은 10 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; 사각형은 1 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; 삼각형은 3 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; x형은 10 mg/kg 용량의 RAD001을 나타낸다.

도 34a 및 34b를 포함하는 도 34는 RAD001 투여의 존재 및 부재 하에서의 인간화 CD19 CART 세포의 생체내 증식을 제시한다. 매일 낮은 용량의 RAD001 (0.003 mg/kg)은 huCAR19 증식의 정상 수준을 초과하는 CAR T 세포 증식에서의 증진으로 이어진다. 도 34a는 CD4⁺ CAR T 세포를 제시하고; 도 34b는 CD8⁺ CAR T 세포를 제시한다. 원형은 PBS를 나타내고; 사각형은 huCTL019를 나타내고; 삼각형은 huCTL019와 3 mg/kg RAD001을 나타내고; 역삼각형은 huCTL019와 0.3 mg/kg RAD001을 나타내고; 다이아몬드형은 huCTL019와 0.03 mg/kg RAD001을 나타내고; 원형은 huCTL019와 0.003 mg/kg RAD001을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0181] 정의
- [0182] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다.
- [0183] 단수형태 용어는 문장의 하나 또는 하나 초과 (즉, 적어도 하나)의 문법적 대상을 지칭한다. 예로서, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 초과의 요소를 의미한다.
- [0184] 용어 "약"은, 측정가능한 값, 예컨대 양, 시간 기간 등을 언급하는 경우에 명시된 값으로부터 $\pm 20\%$, 또는 일부 경우에 $\pm 10\%$, 또는 일부 경우에 $\pm 5\%$, 또는 일부 경우에 $\pm 1\%$, 또는 일부 경우에 $\pm 0.1\%$ 의 변동을 포괄하는 것으로 의도되고, 이는 이러한 변동이 개시된 방법의 수행에 적절하기 때문이다.
- [0185] 용어 "키메라 항원 수용체" 또는 대안적으로 "CAR"은 적어도 세포의 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 하기 정의되는 바와 같은 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 신호전달 도메인 (본원에서 "세포내 신호전달 도메인"으로도 지칭됨)을 포함하는 재조합 폴리펩티드 구축물을 지칭한다. 일부 실시양태에서, CAR 폴리펩티드 구축물 내의 도메인은 동일한 폴리펩티드 쇄 내에 있고, 예를 들어 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR 폴리펩티드 구축물 내의 도메인은 서로 인접하지 않고, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 RCAR에 제공된 바와 같이, 예를 들어 상이한 폴리펩티드 쇄 내에 있다.
- [0186] 한 측면에서, CAR의 자극 분자는 T 세포 수용체 복합체와 회합된 제타 쇄이다. 한 측면에서, 세포질 신호전달 도메인은 1차 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3-제타의 1차 신호전달 도메인)을 포함한다. 한 측면에서, 세포질 신호전달 도메인은 하기 정의된 바와 같은 적어도 1개의 공동자극 분자로부터 유래된 1개 이상의 기능적 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 한 측면에서, 공동자극 분자는 4-1BB (즉, CD137), CD27, ICOS 및/또는 CD28로부터 선택된다. 한 측면에서, CAR은 세포의 항원 인식 도메인, 막횡단 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 한 측면에서, CAR은 세포의 항원 인식 도메인, 막횡단 도메인 및 공동-자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달

도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 한 측면에서, CAR은 세포외 항원 인식 도메인, 막횡단 도메인 및 하나 이상의 공동-자극 분자(들)로부터 유래된 2개의 기능적 신호전달 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 한 측면에서, CAR은 세포외 항원 인식 도메인, 막횡단 도메인 및 하나 이상의 공동-자극 분자(들)로부터 유래된 적어도 2개의 기능적 신호전달 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 한 측면에서, CAR은 CAR 융합 단백질의 아미노-말단 (N-ter)에서 임의적인 리더 서열을 포함한다. 한 측면에서, CAR은 세포외 항원 인식 도메인의 N-말단에 리더 서열을 추가로 포함하고, 여기서 리더 서열은 CAR의 세포 프로세싱 및 세포 막으로의 국재화 동안 항원 인식 도메인 (예를 들어, aa scFv)으로부터 임의로 절단된다.

[0187] 특이적 종양 마커 X (여기서 X는 본원에 기재된 바와 같은 종양 마커일 수 있음)에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인 (예를 들어 scFv, 단일 도메인 항체, 또는 TCR (예를 들어, TCR 알파 결합 도메인 또는 TCR 베타 결합 도메인))을 포함하는 CAR은 또한 XCAR로 지칭된다. 예를 들어, CLL-1에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR은 CLL-1 CAR로 지칭된다. CAR은 임의의 세포, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)에서 발현될 수 있다.

[0188] 용어 "신호전달 도메인"은 정보를 세포 내로 전달함으로써 제2 메신저를 생성하거나 또는 이러한 메신저에 반응하여 이펙터로서 기능함으로써 규정된 신호전달 경로를 통해 세포 활성을 조절하는 작용을 하는 단백질의 기능적 부분을 지칭한다.

[0189] 본원에 사용된 용어 "CLL-1"은 백혈병 전구체 세포 및 정상 면역 세포 상에서 검출가능한 항원 결정기인 C-유형 렉틴-유사 분자-1을 지칭한다. C-유형 렉틴-유사-1 (CLL-1)은 또한 MICL, CLEC12A, CLEC-1, 수지상 세포-연관 렉틴 1, 및 DCAL-2로도 공지되어 있다. 인간 및 무린 아미노산 및 핵산 서열은 공중 데이터베이스, 예컨대 진뱅크(GenBank), 유니프록트(UniProt) 및 스위스-프록트(Swiss-Prot)에서 확인할 수 있다. 예를 들어, 인간 CLL-1의 아미노산 서열은 유니프록트/스위스-프록트 수탁 번호 Q5QGZ9로서 확인할 수 있고, 인간 CLL-1을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 수탁 번호 NM 001207010.1, NM 138337.5, NM 201623.3, 및 NM 201625.1에서 확인할 수 있다. 한 실시양태에서, CAR의 항원-결합 부분은 CLL-1 단백질 또는 그의 단편의 세포외 도메인 내의 에피토프를 인식하고 결합한다. 한 실시양태에서, CLL-1 단백질은 암 세포 상에서 발현된다.

[0190] 본원에 사용된 용어 "항체"는 항원에 특이적으로 결합하는 이뮤노글로불린 분자로부터 유래된 단백질, 또는 폴리펩티드 서열을 지칭한다. 항체는 폴리클로날 또는 모노클로날, 다중 또는 단일 체, 또는 무손상 이뮤노글로불린일 수 있고, 천연 공급원으로부터 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 항체는 이뮤노글로불린 분자의 사량체일 수 있다.

[0191] 용어 "항체 단편"은 무손상 항체 또는 그의 재조합 변이체의 적어도 한 부분을 지칭하고, 표적, 예컨대 항원에 대한 항체 단편의 인식 및 특이적 결합을 부여하는데 충분한 항원 결합 도메인, 예를 들어 무손상 항체의 항원 결정 가변 영역을 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편, scFv 항체 단편, 선형 항체, 단일 도메인 항체, 예컨대 sdAb (VL 또는 VH), 낙타류 VHH 도메인, 및 항체 단편으로부터 형성된 다중-특이적 분자, 예컨대 힌지 영역에서 디설피드 가교에 의해 연결된 2개 이상, 예를 들어 2개의 Fab 단편을 포함하는, 또는 항체의 2개 이상, 예를 들어 2개의 단리된 CDR 또는 다른 에피토프 결합 단편이 연결된 2가 단편을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 항체 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv 내에 혼입될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005] 참조). 항체 단편은 또한, 피브로넥틴 유형 III (Fn3)과 같이, 폴리펩티드를 기반으로 하는 스캐폴드 내로 그래프팅될 수 있다 (피브로넥틴 폴리펩티드 미니바디를 기재한 미국 특허 번호 6,703,199 참조).

[0192] 용어 "scFv"는 경쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 1개의 항체 단편 및 중쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 1개의 항체 단편을 포함하는 융합 단백질을 지칭하며, 여기서 경쇄 및 중쇄 가변 영역은 짧은 가요성 폴리펩티드 링커를 통해 인접하여 연결되고, 단일 체 폴리펩티드로서 발현될 수 있고, 여기서 scFv는 그것이 유래된 무손상 항체의 특이성을 보유한다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 scFv는 VL 및 VH 가변 영역을 임의의 순서로 가질 수 있고, 예를 들어 폴리펩티드의 N-말단 및 C-말단 단부와 관련하여, scFv는 VL-링커-VH를 포함할 수 있거나 또는 VH-링커-VL을 포함할 수 있다.

[0193] 본원에 사용된 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 항원 특이성 및 결합 친화도를 부여하는 항체 가변 영역

내의 아미노산의 서열을 지칭한다. 예를 들어, 일반적으로, 각 중쇄 가변 영역 내에 3개의 CDR (예를 들어, HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3) 및 각 경쇄 가변 영역 내에 3개의 CDR (LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3)이 존재한다. 주어진 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌 [Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD ("카바트(Kabat)" 넘버링 스킴), Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948 ("코티아(Chothia)" 넘버링 스킴)]에 기재된 것을 비롯하여 널리 공지된 다수의 스킴 중 임의의 것 또는 그의 조합을 사용하여 결정될 수 있다. 카바트 넘버링 스킴 하에, 일부 실시양태에서, 중쇄 가변 도메인 (VH)에서의 CDR 아미노산 잔기는 31-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2) 및 95-102 (HCDR3)로 넘버링되고; 경쇄 가변 도메인 (VL)에서의 CDR 아미노산 잔기는 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2) 및 89-97 (LCDR3)로 넘버링된다. 코티아 넘버링 스킴 하에, 일부 실시양태에서, VH에서의 CDR 아미노산은 26-32 (HCDR1), 52-56 (HCDR2) 및 95-102 (HCDR3)로 넘버링되고; VL에서의 CDR 아미노산 잔기는 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) 및 91-96 (LCDR3)으로 넘버링된다. 조합된 카바트 및 코티아 넘버링 스킴에서, 일부 실시양태에서, CDR은 카바트 CDR, 코티아 CDR, 또는 둘 다의 일부인 아미노산 잔기에 상응한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, CDR은 VH, 예를 들어 포유동물 VH, 예를 들어 인간 VH에서 아미노산 잔기 26-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2), 및 95-102 (HCDR3)에 상응하고; VL, 예를 들어 포유동물 VL, 예를 들어 인간 VL에서 아미노산 잔기 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2), 및 89-97 (LCDR3)에 상응한다.

[0194] 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하는 본 발명의 CAR 조성물의 부분은, 예를 들어 항원 결합 도메인이 예를 들어 단일 도메인 항체 단편 (sdAb), 단일 쇠 항체 (scFv), 예를 들어 인간 항체를 비롯한 폴리펩티드 쇠의 부분으로서 발현되는 다양한 형태로 존재할 수 있다 (Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242:423-426). 한 측면에서, 본 발명의 CAR 조성물의 항원 결합 도메인은 항체 단편을 포함한다. 추가 측면에서, CAR은 scFv를 포함하는 항체 단편을 포함한다.

[0195] 본원에 사용된 용어 "결합 도메인" 또는 "항체 분자" (본원에서 "항-표적 (예를 들어, CLL-1) 결합 도메인"으로도 지칭됨)는 적어도 1개의 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 포함하는 단백질, 예를 들어 이뮤노글로불린 쇠 또는 그의 단편을 지칭한다. 용어 "결합 도메인" 또는 "항체 분자"는 항체 및 항체 단편을 포괄한다. 한 실시양태에서, 항체 분자는 다중특이적 항체 분자이고, 예를 들어 이는 복수개의 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 포함하며, 여기서 복수개 중 제1 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 제1 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖고, 복수개 중 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 제2 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖는다. 한 실시양태에서, 다중특이적 항체 분자는 이중특이적 항체 분자이다. 이중특이적 항체는 2개 이하의 항원에 대해 특이성을 갖는다. 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제1 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다.

[0196] 용어 "항체 중쇄"는 그의 자연 발생 입체형태로 항체 분자에 존재하고 통상적으로 항체가 속하는 부류를 결정하는, 폴리펩티드 쇠의 2개의 유형 중 더 큰 것을 지칭한다.

[0197] 용어 "항체 경쇄"는 그의 자연 발생 입체형태로 항체 분자에 존재하는 폴리펩티드 쇠의 2개의 유형 중 더 작은 것을 지칭한다. 카파 (κ) 및 람다 (λ) 경쇄는 2개의 주요 항체 경쇄 이소형을 지칭한다.

[0198] 용어 "재조합 항체"는 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성된 항체, 예컨대 예를 들어 박테리오파지 또는 효모 발현 시스템에 의해 발현된 항체를 지칭한다. 상기 용어는 또한 항체를 코딩하는 DNA 분자의 합성에 의해 생성된 항체를 의미하는 것으로 해석되어야 하고, DNA 분자는 항체 단백질, 또는 항체를 특정하는 아미노산 서열을 발현하며, 여기서 DNA 또는 아미노산 서열은 관련 기술분야에서 이용가능하고 널리 공지된 재조합 DNA 또는 아미노산 서열 기술을 사용하여 수득된다.

[0199] 용어 "항원" 또는 "Ag"는 면역 반응을 유발하는 분자를 지칭한다. 이러한 면역 반응은 항체 생산, 또는 특이적 면역학적-적격 세포의 활성화, 또는 둘 다를 수반할 수 있다. 통상의 기술자는 실질적으로 모든 단백질 또는 펩티드를 비롯한 임의의 거대분자가 항원으로서의 역할을 할 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 항원은 재조합 또는 게놈 DNA로부터 유래될 수 있다. 따라서, 통상의 기술자는 면역 반응을 도출하는 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열 또는 부분적인 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 임의의 DNA가, 본원에 사용된 용어 "항원"을 코딩함을 이해할 것이다. 또한, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 항원이 유전자의 전장 뉴클레오타이드 서열에 의해 서만 코딩될 필요는 없음을 이해할 것이다. 본 발명은 1개 초과 유전자의 부분적인 뉴클레오타이드 서열의 사용을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니고, 이들 뉴클레오타이드 서열은 목적하는 면역 반응을 도출하는 폴리펩티

드를 코딩하기 위해 다양한 조합으로 배열됨이 분명하다. 또한, 통상의 기술자는 항원이 "유전자"에 의해 코딩될 필요가 전혀 없음을 이해할 것이다. 항원은 합성되어 생성될 수 있거나 또는 생물학적 샘플로부터 유래될 수 있거나, 또는 폴리펩티드 이외의 거대분자일 수 있음이 분명하다. 이러한 생물학적 샘플은 조직 샘플, 종양 샘플, 세포 또는 다른 생물학적 성분을 갖는 유체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0200] 용어 "항종양 효과"는, 예를 들어 종양 부피의 감소, 종양 세포의 수의 감소, 전이의 수의 감소, 기대 수명의 증가, 종양 세포 증식의 감소, 종양 세포 생존의 감소, 또는 암성 상태와 연관된 다양한 생리학적 증상의 호전을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 다양한 수단에 의해 나타내질 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. "항종양 효과"는 또한 먼저 종양 발생의 예방에서 본 발명의 펩티드, 폴리뉴클레오티드, 세포 및 항체의 능력에 의해 나타내질 수 있다.

[0201] 용어 "자가"는 이후 개체에게 재도입될 예정인, 동일한 개체로부터 유래된 임의의 물질을 지칭한다.

[0202] 용어 "동종"은 물질이 도입되는 개체와 동일한 종의 상이한 동물로부터 유래된 임의의 물질을 지칭한다. 2종 이상의 개체는 1개 이상의 유전자좌에서의 유전자가 동일하지 않을 때 서로 동종인 것으로 언급된다. 일부 측면에서, 동일한 종의 개체로부터의 동종 물질은 항원과 상호작용하기에 유전적으로 충분히 다를 수 있다.

[0203] 용어 "이종"은 상이한 종의 동물로부터 유래된 이식편을 지칭한다.

[0204] 본원에 사용된 용어 "분리반출술"은 공여자 또는 환자의 혈액을 공여자 또는 환자에서 제거하고, 선택된 특정한 구성성분(들)을 분리하는 장치를 통과시켜, 나머지를 예를 들어 재수혈에 의해 공여자 또는 환자의 순환으로 되돌리는 기술분야-인식 제외 방법을 지칭한다. 따라서, 문맥상 "분리반출술 샘플"은 분리반출술을 사용하여 수득된 샘플을 지칭한다.

[0205] 용어 "조합물"은 하나의 투여 단위 형태의 고정 조합물, 또는 본 발명의 화합물과 조합 파트너 (예를 들어 하기 기재된 바와 같은 또 다른 약물, "치료제" 또는 "공동-작용제"로도 지칭됨)가 동시에 독립적으로, 또는 시간 간격 내에 개별적으로 (특히 이들 시간 간격이 조합 파트너가 협동 효과, 예를 들어 상승작용적 효과를 제시하도록 하는 경우) 투여될 수 있는 조합 투여를 지칭한다. 단일 성분은 키트 내에 또는 개별적으로 패키징될 수 있다. 성분 (예를 들어, 분말 또는 액체) 중 하나 또는 둘 다는 투여 전에 목적하는 용량으로 재구성되거나 희석될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "공-투여" 또는 "조합 투여" 등은 선택된 조합 파트너를 그를 필요로 하는 단일 대상체 (예를 들어 환자)에게 투여하는 것을 포괄하는 것으로 의도되고, 작용제들이 반드시 동일한 투여 경로에 의해 또는 동시에 투여되지는 않는 것인 치료 요법을 포함하는 것으로 의도된다. 본원에 사용된 용어 "제약 조합물"은, 1종 초과 활성 성분의 혼합 또는 조합으로부터 생성된 생성물을 의미하고, 활성 성분의 고정 및 비-고정 조합물 둘 다를 포함한다. 용어 "고정 조합물"은 활성 성분, 예를 들어 본 발명의 화합물 및 조합 파트너가 둘 다 단일 엔티티 또는 투여 형태로 환자에게 동시에 투여되는 것을 의미한다. 용어 "비-고정 조합물"은 활성 성분, 예를 들어 본 발명의 화합물 및 조합 파트너가 둘 다 별개의 엔티티로서 동시에, 공동으로, 또는 특정 시간 제한을 두지 않고 순차적으로 환자에게 투여되는 것을 의미하며, 여기서 이러한 투여는 환자의 신체에서 2종의 화합물을 치료 유효 수준으로 제공한다. 후자는 또한 각테일 요법, 예를 들어 3종 이상의 활성 성분의 투여에 적용된다.

[0206] 용어 "암"은 이상 세포의 신속 및 비제어 성장을 특징으로 하는 질환을 지칭한다. 암 세포는 국부로 또는 혈류 및 림프계를 통해 신체의 다른 부분으로 확산될 수 있다. 다양한 암의 예가 본원에 기재되어 있고, 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 췌장암, 결장직장암, 신암, 간암, 뇌암, 림프종, 백혈병, 폐암 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 용어 "종양" 및 "암"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, 예를 들어 둘 다의 용어는 고형 및 액상, 예를 들어 미만성 또는 순환성 종양을 포괄한다. 본원에 사용된 용어 "암" 또는 "종양"은 전암성, 뿐만 아니라 악성 암 및 종양을 포함한다.

[0207] 본원에 사용된 용어 "로부터 유래된"은 제1 및 제2 분자 사이의 관계를 나타낸다. 이는 일반적으로 제1 분자 및 제2 분자 사이의 구조적 유사성을 지칭하고, 제2 분자로부터 유래된 제1 분자에 대해 방법 또는 공급원 제한을 내포하거나 포함하지 않는다. 예를 들어, CD3제타 분자로부터 유래된 세포내 신호전달 도메인의 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 필요한 기능, 즉 적절한 조건 하에 신호를 생성하는 능력을 갖도록 충분한 CD3제타 구조를 보유한다. 이는 세포내 신호전달 도메인을 생성하는 특정한 방법에 대한 제한을 내포하거나 포함하지 않고, 예를 들어 세포내 신호전달 도메인을 제공하기 위해 반드시 CD3제타 서열로 출발하여, 원치않는 서열을 결실시키거나 또는 돌연변이를 부과하여 세포내 신호전달 도메인에 도달해야한다는 것을 의미하지 않는다.

[0208] 어구 "CLL-1의 발현과 연관된 질환"은 CLL-1을 발현하는 세포와 연관된 질환 또는 CLL-1을 발현하는 세포와 연

관된 상태, 예컨대 예를 들어 증식성 질환, 예컨대 암 또는 악성종양 또는 전암성 상태, 예컨대 골수이형성증, 골수이형성 증후군 또는 전백혈병; 또는 CLL-1 (예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 CLL-1)을 발현하는 세포와 연관된 비-암 관련 적응증을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 의심을 피하기 위해, CLL-1의 발현과 연관된 질환은 예를 들어 CLL-1을 표적화하는 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CLL-1 억제제에 의한 처리로 인해 예를 들어 CLL-1 발현이 하향조절되었지만 한때 CLL-1을 발현한, 현재 CLL-1을 발현하지 않는 세포와 연관된 상태를 포함할 수 있다. 한 측면에서, CLL-1의 발현과 연관된 암은 혈액암이다. 한 측면에서, 혈액암은 백혈병 (예컨대 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병 및 골수이형성 증후군), 및 림프종 (예컨대 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 버킷 림프종, 및 소세포- 및 대세포-여포성 림프종)을 비롯한 악성 림프증식성 상태를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. CLL-1의 발현과 연관된 추가의 질환은, 예를 들어 비정형 및/또는 비-전형적 암, 악성종양, 전암성 상태 또는 CLL-1의 발현과 연관된 증식성 질환을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. CLL-1의 발현과 연관된 비-암 관련 적응증이 또한 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 종양 항원-발현 세포는 종양 항원을 코딩하는 mRNA를 발현하거나 또는 임의의 시점에 발현하였다. 실시양태에서, 종양 항원-발현 세포는 종양 항원 단백질 (예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체)을 생산하고, 종양 항원 단백질은 정상 수준 또는 감소된 수준으로 존재할 수 있다. 한 실시양태에서, 종양 항원-발현 세포는 한 시점에 검출가능한 수준의 종양 항원 단백질을 생산하였고, 후속해서 실질적으로 전혀 검출불가능한 종양 항원 단백질을 생산하였다.

[0209] 용어 "보존적 서열 변형" 또는 "보존적 치환"은 아미노산 서열을 함유하는 항체 또는 항체 단편의 결합 특징에 유의한 영향을 미치지거나 변경하지 않는 아미노산 변형을 지칭한다. 이러한 보존적 변형은 아미노산 치환, 부가 및 결실을 포함한다. 변형은 관련 기술분야에 공지된 표준 기술, 예컨대 부위-지정 돌연변이유발 및 PCR-매개 돌연변이유발에 의해 본 발명의 항체 또는 항체 단편 내에 도입될 수 있다. 보존적 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 관련 기술분야에서 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 따라서, 본 발명의 CAR 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있고, 변경된 CAR은 본원에 기재된 기능적 검정을 사용하여 시험될 수 있다.

[0210] 용어 "자극"은 자극 분자 (예를 들어, TCR/CD3 복합체)가 그의 동족 리간드와 결합하여 신호 전달 사건, 예컨대 비제한적으로 TCR/CD3 복합체를 통한 신호 전달을 매개함으로써 유도되는 1차 반응을 지칭한다. 자극은 특정 분자의 변경된 발현, 예컨대 TGF- β 의 하향조절 및/또는 세포골격 구조의 재조직화 등을 매개할 수 있다.

[0211] 용어 "자극 분자"는 T 세포 신호전달 경로의 적어도 일부 측면에 대한 자극 방식에서 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절하는 1차 세포질 신호전달 서열(들)을 제공하는 T 세포에 의해 발현되는 분자를 지칭한다. 한 측면에서, 1차 신호는 예를 들어 펩티드로 로딩된 MHC 분자와 TCR/CD3 복합체의 결합에 의해 개시되고, 이것은 증식, 활성화, 분화 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 T 세포 반응의 매개로 이어진다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포질 신호전달 서열 ("1차 신호전달 도메인"으로도 지칭됨)은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호전달 모티프를 함유할 수 있다. 본 발명에서 특히 유용한 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 TCR 제타, Fc γ R 감마, Fc γ R 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"로도 공지됨), Fc ϵ RI, CD66d, DAP10, 및 DAP12로부터 유래된 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 특정 CAR에서, 본 발명의 임의의 1종 이상의 CAR 내의 세포내 신호전달 도메인은 세포내 신호전달 서열, 예를 들어 CD3-제타의 1차 신호전달 서열을 포함한다. 본 발명의 특정 CAR에서, CD3-제타의 1차 신호전달 서열은 서열식별번호: 9로서 제공된 서열, 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기이다. 본 발명의 특정 CAR에서, CD3-제타의 1차 신호전달 서열은 서열식별번호: 10에 제공된 서열, 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기이다.

[0212] 용어 "항원 제시 세포" 또는 "APC"는 그의 표면 상에 주요 조직적합성 복합체 (MHC)와 복합체화된 외래 항원을 디스플레이하는 면역계 세포, 예컨대 보조 세포 (예를 들어, B-세포, 수지상 세포 등)를 지칭한다. T-세포는 그의 T-세포 수용체 (TCR)를 사용하여 이들 복합체를 인식할 수 있다. APC는 항원을 프로세싱하고, 이를 T-세포에 제시한다.

- [0213] 본원에 사용된 용어 "세포내 신호전달 도메인"은 분자의 세포내 부분을 지칭한다. 세포내 신호전달 도메인은 CAR 함유 세포, 예를 들어 CART 세포의 면역 이펙터 기능을 촉진하는 신호를 생성한다. 예를 들어 CART 세포에서 면역 이펙터 기능의 예는 시토카인의 분비를 비롯하여 세포용해 활성 및 헬퍼 활성을 포함한다. 실시양태에서, 세포내 신호 도메인은 이펙터 기능 신호를 전달하고, 세포가 전문화된 기능을 수행하도록 지시한다. 전체 세포내 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에서 전체 쇄를 사용할 필요는 없다. 세포내 신호전달 도메인의 말단절단된 부분이 사용되는 정도로, 이러한 말단절단된 부분은 이펙터 기능 신호를 전달하는 한 무손상 쇄 대신 사용될 수 있다. 용어 세포내 신호전달 도메인은 따라서 이펙터 기능 신호를 전달하는데 충분한 세포내 신호전달 도메인의 임의의 말단절단된 부분을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0214] 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 예시적인 1차 세포내 신호전달 도메인은 1차 자극, 또는 항원 의존성 자극을 담당하는 분자로부터 유래된 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 세포내 도메인을 포함할 수 있다. 예시적인 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 신호, 또는 항원 비의존성 자극을 담당하는 분자로부터 유래된 것을 포함한다. 예를 들어, CART의 경우에, 1차 세포내 신호전달 도메인은 T 세포 수용체의 세포질 서열을 포함할 수 있고, 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 보조-수용체 또는 공동자극 분자로부터의 세포질 서열을 포함할 수 있다.
- [0215] 1차 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호전달 모티프를 포함할 수 있다. 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 CD3 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"로도 공지됨), Fc ϵ RI, CD66d, DAP10 및 DAP12로부터 유래된 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0216] 용어 "제타" 또는 대안적으로 "제타 쇄", "CD3-제타" 또는 "TCR-제타"는 진뱅크 수탁 번호 BAG36664.1로서 제공된 단백질 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기로서 정의되고, "제타 자극 도메인" 또는 대안적으로 "CD3-제타 자극 도메인" 또는 "TCR-제타 자극 도메인"은 T 세포 활성화를 위해 필요한 초기 신호를 기능적으로 전달하기에 충분한 제타 쇄의 세포질 도메인으로부터의 아미노산 잔기로서 정의된다. 한 측면에서, 제타의 세포질 도메인은 진뱅크 수탁 번호 BAG36664.1의 잔기 52 내지 164, 또는 그의 기능적 오르토로그인 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기를 포함한다. 한 측면에서, "제타 자극 도메인" 또는 "CD3-제타 자극 도메인"은 서열식별번호: 9로서 제공된 서열이다. 한 측면에서, "제타 자극 도메인" 또는 "CD3-제타 자극 도메인"은 서열식별번호: 10로서 제공된 서열이다.
- [0217] 용어 "공동자극 분자"는 공동자극 리간드에 특이적으로 결합하여, T 세포에 의한 공동자극 반응, 예컨대 비제한적으로 증식을 매개하는 T 세포 상의 동족 결합 파트너를 지칭한다. 공동자극 분자는 효율적인 면역 반응에 필요한 항원 수용체 이외의 다른 세포 표면 분자 또는 그의 리간드이다. 공동자극 분자는 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0218] 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 분자의 세포내 부분을 지칭한다.
- [0219] 세포내 신호전달 도메인은 그것이 유래된 분자의 전체 세포내 부분, 또는 전체 천연 세포내 신호전달 도메인, 또는 그의 기능적 단편을 포함할 수 있다.
- [0220] 용어 "4-1BB"는 진뱅크 수탁 번호 AAA62478.2로서 제공된 아미노산 서열, 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기를 갖는 TNFR 슈퍼패밀리의 구성원을 지칭하고; "4-1BB 공동자극 도메인"은 진뱅크 수탁 번호 AAA62478.2의 아미노산 잔기 214-255, 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기로서 정의된다. 한 측면에서, "4-1BB 공동자극 도메인"은 서열식별번호: 7로서 제공된 서열 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동

등한 잔기이다.

- [0221] 본원에 사용된 용어 "면역 이펙터 세포"는 면역 반응, 예를 들어 면역 이펙터 반응의 촉진에 관여하는 세포를 지칭한다. 면역 이펙터 세포의 예는 T 세포, 예를 들어 알파/베타 T 세포 및 감마/델타 T 세포, B 세포, 자연 킬러 (NK) 세포, 자연 킬러 T (NKT) 세포, 비만 세포 및 골수-유래 식세포를 포함한다.
- [0222] 본원에 사용된 용어 "면역 이펙터 기능 또는 면역 이펙터 반응"은, 예를 들어 표적 세포의 면역 공격을 증진시키거나 촉진하는 면역 이펙터 세포의 기능 또는 반응을 지칭한다. 예를 들어, 면역 이펙터 기능 또는 반응은 표적 세포의 사멸, 또는 성장 또는 증식의 억제를 촉진하는 T 또는 NK 세포의 특성을 지칭한다. T 세포의 경우에, 1차 자극 및 공동자극은 면역 이펙터 기능 또는 반응의 예이다.
- [0223] 용어 "이펙터 기능"은 세포의 전문화된 기능을 지칭한다. T 세포의 이펙터 기능은, 예를 들어 시토카인의 분비를 비롯하여 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다.
- [0224] 용어 "코딩하는"은 뉴클레오타이드 (예를 들어, rRNA, tRNA 및 mRNA)의 규정된 서열 또는 아미노산의 규정된 서열 및 그로부터 생성된 생물학적 특성을 갖는, 생물학적 과정에서 다른 중합체 및 거대분자의 합성을 위한 주형으로서 기능하는 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 유전자, cDNA, 또는 mRNA 내의 뉴클레오타이드의 특정 서열의 고유한 특성을 지칭한다. 따라서, 유전자, cDNA, 또는 RNA는 그러한 유전자에 상응하는 mRNA의 전사 및 번역이 세포 또는 다른 생물학적 시스템에서 단백질을 생산할 경우에 단백질을 코딩한다. 그의 뉴클레오타이드 서열이 mRNA 서열과 동일하고 통상적으로 서열 목록에서 제공되는 코딩 가닥, 및 유전자 또는 cDNA의 전사를 위한 주형으로 사용되는 비-코딩 가닥 둘 다는 그러한 유전자 또는 cDNA의 단백질 또는 다른 산물을 코딩하는 것으로서 지칭될 수 있다.
- [0225] 달리 명시되지 않는 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열"은, 서로 축중성 버전이고 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 모든 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 어구 단백질 또는 RNA를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 또한 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열이 일부 버전에서 인트론(들)을 함유할 수 있는 정도로 인트론을 포함할 수 있다.
- [0226] 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 본원에 기재된 바와 같이 특정한 생물학적 결과를 달성하는데 유효한 화합물, 제제, 물질, 또는 조성물의 양을 지칭한다.
- [0227] 용어 "내인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템으로부터의, 또는 그 내부에서 생산된 임의의 물질을 지칭한다.
- [0228] 용어 "외인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템의 외부로부터 도입되거나 외부에서 생산된 임의의 물질을 지칭한다.
- [0229] 용어 "발현"은 프로모터에 의해 유도되는 특정한 뉴클레오타이드 서열의 전사 및/또는 번역을 지칭한다.
- [0230] 용어 "전달 벡터"는 단리된 핵산을 포함하고 단리된 핵산을 세포의 내부에 전달하기 위해 사용될 수 있는 물질의 조성물을 지칭한다. 선형 폴리뉴클레오타이드, 이온성 또는 친양쪽성 화합물과 회합된 폴리뉴클레오타이드, 플라스미드, 및 바이러스를 포함하나 이에 제한되지는 않는 수많은 벡터가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 따라서, 용어 "전달 벡터"는 자율 복제 플라스미드 또는 바이러스를 포함한다. 상기 용어는 또한 핵산의 세포 내로의 전달을 용이하게 하는 비-플라스미드 및 비-바이러스 화합물, 예컨대 예를 들어 폴리리신 화합물, 리포솜 등을 추가로 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 바이러스 전달 벡터의 예는 아데노바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0231] 용어 "발현 벡터"는 발현시킬 뉴클레오타이드 서열에 작동가능하게 연결된 발현 제어 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 지칭한다. 발현 벡터는 발현을 위한 충분한 시스-작용 요소를 포함하고; 발현을 위한 다른 요소는 숙주 세포에 의해 또는 시험관내 발현 시스템에서 공급될 수 있다. 발현 벡터는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 코스미드, 플라스미드 (예를 들어, 네이키드이거나 또는 리포솜 내에 포함됨) 및 바이러스 (예를 들어, 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 및 아데노-연관 바이러스)를 포함하는 관련 기술분야에 공지된 모든 것을 포함한다.
- [0232] 용어 "렌티바이러스"는 레트로비리다에(Retroviridae) 패밀리의 속을 지칭한다. 렌티바이러스는 비-분열 세포를 감염시킬 수 있다는 점에서 레트로바이러스 중에서 특유한 것이고; 유의한 양의 유전자 정보를 숙주 세포의 DNA 내로 전달할 수 있고, 따라서 유전자 전달 벡터의 가장 효율적인 방법 중 하나이다. HIV, SIV, 및 FIV가

렌티바이러스의 모든 예이다.

- [0233] 용어 "렌티바이러스 벡터"는 특히 문헌 [Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)]에서 제공되는 바와 같은 자기-불활성화 렌티바이러스 벡터를 비롯한, 렌티바이러스 게놈의 적어도 일부로부터 유래된 벡터를 지칭한다. 임상에서 사용될 수 있는 렌티바이러스 벡터의 다른 예는, 예를 들어 옥스포드 바이오메디카(Oxford BioMedica)로부터의 렌티벡터(LENTIVECTOR)® 유전자 전달 기술, 렌티젠(Lentigen)으로부터의 렌티맥스(LENTIMAX)™ 벡터 시스템 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 비임상 유형의 렌티바이러스 벡터가 또한 이용가능하고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있을 것이다.
- [0234] 용어 "상동성" 또는 "동일성"은 2개의 중합체 분자 사이, 예를 들어 2개의 핵산 분자, 예컨대, 2개의 DNA 분자 또는 2개의 RNA 분자 사이, 또는 2개의 폴리펩티드 분자 사이의 서브유닛 서열 동일성을 지칭한다. 2개의 분자들 다 내의 서브유닛 위치가 동일한 단량체 서브유닛에 의해 점유된 경우; 예를 들어, 각각의 2개의 DNA 분자 내의 위치가 아데닌에 의해 점유된 경우에, 이들은 그 위치에서 상동이거나 동일하다. 2개의 서열 사이의 상동성은 매칭되는 또는 상동성 위치의 수의 직접적인 함수이고; 예를 들어, 2개의 서열 내의 위치의 절반 (예를 들어, 중합체 10개 서브유닛 길이 내의 5개의 위치)이 상동성일 경우에, 2개의 서열은 50% 상동성이고; 90%의 위치 (예를 들어, 10개 중 9개)가 매칭되거나 상동성일 경우에, 2개의 서열은 90% 상동성이다.
- [0235] 비-인간 (예를 들어, 무린) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린 쇄 또는 그의 단편 (예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열)이다. 대개, 인간화 항체 및 그의 항체 단편은 수용자의 상보성-결정 영역 (CDR)으로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화도, 및 능력을 갖는 비-인간 중 (공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기로 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체 또는 항체 단편)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체/항체 단편은 수용자 항체에서도, 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도, 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 또는 항체 단편 성능을 추가로 정밀화하고 최적화할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체 또는 그의 항체 단편은 적어도 하나의, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 그것에 상응하고, FR 영역의 모든 또는 유의한 부분은 인간 이뮤노글로불린 서열의 그것이다. 인간화 항체 또는 항체 단편은 또한 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 그것을 포함할 수 있다. 추가의 세부사항에 대해서는, 문헌 [Jones et al., Nature, 321: 522-525, 1986; Reichmann et al., Nature, 332: 323-329, 1988; Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596, 1992]을 참조한다.
- [0236] "완전 인간"은 전체 분자가 인간 기원이거나 또는 항체 또는 이뮤노글로불린의 인간 형태와 동일한 아미노산 서열로 이루어진 이뮤노글로불린, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.
- [0237] 용어 "단리된"은 천연 상태에서부터 변경되거나 제거됨을 의미한다. 예를 들어, 살아있는 동물에 천연적으로 존재하는 핵산 또는 펩티드는 "단리된" 것이 아니지만, 그의 천연 상태의 공존하는 물질로부터 부분적으로 또는 완전히 분리된 동일한 핵산 또는 펩티드는 "단리된" 것이다. 단리된 핵산 또는 단백질은 실질적으로 정제된 형태로 존재할 수 있거나, 또는 예를 들어 숙주 세포와 같은 비-천연 환경에 존재할 수 있다.
- [0238] 본 발명의 문맥에서, 통상적으로 발생하는 핵산 염기에 대해 하기 약어가 사용된다. "A"는 아데노신을 지칭하고, "C"는 시토신을 지칭하고, "G"는 구아노신을 지칭하고, "T"는 티미딘을 지칭하고, "U"는 우리딘을 지칭한다.
- [0239] 용어 "작동가능하게 연결된" 또는 "전사 제어"는 조절 서열과 이중 핵산 서열 사이의 기능적 연결을 지칭하며, 후자의 발현을 야기한다. 예를 들어, 제1 핵산 서열은 제1 핵산 서열이 제2 핵산 서열과 기능적 관계로 위치하는 경우에 제2 핵산 서열과 작동가능하게 연결된 것이다. 예를 들어, 프로모터는 프로모터가 코딩 서열의 전사 또는 발현에 영향을 미치는 경우에 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 것이다. 작동가능하게 연결된 DNA 서열은 서로 인접할 수 있고, 예를 들어 2개의 단백질 코딩 영역을 연결하기 위해 필요한 경우에, 동일한 리딩 프레임 내에 존재한다.
- [0240] 용어 면역원성 조성물의 "비경구" 투여는, 예를 들어 피하 (s.c.), 정맥내 (i.v.), 근육내 (i.m.), 또는 흉골내 주사, 종양내, 또는 주입 기술을 포함한다.
- [0241] 용어 "핵산" 또는 "폴리뉴클레오티드"는 단일- 또는 이중-가닥 형태의 데옥시리보핵산 (DNA) 또는 리보핵산 (RNA) 및 그의 중합체를 지칭한다. 구체적으로 제한되지 않는 한, 이 용어는 참조 핵산과 유사한 결합 특성을

갖고 자연 발생 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는 천연 뉴클레오티드의 공지된 유사체를 함유하는 핵산을 포괄한다. 달리 나타내지 않는 한, 특정한 핵산 서열은 또한 명확하게 나타낸 서열 뿐만 아니라 그의 보존적으로 변형된 변이체 (예를 들어, 축중성 코돈 치환), 대립유전자, 오르토로그, SNP, 및 상보적 서열을 함축적으로 포괄한다. 구체적으로, 축중성 코돈 치환은 1개 이상의 선택된 (또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 테옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다 (Batzner et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); 및 Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)).

[0242] 용어 "펩티드", "폴리펩티드", 및 "단백질"은 상호교환가능하게 사용되고, 펩티드 결합에 의해 공유 연결된 아미노산 잔기를 포함하는 화합물을 지칭한다. 단백질 또는 펩티드는 적어도 2개의 아미노산을 함유하여야 하고, 단백질 또는 펩티드 서열을 구성할 수 있는 아미노산의 최대 수에 대한 제한은 존재하지 않는다. 폴리펩티드는 펩티드 결합에 의해 서로 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 임의의 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 본원에 사용된 상기 용어는 관련 기술분야에서 예를 들어 펩티드, 올리고펩티드 및 올리고머로도 통상적으로 지칭되는 짧은 쇠, 및 많은 종류가 존재하는, 일반적으로 관련 기술분야에서 단백질로 지칭되는 더 긴 쇠 둘 다를 지칭한다. "폴리펩티드"는 특히, 예를 들어 생물학적 활성 단편, 실질적으로 상동성 폴리펩티드, 올리고펩티드, 동종이량체, 이종이량체, 폴리펩티드의 변이체, 변형된 폴리펩티드, 유도체, 유사체, 융합 단백질을 포함한다. 폴리펩티드는 천연 펩티드, 재조합 펩티드, 또는 그의 조합을 포함한다.

[0243] 용어 "프로모터"는 폴리뉴클레오티드 서열의 특이적 전사를 개시하는데 필요한, 세포의 합성 기구 또는 도입된 합성 기구에 의해 인식되는 DNA 서열을 지칭한다.

[0244] 용어 "프로모터/조절 서열"은 프로모터/조절 서열에 작동가능하게 연결된 유전자 산물의 발현을 위해 필요한 핵산 서열을 지칭한다. 일부 경우에, 이 서열은 코어 프로모터 서열일 수 있고, 다른 예에서 이 서열은 또한 인핸서 서열, 및 유전자 산물의 발현을 위해 필요한 다른 조절 요소를 포함할 수 있다. 프로모터/조절 서열은 예를 들어 조직 특이적 방식으로 유전자 산물을 발현하는 것일 수 있다.

[0245] 용어 "구성적" 프로모터는, 유전자 산물을 코딩하거나 특정하는 폴리뉴클레오티드와 작동가능하게 연결된 경우에 유전자 산물이 세포의 대부분의 또는 모든 생리학적 조건 하에 세포에서 생산되도록 하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0246] 용어 "유도성" 프로모터는, 유전자 산물을 코딩하거나 특정하는 폴리뉴클레오티드와 작동가능하게 연결된 경우에 실질적으로 프로모터에 상응하는 유도인자가 세포에 존재할 때에만 유전자 산물이 세포에서 생산되도록 하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0247] 용어 "조직-특이적" 프로모터는, 유전자에 의해 코딩되거나 특정되는 폴리뉴클레오티드와 작동가능하게 연결된 경우에 실질적으로 세포가 프로모터에 상응하는 조직 유형의 세포인 경우에만 유전자 산물이 세포에서 생산되도록 하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0248] scFv와 관련하여 사용된 용어 "가요성 폴리펩티드 링커" 또는 "링커"는 가변 중쇄 및 가변 경쇄 영역을 함께 연결하기 위해 단독으로 또는 조합되어 사용되는 아미노산, 예컨대 글리신 및/또는 세린 잔기로 이루어진 펩티드 링커를 지칭한다. 한 실시양태에서, 가요성 폴리펩티드 링커는 Gly/Ser 링커이고, 아미노산 서열 (Gly-Gly-Gly-Ser)_n (서열식별번호: 38)을 포함하며, 여기서 n은 1 이상의 양의 정수이다. 예를 들어, n=1, n=2, n=3, n=4, n=5 및 n=6, n=7, n=8, n=9 및 n=10이다. 한 실시양태에서, 가요성 폴리펩티드 링커는 (Gly₄ Ser)₄ (서열식별번호: 27) 또는 (Gly₄ Ser)₃ (서열식별번호: 28)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 또 다른 실시양태에서, 링커는 (Gly₂Ser), (GlySer) 또는 (Gly₃Ser) (서열식별번호: 29)의 다중 반복부를 포함한다. 또한, 본원에 참조로 포함되는 W02012/138475에 기재된 링커가 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0249] 본원에 사용된 5' 캡 (RNA 캡, RNA 7-메틸구아노신 캡 또는 RNA m⁷G 캡으로도 불림)은 전사 개시 직후에 진행 메신저 RNA의 "전면" 또는 5' 말단에 부가된 변형된 구아닌 뉴클레오티드이다. 5' 캡은 제1 전사되는 뉴클레오티드에 연결된 말단 기로 이루어진다. 그의 존재는 리보솜에 의한 인식 및 RNase로부터의 보호를 위해 중요하다. 캡 부가는 전사와 커플링되고, 각각 서로 영향을 미치도록 공동-전사 방식으로 발생한다. 전사 개시 직후에, 합성 중인 mRNA의 5' 말단은 RNA 폴리머라제와 회합된 캡-합성 복합체에 의해 결합된다. 이러한 효소 복합체는 mRNA 캡핑에 필요한 화학 반응을 촉매한다. 합성은 다단계 생화학적 반응으로서 진행된다. 캡핑 모이어티는 mRNA의 기능성, 예컨대 그의 안정성 또는 번역 효율을 조정하도록 변형될 수 있다.

- [0250] 본원에 사용된 "시험관내 전사된 RNA"는 시험관내에서 합성된 RNA, 바람직하게는 mRNA를 지칭한다. 일반적으로, 시험관내 전사된 RNA는 시험관내 전사 벡터로부터 생성된다. 시험관내 전사 벡터는 시험관내 전사된 RNA를 생성하기 위해 사용되는 주형을 포함한다.
- [0251] 본원에 사용된 "폴리(A)"는 폴리아데닐화에 의해 mRNA에 부착된 일련의 아데노신이다. 일시적 발현을 위한 구축물의 바람직한 실시양태에서, 폴리A는 50 내지 5000개 (서열식별번호: 30), 바람직하게는 64개 초과, 보다 바람직하게는 100개 초과, 가장 바람직하게는 300 또는 400개 초과이다. 폴리(A) 서열은 mRNA 기능성, 예컨대 국제화, 안정성 또는 번역 효율을 조정하기 위해 화학적으로 또는 효소적으로 변형될 수 있다.
- [0252] 본원에 사용된 "폴리아데닐화"는 폴리아데닐릴 모이어티, 또는 그의 변형된 변이체의 메신저 RNA 분자에 대한 공유 연결을 지칭한다. 진핵 유기체 내에서, 대부분의 메신저 RNA (mRNA) 분자는 3' 말단에서 폴리아데닐화된다. 3' 폴리(A) 테일은 효소, 폴리아데닐레이트 폴리머라제의 작용을 통해 프리-mRNA에 부가된 아데닌 뉴클레오타이드 (종종 수백 개)의 긴 서열이다. 고등 진핵생물에서, 폴리(A) 테일은 특정 서열, 폴리아데닐화 신호를 함유하는 전사체 상에 부가된다. 폴리(A) 테일 및 그에 결합된 단백질은 mRNA를 엑소뉴클레아제에 의한 분해로부터 보호하는 것을 돕는다. 폴리아데닐화는 또한 전사 종결, mRNA의 핵으로부터의 유출, 및 번역에 중요하다. 폴리아데닐화는 DNA의 RNA로의 전사 직후에 핵에서 일어나지만, 추가로 세포질에서 추후 일어날 수도 있다. 전사가 종결된 후에, mRNA는 RNA 폴리머라제와 연관된 엔도뉴클레아제 복합체의 작용을 통해 절단된다. 절단 부위는 통상적으로 절단 부위 근처의 염기 서열 AAUAAA의 존재를 특징으로 한다. mRNA가 절단된 후에, 아데노신 잔기는 절단 부위의 자유 3' 말단에 부가된다.
- [0253] 본원에 사용된 "일시적"은 수시간, 수일 또는 수주의 기간 동안의 비-통합된 트랜스진의 발현을 지칭하고, 여기서 발현 기간은 계능 내로 통합되거나 숙주 세포 내의 안정한 플라스미드 레플리콘 내에 함유된 경우에 유전자의 발현을 위한 시간 미만이다.
- [0254] 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 1종 이상의 요법 (예를 들어, 1종 이상의 치료제, 예컨대 본 발명의 CAR)의 투여로부터 생성된 증식성 장애의 진행, 중증도 및/또는 지속기간의 감소 또는 호전, 또는 증식성 장애의 1종 이상의 증상 (바람직하게는, 1종 이상의 식별식별가능한 증상)의 호전을 지칭한다. 구체적 실시양태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 환자에 의해 반드시 식별가능하지 않을 수 있는 증식성 장애의 적어도 하나의 측정가능한 물리적 파라미터, 예컨대 종양의 성장의 호전을 지칭한다. 다른 실시양태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은, 예를 들어 식별가능한 증상의 안정화에 의해 물리적으로, 예를 들어 물리적 파라미터의 안정화에 의해 생리학적으로, 또는 둘 다의 증식성 장애의 진행의 억제 지칭한다. 다른 실시양태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 종양 크기 또는 암성 세포 카운트의 감소 또는 안정화를 지칭한다.
- [0255] 용어 "신호 전달 경로"는 신호를 세포의 한 부분으로부터 세포의 또 다른 부분으로의 전달에 소정의 역할을 하는 다양한 신호 전달 분자 사이의 생화학적 관계를 지칭한다. 어구 "세포 표면 수용체"는 신호를 수신하고 세포막을 가로질러 신호를 전달할 수 있는 분자 및 분자의 복합체를 포함한다.
- [0256] 용어 "대상체"는 면역 반응이 도출될 수 있는 살아있는 유기체 (예를 들어, 포유동물, 인간)를 포함하는 것으로 의도된다.
- [0257] 용어 "실질적으로 정제된" 세포는 다른 세포 유형이 본질적으로 없는 세포를 지칭한다. 실질적으로 정제된 세포는 또한 그의 자연 발생 상태에서 정상적으로 회합되어 있는 다른 세포 유형으로부터 분리된 세포를 지칭한다. 일부 경우에, 실질적으로 정제된 세포의 집단은 균질한 세포 집단을 지칭한다. 다른 경우에, 이 용어는 단순히 그의 천연 상태에서 자연적으로 회합되어 있는 세포로부터 분리된 세포를 지칭한다. 일부 측면에서, 세포는 시험관내에서 배양된다. 다른 측면에서, 세포는 시험관내에서 배양되지 않는다.
- [0258] 본원에 사용된 용어 "치료"는 치료법을 의미한다. 치료 효과는 질환 상태의 감소, 억제, 완화, 또는 근절에 의해 수득된다.
- [0259] 본원에 사용된 용어 "예방"은 질환 또는 질환 상태의 방지 또는 보호적 치료를 의미한다.
- [0260] 본 발명의 문맥에서, "종양 항원" 또는 "과다증식성 장애 항원" 또는 "과다증식성 장애와 연관된 항원"은 특정 과다증식성 장애에 공통적인 항원을 지칭한다. 특정 측면에서, 본 발명의 과다증식성 장애 항원은 원발성 또는 전이성 흑색종, 흉선종, 림프종, 육종, 폐암, 간암, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 백혈병, 자궁암, 자궁경부암, 방광암, 신장암 및 선암종, 예컨대 유방암, 전립선암, 난소암, 췌장암 등을 포함하나 이에 제한되지는 않

는 암으로부터 유래된다.

- [0261] 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"은 외인성 핵산이 숙주 세포 내로 전달되거나 도입되는 과정을 지칭한다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 세포는 외인성 핵산으로 형질감염된, 형질전환된 또는 형질도입된 세포이다. 세포는 1차 대상체 세포 및 그의 자손을 포함한다.
- [0262] 용어 "특이적으로 결합한다"는 샘플 내에 존재하는 동족 결합 파트너 (예를 들어, T 세포 상에 제시된 자극 및/또는 공동자극 분자) 단백질을 인식하고 결합하지만 샘플 내의 다른 분자는 실질적으로 인식하거나 결합하지 않는 항체 또는 리간드를 지칭한다.
- [0263] 본원에 사용된 "조절성 키메라 항원 수용체 (RCAR)"는 면역 이펙터 세포에서의 경우에 세포에게 표적 세포, 전형적으로 암 세포에 대한 특이성 및 조절성 세포내 신호 생성을 제공하는, 가장 단순한 실시양태에서 전형적으로 2개의, 폴리펩티드의 세트를 지칭한다. 일부 실시양태에서, RCAR은 적어도 세포의 항원 결합 도메인, 막형단, 및 CAR 분자와 관련하여 본원에 정의된 바와 같은 자극 분자 및/또는 공동자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 신호전달 도메인 (본원에서 "세포내 신호전달 도메인"으로도 지칭됨)을 포함한다. 일부 실시양태에서, RCAR에서 폴리펩티드의 세트는 서로 인접해있지 않고, 예를 들어 상이한 폴리펩티드쇄 내에 있다. 일부 실시양태에서, RCAR은 이량체화 분자의 존재 시 폴리펩티드를 서로 커플링시킬 수 있는, 예를 들어 항원 결합 도메인을 세포내 신호전달 도메인에 커플링시킬 수 있는 이량체화 스위치를 포함한다. 일부 실시양태에서, RCAR은 본원에 기재된 바와 같은 세포 (예를 들어, 면역 이펙터 세포), 예를 들어 RCAR-발현 세포 (본원에서 "RCARX 세포"로도 지칭됨)에서 발현된다. 한 실시양태에서 RCARX 세포는 T 세포이고, RCART 세포로 지칭된다. 한 실시양태에서, RCARX 세포는 NK 세포이고, RCARN 세포로 지칭된다. RCAR은 RCAR-발현 세포에게 표적 세포, 전형적으로 암 세포에 대한 특이성, 및 조절성 세포내 신호 생성 또는 증식을 제공할 수 있고, 이는 RCAR-발현 세포의 면역 이펙터 특성을 최적화할 수 있다. 실시양태에서, RCAR 세포는 적어도 부분적으로는, 항원 결합 도메인에 의해 결합된 항원을 포함하는 표적 세포에 대한 특이성을 제공하기 위해 항원 결합 도메인에 의존한다.
- [0264] 본원에 사용된 용어 "막 앵커" 또는 "막 테더링 도메인"은 세포외 또는 세포내 도메인을 형질 막에 고정시키기에 충분한 폴리펩티드 또는 모이어티, 예를 들어 미리스토일 기를 지칭한다.
- [0265] 본원에 사용된 용어 "스위치 도메인"은, 예를 들어 RCAR을 언급하는 경우에, 이량체화 분자의 존재 하에 또 다른 스위치 도메인과 회합하는 엔티티, 전형적으로 폴리펩티드-기반 엔티티를 지칭한다. 회합은 제1 스위치 도메인에 연결된, 예를 들어 그에 융합된 제1 엔티티, 및 제2 스위치 도메인에 연결된, 예를 들어 그에 융합된 제2 엔티티의 기능적 커플링을 생성한다. 제1 및 제2 스위치 도메인은 집합적으로 이량체화 스위치로서 지칭된다. 실시양태에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 서로 동일하고, 예를 들어 이들은 동일한 1차 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드이고, 집합적으로 동종이량체화 스위치로 지칭된다. 실시양태에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 서로 상이하고, 예를 들어 이들은 상이한 1차 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드이고, 집합적으로 이종이량체화 스위치로 지칭된다. 실시양태에서, 스위치는 세포내 존재한다. 실시양태에서, 스위치는 세포외 존재한다. 실시양태에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반 엔티티, 예를 들어 FKBP 또는 FRB-기반 엔티티이고, 이량체화 분자는 소분자, 예를 들어 라파로그이다. 실시양태에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반 엔티티, 예를 들어 myc 펩티드에 결합하는 scFv이고, 이량체화 분자는 폴리펩티드, 그의 단편, 또는 폴리펩티드의 다량체, 예를 들어 myc 리간드 또는 1개 이상의 myc scFv에 결합하는 myc 리간드의 다량체이다. 실시양태에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반 엔티티, 예를 들어 myc 수용체이고, 이량체화 분자는 항체 또는 그의 단편, 예를 들어 myc 항체이다.
- [0266] 본원에 사용된 용어 "이량체화 분자"는, 예를 들어 RCAR을 언급하는 경우에, 제1 스위치 도메인과 제2 스위치 도메인의 회합을 촉진하는 분자를 지칭한다. 실시양태에서, 이량체화 분자는 대상체에서 자연 발생되지 않거나, 또는 유의한 이량체화를 야기할 농도로 발생되지 않는다. 실시양태에서, 이량체화 분자는 소분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001이다.
- [0267] 용어 "생물학적 등가"는 참조 용량 또는 참조량의 참조 화합물 (예를 들어, RAD001)에 의해 생성된 효과와 동등한 효과를 생성하는데 요구되는 참조 화합물 (예를 들어, RAD001) 이외의 작용제의 양을 지칭한다. 한 실시양태에서, 효과는 예를 들어 P70 S6 키나제 억제에 의해 측정된 바와 같은, 예를 들어 생체내 또는 시험관내 검정에서 평가된 바와 같은, 예를 들어 본원에 기재된 검정, 예를 들어 블레이(Boulay) 검정에 의해 측정된 바와 같은 mTOR 억제 수준, 또는 웨스턴 블롯에 의한 인산화 S6 수준의 측정이다. 한 실시양태에서, 효과는 세포 분류에 의해 측정된 바와 같은 PD-1 양성/PD-1 음성 T 세포의 비의 변경이다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제의 생

물학적 증가 양 또는 용량은 참조 용량 또는 참조량의 참조 화합물과 동일한 수준의 P70 S6 키나제 억제제를 달성하는 양 또는 용량이다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제의 생물학적 증가 양 또는 용량은 참조 용량 또는 참조량의 참조 화합물과 동일한 수준의 PD-1 양성/PD-1 음성 T 세포의 비의 변경을 달성하는 양 또는 용량이다.

[0268] 용어 "낮은, 면역 증진 용량"이 mTOR 억제제, 예를 들어 알로스테릭 mTOR 억제제, 예를 들어 RAD001 또는 라파마이신, 또는 촉매 mTOR 억제제와 함께 사용된 경우에, 이는 예를 들어 P70 S6 키나제 활성의 억제에 의해 측정된 바와 같이 부분적이지만 전적이지는 않게 mTOR 활성을 억제하는 mTOR 억제제의 용량을 지칭한다. 예를 들어, P70 S6 키나제의 억제에 의해 mTOR 활성을 평가하는 방법이 본원에서 논의된다. 용량은 완전 면역 억제를 발생시키는 데는 불충분하지만, 면역 반응을 증진시키는데 충분하다. 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는 PD-1 양성 T 세포의 개수의 감소 및/또는 PD-1 음성 T 세포의 개수의 증가, 또는 PD-1 음성 T 세포/PD-1 양성 T 세포의 비의 증가를 발생시킨다.

[0269] 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는 나이브 T 세포의 개수의 증가를 발생시킨다. 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는 하기:

[0270] 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 하기 마커: CD62L^{hi}, CD127^{hi}, CD27⁺, 및 BCL2 중 1개 이상의 발현의 증가;

[0271] 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 KLRG1의 발현의 감소; 및

[0272] 기억 T 세포 전구체, 예를 들어 하기 특징 중 어느 하나 또는 그의 조합을 갖는 세포의 개수의 증가: 증가된 CD62L^{hi}, 증가된 CD127^{hi}, 증가된 CD27⁺, 감소된 KLRG1, 및 증가된 BCL2

[0273] 중 1종 이상을 발생시키며, 여기서 임의의 상기 기재된 변화는, 예를 들어 비-처리 대상체와 비교하여, 예를 들어 적어도 일시적으로 발생한다.

[0274] 본원에 사용된 "불응성"은 치료에 반응하지 않는 질환, 예를 들어 암을 지칭한다. 실시양태에서, 불응성 암은 치료의 시작 전 또는 시작 시 치료에 저항성일 수 있다. 다른 실시양태에서, 불응성 암은 치료 동안 저항성이 될 수 있다. 불응성 암은 또한 저항성 암으로도 불린다.

[0275] 본원에 사용된 "재발성" 또는 "재발"은 개선 또는 반응의 기간 후, 예를 들어 요법, 예를 들어 암 요법의 선행 치료 후 질환 (예를 들어, 암) 또는 질환, 예컨대 암의 징후 및 증상의 재출현을 지칭한다. 예를 들어, 반응의 기간은 특정 역치 미만, 예를 들어 20%, 1%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 미만으로 떨어진 암 세포의 수준을 수반할 수 있다. 재출현은 특정 역치 초과, 예를 들어 20%, 1%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 초과로 상승한 암 세포의 수준을 수반할 수 있다.

[0276] 범위: 본 개시내용에 걸쳐, 본 발명의 다양한 측면은 범위 포맷으로 제시될 수 있다. 범위 포맷의 기재는 단지의 및 간결함을 위한 것임을 이해하여야 하고, 본 발명의 범주에 대한 불변의 제한으로서 해석되지 않아야 한다. 따라서, 범위의 기재는 구체적으로 개시된 모든 가능한 하위범위 뿐만 아니라 그러한 범위 내의 개별 수치 값을 갖는 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 범위, 예컨대 1 내지 6의 기재는 구체적으로 개시된 하위범위, 예컨대 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등, 뿐만 아니라 그러한 범위 내의 개별 숫자, 예를 들어 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3, 및 6을 갖는 것으로 간주되어야 한다. 또 다른 예로서, 95-99% 동일성과 같은 범위는 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 것을 포함하고, 하위범위, 예컨대 96-99%, 96-98%, 96-97%, 97-99%, 97-98% 및 98-99% 동일성을 포함한다. 이것은 범위의 폭에 상관없이 적용된다.

[0277] 설명

[0278] CLL-1 키메라 항원 수용체 (CAR)를 사용한 질환, 예컨대 암의 치료를 위한 물질의 조성물 및 사용 방법이 본원에 제공된다.

[0279] 한 측면에서, 본 발명은 CLL-1 단백질 또는 그의 단편에 대한 특이적 결합을 위해 조작된 항체 또는 항체 단편을 포함하는 수많은 키메라 항원 수용체 (CAR)를 제공한다. 한 측면에서, 본 발명은 CAR을 발현하도록 조작된 세포 (예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 제공하고, 여기서 CAR T 세포 ("CART")는 항종양 특성을 나타낸다. 한 측면에서, 세포는 CAR로 형질전환되고, CAR 구축물의 적어도 일부가 세포 표면에 발현된다. 일부 실시양태에서, 세포 (예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 CAR을 코딩하는 바이러스 벡터로 형질도입된다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터이다. 일부 이러한 실시양태에서, 세포는

CAR을 안정하게 발현할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 세포 (예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 CAR을 코딩하는 핵산, 예를 들어 mRNA, cDNA, DNA로 형질감염된다. 일부 이러한 실시양태에서, 세포는 CAR을 일시적으로 발현할 수 있다.

[0280] 한 측면에서, CAR의 인간 항-CLL-1 단백질 결합 부분은 scFv 항체 단편이다. 한 측면에서, 이러한 항체 단편은 동등한 결합 친화도를 보유한다는 점에서, 예를 들어 동일한 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 갖는 IgG 항체와 대등한 효능으로 동일한 항원에 결합한다는 점에서 기능적이다. 한 측면에서, 이러한 항체 단편은 통상의 기술자가 이해할 바와 같이 면역 반응의 활성화, 그의 표적 항원으로부터 신호-전달 발생의 억제, 키나제 활성의 억제 등을 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는 생물학적 반응을 제공한다는 점에서 기능적이다.

[0281] 일부 측면에서, 본 발명의 항체는 키메라 항원 수용체 (CAR) 내로 혼입된다. 한 측면에서, CAR은 서열식별번호: 91-103으로서 본원에 제공된 폴리펩티드 서열을 포함한다.

[0282] 한 측면에서, 본 발명의 CAR의 부분인 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 인간 scFv는 그의 서열이 포유동물 세포에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 트랜스진에 의해 코딩된다. 한 측면에서, 본 발명의 전체 CAR 구축물은 그의 전체 서열이 포유동물 세포에서의 발현을 위해 코돈 최적화된 트랜스진에 의해 코딩된다. 코돈 최적화는 코딩 DNA 내의 동의 코돈 (즉, 동일한 아미노산을 코딩하는 코돈)의 발생 빈도가 상이한 종에서 편향된다는 발견을 지칭한다. 이러한 코돈 축중성은 동일한 폴리펩티드가 다양한 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있도록 한다. 다양한 코돈 최적화 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 적어도 미국 특허 번호 5,786,464 및 6,114,148에 개시된 방법을 포함한다.

[0283] 한 측면에서, 인간 CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39-51에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 40에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 41에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 42에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 43에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 44에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 45에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 46에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 47에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 48에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 49에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 50에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 51에 제공된 scFv 부분을 포함한다. 한 측면에서, 본 발명의 CAR은 특정 항체의 항원 결합 도메인을 세포내 신호전달 분자와 조합한다. 예를 들어, 일부 측면에서, 세포내 신호전달 분자는 CD3-제타 쇄, 4-1BB 및 CD28 신호전달 모듈 및 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 한 측면에서, 항원 결합 도메인은 CLL-1에 결합한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 91-103 또는 197 중 1개 이상에 제공된 서열로부터 선택된 CAR을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 91에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 92에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 93에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 94에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 95에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 96에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 97에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 98에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 99에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 100에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 101에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 102에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 103에 제공된 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 CAR은 서열식별번호: 197에 제공된 서열을 포함한다. 또한, 본 발명은 CLL-1 CAR 조성물, 및 다른 질환 중에서, CLL-1을 발현하는 세포 또는 조직을 수반하는 암 또는 임의의 악성종양 또는 자가면역 질환을 치료하기 위한 의약 또는 방법에서의 그의 용도를 제공한다.

[0284] 한 측면에서, 본 발명의 CAR은 CLL-1-발현 정상 세포를 근절시키기 위해 사용될 수 있고, 이에 의해 세포 이식 전에 세포 조건화 요법으로서 사용하기 위해 적용가능할 수 있다. 한 측면에서, CLL-1-발현 정상 세포는 CLL-1-발현 정상 줄기 세포이고, 세포 이식은 줄기 세포 이식이다.

- [0285] 한 측면에서, 본 발명은 본 발명의 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하도록 조작된 세포 (예를 들어, 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 제공하며, 여기서 세포 (예를 들어, CAR-발현 면역 이펙터 세포, 예를 들어 CAR T 세포, 예를 들어 "CART")는 항종양 특성을 나타낸다. 바람직한 항원은 CLL-1이다. 한 측면에서, CAR의 항원 결합 도메인은 인간 항-CLL-1 항체 단편을 포함한다. 한 측면에서, CAR의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하는 인간 항-CLL-1 항체 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, CAR의 항원 결합 도메인은 인간 항-CLL-1 scFv를 포함한다. 따라서, 본 발명은 항-CLL-1 결합 도메인을 포함하고 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포로 조작되는 CLL-1-CAR, 및 입양 요법을 위한 그의 사용 방법을 제공한다. 한 측면에서, CLL-1-CAR은 인간 항-CLL-1 결합 도메인을 포함한다.
- [0286] 한 측면에서, CLL-1-CAR은 CD137 (4-1BB) 신호전달 도메인, CD28 신호전달 도메인, CD3제타 신호 도메인, 및 그의 임의의 조합의 군으로부터 선택된 적어도 1개의 세포내 도메인을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1-CAR은 CD137 (4-1BB) 또는 CD28 이외의 1개 이상의 공동자극 분자(들)로부터의 적어도 1개의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0287] 키메라 항원 수용체 (CAR)
- [0288] 본 발명은 항-CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 인간 또는 인간화 CLL-1 결합 도메인), 막횡단 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR (예를 들어, CAR 폴리펩티드)을 제공하며, 여기서 상기 항-CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 항-CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함한다. CAR의 항-CLL-1 결합 도메인은 추가로 표 2에 열거된 임의의 항-CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3)을 포함할 수 있다.
- [0289] 본 발명은 또한, 예를 들어 항-CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 인간 또는 인간화 CLL-1 결합 도메인), 막횡단 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR을 코딩하는, 본원에 기재된 바와 같은 CAR을 코딩하는 핵산 분자를 제공하며, 여기서 상기 항-CLL-1 결합 도메인은 표 2에 열거된 임의의 항-CLL-1 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함한다.
- [0290] 한 실시양태에서, CAR의 코딩된 항-CLL-1 결합 도메인은 추가로 표 2에 열거된 임의의 항-CLL-1 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3)을 포함할 수 있다.
- [0291] 구체적 측면에서, 본 발명의 CAR 구축물은 서열식별번호: 39-51로 이루어진 군으로부터 선택된 scFv 도메인을 포함하며, 여기서 scFv는 서열식별번호: 1에 제공된 바와 같은 임의적인 리더 서열이 선행하고, 이어서 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 3 또는 서열식별번호: 4 또는 서열식별번호: 5에 제공된 바와 같은 임의적인 힌지 서열, 서열식별번호: 6에 제공된 바와 같은 막횡단 영역, 서열식별번호: 7 또는 서열식별번호: 8을 포함하는 세포내 신호전달 도메인 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10을 포함하는 CD3 제타 서열이 뒤따를 수 있으며, 예를 들어 여기서 도메인은 인접하여 동일한 리더 프레임 내에 존재하여 단일 융합 단백질을 형성한다. 또한, 서열식별번호: 39-51로 이루어진 군으로부터 선택된 각각의 scFv 단편의 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 본 발명에 포함된다. 또한, 서열식별번호: 39-51로 이루어진 군으로부터 선택된 각각의 scFv 단편, 및 서열식별번호: 1, 2, 및 6-9의 각각의 도메인의 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 본 발명에 포함된다. 한 측면에서, 예시적인 CLL-1 CAR 구축물은 임의적인 리더 서열, 세포외 항원 결합 도메인, 힌지, 막횡단 도메인, 및 세포내 자극 도메인을 포함한다. 한 측면에서, 예시적인 CLL-1 CAR 구축물은 임의적인 리더 서열, 세포외 항원 결합 도메인, 힌지, 막횡단 도메인, 세포내 공동자극 도메인 및 세포내 자극 도메인을 포함한다.
- [0292] 일부 실시양태에서, 전장 CAR 서열은 또한 표 2에 제시된 바와 같이, 서열식별번호: 91-103으로서 본원에 제공된다.
- [0293] 예시적인 리더 서열은 서열식별번호: 1로서 제공된다. 예시적인 힌지/스페이서 서열은 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 3 또는 서열식별번호: 4 또는 서열식별번호: 5로서 제공된다. 예시적인 막횡단 도메인 서열은 서열식별번호: 6으로서 제공된다. 4-1BB 단백질의 세포내 신호전달 도메인의 예시적인 서열은 서열식별번호: 7로서 제공된다. CD27의 세포내 신호전달 도메인의 예시적인 서열은 서열식별번호: 8로서 제공된다. 예시적인

CD3제타 도메인 서열은 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10으로서 제공된다.

[0294] 한 측면에서, 본 발명은 CAR을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 핵산 구축물을 포괄하며, 여기서 핵산 분자는 예를 들어 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열과 인접하여 동일한 리딩 프레임 내에 존재하는, 예를 들어 본원에 기재된 CLL-1 결합 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 포함한다. 한 측면에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39-51 중 1개 이상으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 40을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 41을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 42을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 43을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 44을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 45을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 46을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 47을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 48을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 49을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 50을 포함한다. 한 실시양태에서, CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 51을 포함한다.

[0295] 한 측면에서, 본 발명은 CAR을 코딩하는 트랜스진을 포함하는 재조합 핵산 구축물을 포괄하며, 여기서 핵산 분자는 서열식별번호: 39-51 중 1개 이상으로부터 선택된 항-CLL-1 결합 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 예를 들어 여기서 서열은 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열과 인접하여 동일한 리딩 프레임 내에 존재한다. CAR에 사용될 수 있는 예시적인 세포내 신호전달 도메인은, 예를 들어 CD3-제타, CD28, 4-1BB 등의 1개 이상의 세포내 신호전달 도메인을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 경우에, CAR은 CD3-제타, CD28, 4-1BB 등의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 한 측면에서, 본 발명의 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 104-116, 또는 198 중 1개 이상으로부터 선택된다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 104이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 105이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 106이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 107이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 108이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 109이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 110이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 111이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 112이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 113이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 114이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 115이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 116이다. 한 측면에서 CAR 구축물의 핵산 서열은 서열식별번호: 198이다. 목적하는 분자를 코딩하는 핵산 서열은 관련 기술분야에 공지된 재조합 방법을 사용하여, 예컨대 예를 들어 유전자를 발현하는 세포로부터 라이브러리를 스크리닝함으로써, 이를 포함하는 것으로 공지된 벡터로부터 유전자를 유도함으로써, 또는 표준 기술을 사용하여 이를 함유하는 세포 및 조직으로부터 직접 단리함으로써 획득할 수 있다. 대안적으로, 관심 핵산은 클로닝하기 보다는 합성적으로 생산할 수 있다.

[0296] 본 발명은 세포 내로 직접 형질도입될 수 있는 CAR을 발현하는 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 구축물을 포함한다.

[0297] 본 발명은 또한 세포 내로 직접 형질감염될 수 있는 RNA 구축물을 포함한다. 형질감염에 사용하기 위한 mRNA를 생성하는 방법은 특수하게 설계된 프라이머를 사용한 주형의 시험관내 전사 (IVT)에 이은 폴리A 첨가를 수반하며, 이는 3' 및 5' 비번역 서열 ("UTR"), 5' 캡 및/또는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES), 발현시킬 핵산, 및 폴리A 테일을 함유하는, 전형적으로 50-2000개 염기 길이의 구축물 (서열식별번호: 35)을 생산한다. 이와 같이 생산된 RNA는 상이한 유형의 세포를 효율적으로 형질감염시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 주형은 CAR에 대한 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, RNA CAR 벡터는 전기천공에 의해 T 세포 내로 형질도입된다.

[0298] 항원 결합 도메인

[0299] 본 발명의 CAR은 표적-특이적 결합 도메인을 포함한다. 모이어티의 선택은 표적 세포의 표면을 규정하는 리간드의 유형 및 수에 따라 달라진다. 예를 들어, 항원 결합 도메인은 특정한 질환 상태와 연관된 표적 세포 상에서 세포 표면 마커로서 작용하는 리간드를 인식하도록 선택될 수 있다. 따라서, 본 발명의 CAR에서 항원 결합 도메인에 대한 리간드로서 작용할 수 있는 세포 표면 마커의 예는 바이러스, 박테리아 및 기생충 감염, 자가면역 질환 및 암 세포와 연관된 것을 포함한다.

[0300] 한 측면에서, CAR-매개 T-세포 반응은 목적하는 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 CAR 내로 조작하는 방식에 의해 관심 항원으로 지시될 수 있다.

- [0301] 한 측면에서, 본 발명의 CAR은 CLL-1에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함한다. 한 측면에서, 항원 결합 도메인은 인간 CLL-1에 특이적으로 결합한다.
- [0302] 항원 결합 도메인은 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 재조합 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 및 단일-도메인 항체, 예컨대 중쇄 가변 도메인 (VH), 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 낙타류 유래 나노바디의 가변 도메인 (VHH)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 그의 기능적 단편, 및 항원 결합 도메인으로 기능하는 것으로 관련 기술분야에 공지된 대안적 스캐폴드, 예컨대 재조합 피브로넥틴 도메인 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 항원에 결합하는 임의의 도메인일 수 있다. 일부 경우에, 항원 결합 도메인은, CAR이 궁극적으로 사용될 종과 동일한 종으로부터 유래되는 것이 유익하다. 예를 들어, 인간에서 사용하기 위해, CAR의 항원 결합 도메인은 항체 또는 항체 단편의 항원 결합 도메인에 대한 인간 또는 인간화 잔기를 포함하는 것이 유익할 수 있다.
- [0303] 일부 경우에, 항원 결합 도메인은, CAR이 궁극적으로 사용될 종과 동일한 종으로부터 유래되는 것이 유익하다. 예를 들어, 인간에서 사용하기 위해, CAR의 항원 결합 도메인은 항체 또는 항체 단편의 항원 결합 도메인에 대한 인간 또는 인간화 잔기를 포함하는 것이 유익할 수 있다. 따라서, 한 측면에서, 항원 결합 도메인은 인간 항체 또는 항체 단편을 포함한다.
- [0304] 따라서, 한 측면에서, 항원 결합 도메인은 인간 항체 또는 항체 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 인간 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3), 및/또는 본원에 기재된 인간 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함하고, 예를 들어 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 LC CDR 및 1개 이상, 예를 들어 모든 3개의 HC CDR을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 인간 항-CLL-1 결합 도메인의 1개 이상 (예를 들어, 모든 3개)의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3)을 포함하고, 예를 들어 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 각각이 본원에 기재된 HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3을 포함하는 2개의 가변 중쇄 영역을 갖는다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 (예를 들어, 표 4에서의) 인간 경쇄 가변 영역 및/또는 본원에 기재된 (예를 들어, 표 3에서의) 인간 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 (예를 들어, 표 3에서의) 인간 중쇄 가변 영역, 예를 들어 본원에 기재된 (예를 들어, 표 3에서의) 적어도 2개의 인간 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 표 4의 아미노산 서열의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 scFv이다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, scFv)은 표 4에 제공된 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 표 4의 아미노산 서열과 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역; 및/또는 표 3에 제공된 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형 (예를 들어 치환, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열, 또는 표 3의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39-51로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 52-64로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 scFv이고, 본원, 예를 들어 표 2에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역은 링커, 예를 들어 본원에 기재된 링커를 통해 본원, 예를 들어 표 2에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역에 부착된다. 한 실시양태에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 (Gly₄-Ser)_n 링커를 포함하며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 3 또는 4 (서열식별번호: 26)이다. scFv의 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역은, 예를 들어 임의의 하기 배향: 경쇄 가변 영역-링커-중쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역-링커-경쇄 가변 영역으로 존재할 수 있다.
- [0305] 한 측면에서, 항원 결합 도메인 부분은 서열식별번호: 39-41로부터 선택된 1개 이상의 서열을 포함한다. 한 측면에서, CAR은 서열식별번호: 91-103, 또는 197로부터 선택된 1개 이상의 서열로부터 선택된다.
- [0306] 한 측면에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 항체 또는 항체 단편의 특정한 기능적 특색 또는 특성을 특징으로 한다. 예를 들어, 한 측면에서, 항원 결합 도메인을 포함하는 본 발명의 CAR 조성물의 부분은 인간 CLL-1에 특이적으로 결합한다.

- [0307] 한 측면에서, 본 발명은 항체 또는 항체 단편을 포함하는 항원 결합 도메인에 관한 것이며, 여기서 항체 결합 도메인은 CLL-1 단백질 또는 그의 단편에 특이적으로 결합하고, 여기서 항체 또는 항체 단편은 서열식별번호: 39-51의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 및/또는 가변 중쇄를 포함한다. 한 측면에서, 항원 결합 도메인은 서열식별번호: 39-51로부터 선택된 scFv의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 측면에서, scFv는 리더 서열과 인접하여 동일한 리더 프레임 내에 존재한다. 한 측면에서, 리더 서열은 서열식별번호: 1로서 제공된 폴리펩티드 서열이다.
- [0308] 한 측면에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 단편, 예를 들어 단일 쇠 가변 단편 (scFv)이다. 한 측면에서, 인간 항-CLL-1 결합 도메인은 Fv, Fab, (Fab')₂, 또는 이중-기능적 (예를 들어, 이중-특이적) 하이브리드 항체이다 (예를 들어, 문헌 [Lanzavecchia et al., Eur. J. Immunol. 17, 105 (1987)]). 한 측면에서, 본 발명의 항체 및 그의 단편은 야생형 또는 증진된 친화도로 CLL-1 단백질 또는 그의 단편에 결합한다.
- [0309] 일부 경우에, 인간 scFv는 디스플레이 라이브러리로부터 유래된다. 디스플레이 라이브러리는 엔티티의 집단이고; 각각의 엔티티는 접근가능한 폴리펩티드 성분 및 폴리펩티드 성분을 코딩하거나 확인하는 회수가능한 성분을 포함한다. 폴리펩티드 성분은 상이한 아미노산 서열이 나타내어지도록 다양하다. 폴리펩티드 성분은 임의의 길이, 예를 들어 3개의 아미노산으로부터 300개 초과 아미노산까지일 수 있다. 디스플레이 라이브러리 엔티티는 1개 초과 폴리펩티드 성분, 예를 들어 Fab의 2개의 폴리펩티드 쇠를 포함할 수 있다. 하나의 예시적 실시양태에서, 디스플레이 라이브러리를 사용하여 인간 CLL-1 결합 도메인을 확인할 수 있다. 선택에서, 라이브러리의 각각의 구성원의 폴리펩티드 성분은 CLL-1 또는 그의 단편에 의해 프로빙되고, 폴리펩티드 성분이 CLL-1에 결합하는 경우에, 디스플레이 라이브러리 구성원은 전형적으로 지지체 상에서의 체류에 의해 확인된다.
- [0310] 체류된 디스플레이 라이브러리 구성원은 지지체로부터 회수되어 분석된다. 분석은 유사한 또는 비유사한 조건 하에서의 증폭 및 후속 선택을 포함할 수 있다. 예를 들어, 양성 및 음성 선택이 교대로 실시될 수 있다. 분석은 또한 폴리펩티드 성분, 즉 CLL-1 결합 도메인의 아미노산 서열의 결정, 및 상세한 특징화를 위한 폴리펩티드 성분의 정제를 포함할 수 있다.
- [0311] 다양한 포맷이 디스플레이 라이브러리에 대해 사용될 수 있다. 예는 파지 디스플레이를 포함한다. 파지 디스플레이에서, 단백질 성분은 전형적으로 박테리오파지 코트 단백질에 공유 연결된다. 연결은 코트 단백질에 융합된 단백질 성분을 코딩하는 핵산의 번역으로부터 발생한다. 연결은 가요성 펩티드 링커, 프로테아제 부위, 또는 정지 코돈의 역제의 결과로서 혼입된 아미노산을 포함할 수 있다. 파지 디스플레이는, 예를 들어 U.S. 5,223,409; 문헌 [Smith (1985) Science 228:1315-1317]; WO 92/18619; WO 91/17271; WO 92/20791; WO 92/15679; WO 93/01288; WO 92/01047; WO 92/09690; WO 90/02809; 문헌 [de Haard et al. (1999) J. Biol. Chem 274:18218-30; Hoogenboom et al. (1998) Immunotechnology 4:1-20; Hoogenboom et al. (2000) Immunol Today 2:371-8 및 Hoet et al. (2005) Nat Biotechnol. 23(3):344-8]에 기재되어 있다. 단백질 성분을 디스플레이하는 박테리오파지는 표준 파지 정제용 방법, 예를 들어 성장 배지로부터의 PEG 침전을 사용하여 성장 및 수거될 수 있다. 개별 디스플레이 파지의 선택 후에, 선택된 단백질 성분을 코딩하는 핵산은 증폭 후에 선택된 파지로 감염된 세포로부터 또는 파지 그 자체로부터 분리될 수 있다. 개별 콜로니 또는 플라크를 골라내고, 핵산을 분리하고, 서열분석할 수 있다.
- [0312] 다른 디스플레이 포맷은 세포 기반 디스플레이 (예를 들어, WO 03/029456 참조), 단백질-핵산 융합 (예를 들어, US 6,207,446 참조), 리보솜 디스플레이 (예를 들어, 문헌 [Mattheakis et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:9022 and Hanes et al. (2000) Nat Biotechnol. 18:1287-92; Hanes et al. (2000) Methods Enzymol. 328:404-30; 및 Schaffitzel et al. (1999) J Immunol Methods. 231(1-2):119-35] 참조), 및 이. 콜라이(E. coli) 주변세포질 디스플레이 (2005 Nov 22; PMID: 16337958)를 포함한다.
- [0313] 일부 경우에, scFv는 관련 기술분야에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Bird et al., (1988) Science 242:423-426 및 Huston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883] 참조). scFv 분자는 가요성 폴리펩티드 링커를 사용하여 VH 및 VL 영역을 함께 연결함으로써 생산될 수 있다. scFv 분자는 최적화된 길이 및/또는 아미노산 조성을 갖는 링커 (예를 들어, Ser-Gly 링커)를 포함한다. 링커 길이는 scFv의 가변 영역이 폴딩하고 상호작용하는 방식에 크게 영향을 미칠 수 있다. 실제로, 짧은 폴리펩티드 링커가 사용되면 (예를 들어, 5-10개 아미노산), 쇠내 폴딩이 방지된다. 쇠간 폴딩은 또한 2개의 가변 영역을 함께 모아 기능적 에피토프 결합 부위를 형성하기 위해 필요하다. 링커 배향 및 크기의 예에 대해서는, 예를 들어 문헌 [Hollinger et al. 1993 Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448], 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0100543, 2005/0175606, 2007/0014794, 및 PCT 공개 번호 WO2006/020258 및 WO2007/024715를 참조하고,

이는 본원에 참조로 포함된다.

- [0314] scFv는 그의 VL 및 VH 영역 사이에 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50개, 또는 그 초과인 아미노산 잔기의 링커를 포함할 수 있다. 링커 서열은 임의의 자연 발생 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커 서열은 아미노산 글리신 및 세린을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 링커 서열은 글리신 및 세린 반복부의 세트, 예컨대 (Gly₄Ser)_n을 포함하며, 여기서 n은 1 이상의 양의 정수이다 (서열식별번호: 25). 한 실시양태에서, 링커는 (Gly₄Ser)₄ (서열식별번호: 27) 또는 (Gly₄Ser)₃ (서열식별번호: 28)일 수 있다. 링커 길이의 변동은 활성을 유지 또는 증진시켜 활성 연구에서 우월한 효능을 유도할 수 있다.
- [0315] 예시적인 인간 CLL-1 CAR 구축물 및 항원 결합 도메인
- [0316] 본원에 개시된 예시적인 CLL-1 CAR 구축물은 임의로 임의적인 리더 서열 (예를 들어, 각각 예시적인 리더 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열에 대해 서열식별번호: 1 및 서열식별번호: 12)이 선행하는 scFv (예를 들어, 본원의 표 2에 개시된 바와 같은 인간 scFv)를 포함한다. 인간 scFv 단편의 서열 ((서열식별번호: 39-51의 아미노산 서열, 및 서열식별번호: 52-64의 뉴클레오타이드 서열)이 본원의 표 2에 제공된다. CLL-1 CAR 구축물은 추가로 임의적인 힌지 도메인, 예를 들어 CD8 힌지 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함하거나, 서열식별번호: 13의 핵산 서열에 의해 코딩됨); 막횡단 도메인, 예를 들어 CD8 막횡단 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 포함하거나, 서열식별번호: 17의 뉴클레오타이드에 의해 코딩됨); 세포내 도메인, 예를 들어 4-1BB 세포내 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하거나, 서열식별번호: 18의 뉴클레오타이드에 의해 코딩됨); 및 기능적 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3 제타 도메인 (예를 들어, 서열식별번호: 9 또는 10의 아미노산 서열을 포함하거나, 서열식별번호: 20 또는 21의 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩됨)을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 도메인은 인접하여 동일한 링딩 프레임 내에 존재하여 단일 융합 단백질을 형성한다. 다른 실시양태에서, 도메인은 별개의 폴리펩티드로, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 RCAR 분자로 존재한다.
- [0317] 특정 실시양태에서, 전장 CLL-1 CAR 분자는 표 2에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 181268의 아미노산 서열 또는 그와 실질적으로 (예를 들어, 95-99%) 동일한 서열을 포함하거나, 그의 뉴클레오타이드 서열 또는 그와 실질적으로 (예를 들어, 95-99%) 동일한 서열에 의해 코딩된다.
- [0318] 특정 실시양태에서, CLL-1 CAR 분자 또는 항-CLL-1 항원 결합 도메인은 표 2에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 181268의 scFv 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 181268의 scFv 아미노산 서열, 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 실질적으로 동일한 서열 (예를 들어, 95-99% 동일, 또는 20, 15, 10, 8, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 변화, 예를 들어 치환 (예를 들어, 보존적 치환))을 포함하거나, 그의 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된다.
- [0319] 특정 실시양태에서, CLL-1 CAR 분자 또는 항-CLL-1 항원 결합 도메인은 표 2에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 181268의 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역, 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 실질적으로 동일한 서열 (예를 들어, 95-99% 동일, 또는 20, 15, 10, 8, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 변화, 예를 들어 치환 (예를 들어, 보존적 치환))을 포함한다.
- [0320] 특정 실시양태에서, CLL-1 CAR 분자 또는 항-CLL-1 항원 결합 도메인은 표 3에 제공된 중쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3); 및/또는 표 4에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 181268의 경쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3); 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 실질적으로 동일한 서열 (예를 들어, 95-99% 동일, 또는 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 변화, 예를 들어 치환 (예를 들어, 보존적 치환))을 포함한다.

[0321] 특정 실시양태에서, CLL-1 CAR 분자 또는 항-CLL-1 항원 결합 도메인은 표 5에 제공된 중쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3); 및/또는 표 6에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 181268의 경쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3); 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 실질적으로 동일한 서열 (예를 들어, 95-99% 동일, 또는 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 변화, 예를 들어 치환 (예를 들어, 보존적 치환))을 포함한다.

[0322] 특정 실시양태에서, CLL-1 CAR 분자 또는 항-CLL-1 항원 결합 도메인은 표 7에 제공된 중쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3); 및/또는 표 8에 제공된 CLL-1 CAR-1, CLL-1 CAR-2, CLL-1 CAR-3, CLL-1 CAR-4, CLL-1 CAR-5, CLL-1 CAR-6, CLL-1 CAR-7, CLL-1 CAR-8, CLL-1 CAR-9, CLL-1 CAR-10, CLL-1 CAR-11, CLL-1 CAR-12, CLL-1 CAR-13, 181268의 경쇄 가변 영역으로부터의 1, 2 또는 3개의 CDR (예를 들어, LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3); 또는 임의의 상기 언급된 서열에 대해 실질적으로 동일한 서열 (예를 들어, 95-99% 동일, 또는 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 변화, 예를 들어 치환 (예를 들어, 보존적 치환))을 포함한다.

[0323] scFv 도메인의 인간화 CDR 서열의 서열은 중쇄 가변 도메인에 대해 표 3, 5 및 7에 및 경쇄 가변 도메인에 대해 표 4, 6 및 8에 제시된다. "ID"는 각각의 CDR에 대한 각각의 서열식별번호를 의미한다.

[0324] 표 3 및 4에 제공된 CDR은 카바트 및 코티아 넘버링 스킴의 조합에 따른다.

[0325] <표 3> 중쇄 가변 도메인 CDR

후보	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
CLL-1 CAR 9	ANTFSDHVMH	125	YIHAANGGTHYSQKFQD	138	GGYNSDAFDI	151
CLL-1 CAR 6	GGSFSGYYWS	122	EINHSGSTNYNPSLKS	135	GSGLVVYAIRVSGGWFDY	148
CLL-1 CAR 10	GFTFSSYSMN	126	YISSSSTIYYADSVKG	139	DLSVRAIDAFDI	152
CLL-1 CAR 11	GFTFNSYGLH	127	LIEYDGSNKYYGDSVKG	140	EGNEDLAFDI	153
CLL-1 CAR 12	GFNVSSNYMT	128	VIYSGGATYYGDSVKG	141	DRLYCGNNCYLYYYYGMDV	154
CLL-1 CAR 1	GGTFSSYAIS	117	GIPIFGTANYAQKFQ	130	DLEMATIMGGY	143
CLL-1 CAR 2	GFTFDDYAMH	118	LISGDGGSTYYADSVKG	131	VFDSYYMDV	144
CLL-1 CAR 3	GGSISSSSYYWG	119	SIYYSGSTYYNPSLKS	132	PGTYYDFLSGYYPFY	145
CLL-1 CAR 4	GFTFSSYWMS	120	NINEDGSAKFYVDSVKG	133	DLRSGRY	146
CLL-1 CAR 5	GGPVRSGSHYWN	121	YIYYSGSTNYNPSLEN	134	GTATFDWNFPFDS	147
CLL-1 CAR 7	GFTFSSYSMN	123	SISSSSYIYYADSVKG	136	DPSSSGSYYMEDSYYYGMDV	149
CLL-1 CAR 8	GFTFSSYEMN	124	YISSSGSTIYYADSVKG	137	EALGSSWE	150
CLL-1 CAR 13	GYPFTGYIYQ	129	WIDPNSGNTGYAQKFQG	142	DSYGYYYGMDV	155
181268	GFTFSSYEMN	199	YISSSGSTIYYADSVKG	200	DPYSSSWHDAFDI	201

[0326]

[0327] <표 4> 경쇄 가변 도메인 CDR

후보	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
CLL-1 CAR 9	RASQDISSWLA	164	AASSLQS	177	QQSYSTPLT	190
CLL-1 CAR 6	RASQSISSYLN	161	AASSLQS	174	QQSYSTPPWT	187
CLL-1 CAR 10	QASQDISNYLN	165	DASNLET	178	QQAYSTPFT	191
CLL-1 CAR 11	QASQFIKKNLN	166	DASSLQT	179	QQHDNLPLT	192
CLL-1 CAR 12	RASQSISSYLN	167	AASSLQS	180	QQSYSTPPLT	193
CLL-1 CAR 1	TGTSSDVGGYNYVS	156	DVSNRPS	169	SSYTSSSTLDVV	182
CLL-1 CAR 2	RSSQSLVYTDGNTYLN	157	KVSNRDS	170	MQGTHWSFT	183
CLL-1 CAR 3	RASQGISSYLA	158	AASTLQS	171	QQLNSYPYT	184
CLL-1 CAR 4	RASQSIGSFALA	159	GASSRAT	172	QQYGSSPPT	185
CLL-1 CAR 5	RASQSISSYLN	160	AASSLQS	173	QQSYSTPWT	186
CLL-1 CAR 7	TGSSGSIASNYVQ	162	EDNQRPS	175	QSYDSSNQVV	188
CLL-1 CAR 8	QASQDISNYLN	163	DASNLET	176	QQYDNLPLT	189
CLL-1 CAR 13	RASQGISSALA	168	DASSLES	181	QQFNYYPLT	194
181268	RASQSVSSSYLA	202	GASSRAT	203	QQYGSSPLT	204

[0328]

[0329] <표 5> 카바트 넘버링 스킴 (Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)에 따른 중쇄 가변 도메인 CDR

후보	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
146259-CLL-1-CAR9	DHVMH	322	YIHAANGGTHYSQKFQD	336	GGYNSDAFDI	350
139119-CLL-1-CAR6	GYYSWS	319	EINHSGSTNYNPSLKS	333	GSGLVVYAIRVGSGWFDY	347
146261-CLL-1-CAR10	SYSMN	323	YISSSSTIYYADSVKG	337	DLSVRAIDAFDI	351
146262-CLL-1-CAR11	SYGLH	324	LIEYDGSNKYYGDSVKG	338	EGNEDLAFDI	352
146263-CLL-1-CAR12	SNYMT	325	VIYSGGATYYGDSVKG	339	DRLYCGNNCYLYYYGMDV	353
139115-CLL-1-CAR1	SYAIS	314	GIPIFGTANYAQKFQG	328	DLEMATIMGGY	342
139116-CLL-1-CAR2	DYAMH	315	LISGDGGSTYYADSVKG	329	VFDSYYMDV	343
139118-CLL-1-CAR3	SSSYYWG	316	SIYYSGSTYYNPSLKS	330	PGTYDDELFGYYPFY	344
139122-CLL-1-CAR4	SYWMS	317	NINEDGSAKFYVDSVKG	331	DLRSGRY	345
139117-CLL-1-CAR5	SGSHYWN	318	YIYYSGSTNYNPSLEN	332	GTATFDWNFPFDS	346
139120-CLL-1-CAR7	SYSMN	320	SISSSSYIYYADSVKG	334	DPSSSGSYYMEDSYYYGMDV	348
139121-CLL-1-CAR8	SYEMN	321	YISSSGSTIYYADSVKG	335	EALGSSWE	349
146264-CLL-1-CAR13	GYIIQ	326	WIDPNSGNTGYAQKFQG	340	DSYGYYYGMDV	354
181268	SYEMN	327	YISSSGSTIYYADSVKG	341	DPYSSSWHDAFDI	355

[0330]

[0331] <표 6> 카바트 넘버링 스킴 (Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)에 따른 경쇄 가변 도메인 CDR

후보	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
146259-CLL-1-CAR9	RASQDISSWLA	364	AASSLQS	378	QQSYSTPLT	392
139119-CLL-1-CAR6	RASQSISSYLN	361	AASSLQS	375	QQSYSTPPWT	389
146261-CLL-1-CAR10	QASQDISNYLN	365	DASNLET	379	QQAYSTPFT	393
146262-CLL-1-CAR11	QASQFIKKNLN	366	DASSLQT	380	QQHDNLPLT	394
146263-CLL-1-CAR12	RASQSISSYLN	367	AASSLQS	381	QQSYSTPPLT	395
139115-CLL-1-CAR1	TGTSSDVGGYNYVS	356	DVSNRPS	370	SSYSSSTLDVV	384
139116-CLL-1-CAR2	RSSQSLVYTDGNTYLN	357	KVSNRDS	371	MQGTHWSFT	385
139118-CLL-1-CAR3	RASQGISSYLA	358	AASLQS	372	QQLNSYPYT	386
139122-CLL-1-CAR4	RASQSIGSFLA	359	GASSRAT	373	QQYGSSPPT	387
139117-CLL-1-CAR5	RASQSISSYLN	360	AASSLQS	374	QQSYSTPWT	388
139120-CLL-1-CAR7	TGSSGSIASNYVQ	362	EDNQRP	376	QSYSSNQVV	390
139121-CLL-1-CAR8	QASQDISNYLN	363	DASNLET	377	QQYDNLPLT	391
146264-CLL-1-CAR13	RASQGISSALA	368	DASSLES	382	QQFNYPYT	396
181268	RASQSVSSSYLA	369	GASSRAT	383	QQYGSSPLT	397

[0332]

[0333]

<표 7> 코티아 넘버링 스킴 (Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948)에 따른 중쇄 가변 도메인 CDR

후보	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
146259-CLL-1-CAR9	ANTFSDH	406	HAANGG	420	GGYNSDAFDI	434
139119-CLL-1-CAR6	GGSFSGY	403	NHSGS	417	GSGLVVYAIRVGSWFYDY	431
146261-CLL-1-CAR10	GFTFSSY	407	SSSSST	421	DLSVRAIDAFDI	435
146262-CLL-1-CAR11	GFTFNSY	408	EYDGSN	422	EGNEDLAFDI	436
146263-CLL-1-CAR12	GFNVSSN	409	YSGGA	423	DRLYCGNNCYLYYYGMDV	437
139115-CLL-1-CAR1	GGTFSSY	398	IPIFGT	412	DLEMATIMGGY	426
139116-CLL-1-CAR2	GFTFDDY	399	SGDGG	413	VFDSSYMDV	427
139118-CLL-1-CAR3	GGSISSSY	400	YYS	414	PGTYDFLSGYYPFY	428
139122-CLL-1-CAR4	GFTFSSY	401	NEDGSA	415	DLRSGRY	429
139117-CLL-1-CAR5	GGPVRSGSH	402	YYS	416	GTATFDWNFPFDS	430
139120-CLL-1-CAR7	GFTFSSY	404	SSSSSY	418	DPSSSGSYMEDSYYYGMDV	432
139121-CLL-1-CAR8	GFTFSSY	405	SSSGST	419	EALGSSWE	433
146264-CLL-1-CAR13	GYPFTGY	410	DPNSGN	424	DSYGYYYGMDV	438
181268	GFTFSSY	411	SSSGST	425	DPYSSSWHDAFDI	439

[0334]

[0335] <표 8> 코티아 넘버링 스킴 (Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948)에 따른 경쇄 가변 도메인 CDR

후보	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
146259-CLL-1-CAR9	SQDISSW	448	AAS	462	SYSTPL	476
139119-CLL-1-CAR6	SQSISSY	445	AAS	459	SYSTPPW	473
146261-CLL-1-CAR10	SQDISNY	449	DAS	463	AYSTPF	477
146262-CLL-1-CAR11	SQFIKKN	450	DAS	464	HDNLPL	478
146263-CLL-1-CAR12	SQSISSY	451	AAS	465	SYSTPPL	479
139115-CLL-1-CAR1	TSSDVGGYNY	440	DVS	454	YTSSSTLDV	468
139116-CLL-1-CAR2	SQSLVYTDGNTY	441	KVS	455	GTHWSF	469
139118-CLL-1-CAR3	SQGISSY	442	AAS	456	LNSYPY	470
139122-CLL-1-CAR4	SQSISGSF	443	GAS	457	YGSSPP	471
139117-CLL-1-CAR5	SQSISSY	444	AAS	458	SYSTPW	472
139120-CLL-1-CAR7	SSGSIASNY	446	EDN	460	YDSSNQV	474
139121-CLL-1-CAR8	SQDISNY	447	DAS	461	YDNLPL	475
146264-CLL-1-CAR13	SQGISSA	452	DAS	466	FNMYPL	480
181268	SQSVSSSY	453	GAS	467	YGSSPL	481

[0336]

[0337] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자 (예를 들어, CAR 핵산 또는 CAR 폴리펩티드)는

[0338] (1) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 경쇄 (LC) CDR:

[0339] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 156의 LC CDR1, 서열식별번호: 169의 LC CDR2 및 서열식별번호: 182의 LC CDR3;

[0340] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 157의 LC CDR1, 서열식별번호: 170의 LC CDR2 및 서열식별번호: 183의 LC CDR3;

[0341] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 158의 LC CDR1, 서열식별번호: 171의 LC CDR2 및 서열식별번호: 184의 LC CDR3;

[0342] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 159의 LC CDR1, 서열식별번호: 172의 LC CDR2 및 서열식별번호: 185의 LC CDR3;

[0343] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 160의 LC CDR1, 서열식별번호: 173의 LC CDR2 및 서열식별번호: 186의 LC CDR3;

[0344] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 161의 LC CDR1, 서열식별번호: 174의 LC CDR2 및 서열식별번호: 187의 LC CDR3;

[0345] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 162의 LC CDR1, 서열식별번호: 175의 LC CDR2 및 서열식별번호: 188의 LC CDR3;

[0346] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 163의 LC CDR1, 서열식별번호: 176의 LC CDR2 및 서열식별번호: 189의 LC CDR3; 또는

[0347] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 164의 LC CDR1, 서열식별번호: 177의 LC CDR2 및 서열식별번호: 190의 LC CDR3;

[0348] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 165의 LC CDR1, 서열식별번호: 178의 LC CDR2 및 서열식별번호: 191의 LC CDR3;

[0349] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 166의 LC CDR1, 서열식별번호: 179의 LC CDR2 및 서열식별번호: 192의 LC CDR3;

[0350] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 167의 LC CDR1, 서열식별번호: 180의 LC CDR2 및 서열식별번호: 193의 LC

CDR3;

- [0351] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 168의 LC CDR1, 서열식별번호: 181의 LC CDR2 및 서열식별번호: 194의 LC CDR3;
- [0352] (xiv) 181286의 서열식별번호: 202의 LC CDR1, 서열식별번호: 203의 LC CDR2 및 서열식별번호: 204의 LC CDR3; 및/또는
- [0353] (2) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 중쇄 (HC) CDR:
- [0354] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 117의 HC CDR1, 서열식별번호: 130의 HC CDR2 및 서열식별번호: 143의 HC CDR3;
- [0355] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 118의 HC CDR1, 서열식별번호: 131의 HC CDR2 및 서열식별번호: 144의 HC CDR3;
- [0356] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 119의 HC CDR1, 서열식별번호: 132의 HC CDR2 및 서열식별번호: 145의 HC CDR3;
- [0357] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 120의 HC CDR1, 서열식별번호: 133의 HC CDR2 및 서열식별번호: 146의 HC CDR3;
- [0358] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 121의 HC CDR1, 서열식별번호: 134의 HC CDR2 및 서열식별번호: 147의 HC CDR3;
- [0359] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 122의 HC CDR1, 서열식별번호: 135의 HC CDR2 및 서열식별번호: 148의 HC CDR3;
- [0360] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 123의 HC CDR1, 서열식별번호: 136의 HC CDR2 및 서열식별번호: 149의 HC CDR3;
- [0361] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 124의 HC CDR1, 서열식별번호: 137의 HC CDR2 및 서열식별번호: 150의 HC CDR3; 또는
- [0362] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 125의 HC CDR1, 서열식별번호: 138의 HC CDR2 및 서열식별번호: 151의 HC CDR3;
- [0363] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 126의 HC CDR1, 서열식별번호: 139의 HC CDR2 및 서열식별번호: 152의 HC CDR3;
- [0364] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 127의 HC CDR1, 서열식별번호: 140의 HC CDR2 및 서열식별번호: 153의 HC CDR3;
- [0365] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 128의 HC CDR1, 서열식별번호: 141의 HC CDR2 및 서열식별번호: 154의 HC CDR3;
- [0366] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 129의 HC CDR1, 서열식별번호: 142의 HC CDR2 및 서열식별번호: 155의 HC CDR3;
- [0367] (xiv) 181286의 서열식별번호: 199의 HC CDR1, 서열식별번호: 200의 HC CDR2 및 서열식별번호: 201의 HC CDR3
- [0368] 을 포함한다.
- [0369] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자 (예를 들어, CAR 핵산 또는 CAR 폴리펩티드) 또는 CLL-1 결합 도메인은
- [0370] (1) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 경쇄 (LC) CDR:
- [0371] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 356의 LC CDR1, 서열식별번호: 370의 LC CDR2 및 서열식별번호: 384의 LC CDR3;
- [0372] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 357의 LC CDR1, 서열식별번호: 371의 LC CDR2 및 서열식별번호: 385의 LC CDR3;

- [0373] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 358의 LC CDR1, 서열식별번호: 372의 LC CDR2 및 서열식별번호: 386의 LC CDR3;
- [0374] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 359의 LC CDR1, 서열식별번호: 373의 LC CDR2 및 서열식별번호: 387의 LC CDR3;
- [0375] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 360의 LC CDR1, 서열식별번호: 374의 LC CDR2 및 서열식별번호: 388의 LC CDR3;
- [0376] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 361의 LC CDR1, 서열식별번호: 375의 LC CDR2 및 서열식별번호: 389의 LC CDR3;
- [0377] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 362의 LC CDR1, 서열식별번호: 376의 LC CDR2 및 서열식별번호: 390의 LC CDR3;
- [0378] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 363의 LC CDR1, 서열식별번호: 377의 LC CDR2 및 서열식별번호: 391의 LC CDR3; 또는
- [0379] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 364의 LC CDR1, 서열식별번호: 378의 LC CDR2 및 서열식별번호: 392의 LC CDR3;
- [0380] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 365의 LC CDR1, 서열식별번호: 379의 LC CDR2 및 서열식별번호: 393의 LC CDR3;
- [0381] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 366의 LC CDR1, 서열식별번호: 380의 LC CDR2 및 서열식별번호: 394의 LC CDR3;
- [0382] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 367의 LC CDR1, 서열식별번호: 381의 LC CDR2 및 서열식별번호: 395의 LC CDR3;
- [0383] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 368의 LC CDR1, 서열식별번호: 382의 LC CDR2 및 서열식별번호: 396의 LC CDR3;
- [0384] (xiv) 181286의 서열식별번호: 369의 LC CDR1, 서열식별번호: 383의 LC CDR2 및 서열식별번호: 397의 LC CDR3; 및/또는
- [0385] (2) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 중쇄 (HC) CDR:
- [0386] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 314의 HC CDR1, 서열식별번호: 328의 HC CDR2 및 서열식별번호: 342의 HC CDR3;
- [0387] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 315의 HC CDR1, 서열식별번호: 329의 HC CDR2 및 서열식별번호: 343의 HC CDR3;
- [0388] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 316의 HC CDR1, 서열식별번호: 330의 HC CDR2 및 서열식별번호: 344의 HC CDR3;
- [0389] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 317의 HC CDR1, 서열식별번호: 331의 HC CDR2 및 서열식별번호: 345의 HC CDR3;
- [0390] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 318의 HC CDR1, 서열식별번호: 332의 HC CDR2 및 서열식별번호: 346의 HC CDR3;
- [0391] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 319의 HC CDR1, 서열식별번호: 333의 HC CDR2 및 서열식별번호: 347의 HC CDR3;
- [0392] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 320의 HC CDR1, 서열식별번호: 334의 HC CDR2 및 서열식별번호: 348의 HC CDR3;
- [0393] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 321의 HC CDR1, 서열식별번호: 335의 HC CDR2 및 서열식별번호: 349의 HC CDR3; 또는
- [0394] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 322의 HC CDR1, 서열식별번호: 336의 HC CDR2 및 서열식별번호: 350의 HC

CDR3;

- [0395] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 323의 HC CDR1, 서열식별번호: 337의 HC CDR2 및 서열식별번호: 351의 HC CDR3;
- [0396] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 324의 HC CDR1, 서열식별번호: 338의 HC CDR2 및 서열식별번호: 352의 HC CDR3;
- [0397] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 325의 HC CDR1, 서열식별번호: 339의 HC CDR2 및 서열식별번호: 353의 HC CDR3;
- [0398] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 326의 HC CDR1, 서열식별번호: 340의 HC CDR2 및 서열식별번호: 354의 HC CDR3;
- [0399] (xiv) 181286의 서열식별번호: 327의 HC CDR1, 서열식별번호: 341의 HC CDR2 및 서열식별번호: 355의 HC CDR3
- [0400] 을 포함한다.
- [0401] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자 (예를 들어, CAR 핵산 또는 CAR 폴리펩티드)는
- [0402] (1) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 경쇄 (LC) CDR:
- [0403] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 440의 LC CDR1, 서열식별번호: 454의 LC CDR2 및 서열식별번호: 468의 LC CDR3;
- [0404] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 441의 LC CDR1, 서열식별번호: 455의 LC CDR2 및 서열식별번호: 469의 LC CDR3;
- [0405] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 442의 LC CDR1, 서열식별번호: 456의 LC CDR2 및 서열식별번호: 470의 LC CDR3;
- [0406] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 443의 LC CDR1, 서열식별번호: 457의 LC CDR2 및 서열식별번호: 471의 LC CDR3;
- [0407] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 444의 LC CDR1, 서열식별번호: 458의 LC CDR2 및 서열식별번호: 472의 LC CDR3;
- [0408] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 445의 LC CDR1, 서열식별번호: 459의 LC CDR2 및 서열식별번호: 473의 LC CDR3;
- [0409] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 446의 LC CDR1, 서열식별번호: 460의 LC CDR2 및 서열식별번호: 474의 LC CDR3;
- [0410] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 447의 LC CDR1, 서열식별번호: 461의 LC CDR2 및 서열식별번호: 475의 LC CDR3; 또는
- [0411] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 448의 LC CDR1, 서열식별번호: 462의 LC CDR2 및 서열식별번호: 476의 LC CDR3;
- [0412] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 449의 LC CDR1, 서열식별번호: 463의 LC CDR2 및 서열식별번호: 477의 LC CDR3;
- [0413] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 450의 LC CDR1, 서열식별번호: 464의 LC CDR2 및 서열식별번호: 478의 LC CDR3;
- [0414] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 451의 LC CDR1, 서열식별번호: 465의 LC CDR2 및 서열식별번호: 479의 LC CDR3;
- [0415] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 452의 LC CDR1, 서열식별번호: 466의 LC CDR2 및 서열식별번호: 480의 LC CDR3;
- [0416] (xiv) 181286의 서열식별번호: 453의 LC CDR1, 서열식별번호: 467의 LC CDR2 및 서열식별번호: 481의 LC CDR3; 및/또는

- [0417] (2) 하기 중 하나로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 중쇄 (HC) CDR:
- [0418] (i) CLL-1 CAR-1의 서열식별번호: 398의 HC CDR1, 서열식별번호: 412의 HC CDR2 및 서열식별번호: 426의 HC CDR3;
- [0419] (ii) CLL-1 CAR-2의 서열식별번호: 399의 HC CDR1, 서열식별번호: 413의 HC CDR2 및 서열식별번호: 427의 HC CDR3;
- [0420] (iii) CLL-1 CAR-3의 서열식별번호: 400의 HC CDR1, 서열식별번호: 414의 HC CDR2 및 서열식별번호: 428의 HC CDR3;
- [0421] (iv) CLL-1 CAR-4의 서열식별번호: 401의 HC CDR1, 서열식별번호: 415의 HC CDR2 및 서열식별번호: 429의 HC CDR3;
- [0422] (v) CLL-1 CAR-5의 서열식별번호: 402의 HC CDR1, 서열식별번호: 416의 HC CDR2 및 서열식별번호: 430의 HC CDR3;
- [0423] (vi) CLL-1 CAR-6의 서열식별번호: 403의 HC CDR1, 서열식별번호: 417의 HC CDR2 및 서열식별번호: 431의 HC CDR3;
- [0424] (vii) CLL-1 CAR-7의 서열식별번호: 404의 HC CDR1, 서열식별번호: 418의 HC CDR2 및 서열식별번호: 432의 HC CDR3;
- [0425] (viii) CLL-1 CAR-8의 서열식별번호: 405의 HC CDR1, 서열식별번호: 419의 HC CDR2 및 서열식별번호: 433의 HC CDR3; 또는
- [0426] (ix) CLL-1 CAR-9의 서열식별번호: 406의 HC CDR1, 서열식별번호: 420의 HC CDR2 및 서열식별번호: 434의 HC CDR3;
- [0427] (x) CLL-1 CAR-10의 서열식별번호: 407의 HC CDR1, 서열식별번호: 421의 HC CDR2 및 서열식별번호: 435의 HC CDR3;
- [0428] (xi) CLL-1 CAR-11의 서열식별번호: 408의 HC CDR1, 서열식별번호: 422의 HC CDR2 및 서열식별번호: 436의 HC CDR3;
- [0429] (xii) CLL-1 CAR-12의 서열식별번호: 409의 HC CDR1, 서열식별번호: 423의 HC CDR2 및 서열식별번호: 437의 HC CDR3;
- [0430] (xiii) CLL-1 CAR-13의 서열식별번호: 410의 HC CDR1, 서열식별번호: 424의 HC CDR2 및 서열식별번호: 438의 HC CDR3;
- [0431] (xiv) 181286의 서열식별번호: 411의 HC CDR1, 서열식별번호: 425의 HC CDR2 및 서열식별번호: 439의 HC CDR3
- [0432] 을 포함한다.
- [0433] 실시양태에서, 완전 인간 항-CLL-1 단일쇄 가변 단편은 세포내 CD3제타 도메인 및 4-1BB의 세포내 공동-자극 도메인을 갖는 렌티바이러스 CAR 발현 벡터 내에서 생성 및 클로닝된다. 예시적인 완전 인간 항-CLL-1 scFv의 명칭이 표 1에 제시된다.

[0434] <표 1> CAR-CLL-1 구축물

구축물 ID	별칭
139115	CLL-1 (또는 CLL-1 CAR-1)
139116	CLL-2 (또는 CLL-1 CAR-2)
139117	CLL-3 (또는 CLL-1 CAR-3)
139118	CLL-4 (또는 CLL-1 CAR-4)
139119	CLL-5 (또는 CLL-1 CAR-5)
139120	CLL-6 (또는 CLL-1 CAR-6)
139121	CLL-7 (또는 CLL-1 CAR-7)
139122	CLL-8 (또는 CLL-1 CAR-8)
146259	CLL-9 (또는 CLL-1 CAR-9)
146261	CLL-10 (또는 CLL-1 CAR-10)
146262	CLL-11 (또는 CLL-1 CAR-11)
146263	CLL-12 (또는 CLL-1 CAR-12)
146264	CLL-13 (또는 CLL-1 CAR-13)

[0435]

[0436] 실시양태에서, VL 및 VH 도메인이 scFv에서 출현하는 순서는 다양하고 (즉, VL-VH, 또는 VH-VL 배향), 여기서 "G4S" (서열식별번호: 25) 서브유닛의 3 또는 4개의 카피 (여기서 각각의 서브유닛은 서열 GGGGS (서열식별번호: 25) (예를 들어, (G4S)₃ (서열식별번호: 28) 또는 (G4S)₄ (서열식별번호: 27)를 포함함)는 가변 도메인과 연결되어 표 2에 제시된 바와 같은 전체 scFv 도메인을 생성한다.

[0437] CLL-1 scFv 도메인 및 CLL-1 CAR 분자의 아미노산 및 핵산 서열이 표 2에 제공된다. 각각의 scFv에 대한 가변 중쇄 및 가변 경쇄에 대한 아미노산 서열이 또한 표 2에 제공된다. 리더 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 1의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 12의 뉴클레오타이드 서열)을 갖는 scFv 단편 (서열식별번호: 39-51)이 또한 본 발명에 포함된다는 것을 주목한다.

[0438] 리더 (아미노산 서열) (서열식별번호: 1)

[0439] MALPVTALLPLALLHAARP

[0440] 리더 (핵산 서열) (서열식별번호: 12)

[0441] ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGCCGCTAG
ACCC

[0442] CD8 힌지 (아미노산 서열) (서열식별번호: 2)

[0443] TTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

[0444] CD8 힌지 (핵산 서열) (서열식별번호: 13)

[0445] ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCC
TGTCCTTGCAGCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGG
GGCTGGACTTCGCCTGTGA

- [0446] CD8 막횡단 (아미노산 서열) (서열식별번호: 6)
- [0447] IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
- [0448] CD8 막횡단 (핵산 서열) (서열식별번호: 17)
- [0449] ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACCTGGTTATC
ACCCTTTACTGC
- [0450] 4-1BB 세포내 도메인 (아미노산 서열) (서열식별번호: 7)
- [0451] KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL
- [0452] 4-1BB 세포내 도메인 (핵산 서열) (서열식별번호: 18)
- [0453] AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTAC
AAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCAGAGAAGAAGAAGAGGAG
GATGTGAACTG
- [0454] CD28 세포내 도메인 (아미노산 서열) (서열식별번호: 482)
- [0455] RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO: 482)
- [0456] CD28 세포내 도메인 (뉴클레오티드 서열) (서열식별번호: 483)
- [0457] AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGAATGACTACATGAACATGACTCCCCG
CCGCCCCGGGCCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTT
CGCAGCCTATCGCTCC (SEQ ID NO: 483)
- [0458] ICOS 세포내 도메인 (아미노산 서열) (서열식별번호: 484)
- [0459] T K K K Y S S S V H D P N G E Y M F M R A V N T A K K S R L T D V T L
(SEQ ID NO: 484)
- [0460] ICOS 세포내 도메인 (뉴클레오티드 서열) (서열식별번호: 485)
- [0461] ACAAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACGGTGAATACATGTTCATGA
GAGCAGTGAACACAGCCAAAAAATCCAGACTCACAGATGTGACCCTA (SEQ ID NO:
485)
- [0462] CD3 제타 도메인 (아미노산 서열) (서열식별번호: 9)
- [0463] RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
- [0464] CD3 제타 (핵산 서열) (서열식별번호: 20)
- [0465] AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAG
CTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGAC
GTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCC
TGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGA
AAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAG
CCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

[0466] CD3 제타 도메인 (아미노산 서열; NCBI 참조 서열 NM_000734.3) (서열식별번호: 10)
 RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENMGKPRRKNPQEGLY
 [0467] NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0468] CD3 제타 (핵산 서열; NCBI 참조 서열 NM_000734.3); (서열식별번호: 21)
 AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAG
 AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTT
 TGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGA
 AGAACCTCAGGAAGGCTGTACAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGG
 AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGC
 ACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGC
 CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC
 [0469]

[0470] IgG4 힌지 (아미노산 서열) (서열식별번호: 36)
 ESKYGPPCPPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK
 GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD
 GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLKGM
 [0471]

[0472] IgG4 힌지 (뉴클레오타이드 서열) (서열식별번호: 37)
 GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACC
 CAGCGTGTTCCTGTTCACCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCAGCCGGACCCCCG
 AGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCAGGAGGACCCGAGGTCCAGTTCAACTG
 GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTT
 CAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAC
 GGCAAGGAATACAAGTGTAAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAA
 ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTA
 GCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTA
 CCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAA
 GACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCG
 TGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGC
 CCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG
 [0473]

[0474] 실시양태에서, 이들 클론 (예를 들어, 표 2에서의)은 모두 CD3제타 채로부터 유래된 공동-자극 도메인의 신호 도메인 내에 Q/K 잔기 변화를 함유한다.

[0475] <표 2> 항-CLL-1 scFv 도메인 및 CLL-1 CAR 분자의 아미노산 및 핵산 서열

명칭/ 설명	SEQ ID NO:	서열
146259		
146259- aa	47	QVQLVQSGAEVKEPGASVKVSKAPANTFSDHVMHWVRQAPGQRFEWMGY

[0476]

ScFv 도메인 CLL-1 CAR 9		IHAANGGTHYSQKFQDRVITITRDT SANTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGG YNSDAFDIWGGTMTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPSSV SASVGDRTVITCRASQDISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FNGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK
146259- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 9	60	CAAGTGCAACTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAAGTCAAGGAACCCGGAGCCTC CGTGAAAGTGCTCTGCAAAGCTCCTGCCAACACTTTCTCGGACCACGTGA TGCACTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGCGCTTCGAATGGATGGGATAC ATTCATGCCGCCAATGGCGGTACCCACTACTCCCAAAAGTTCCAGGATAG AGTCACCATCACCCGGGACACCAGCGCCAACACCGTGTATATGGATCTGT CCAGCCTGAGGTCCGAGGATACCGCGTGTACTACTGCGCCCCGGGCGGA TACAACTCAGACGCGTTCGACATTGGGGACAGGGTACTATGGTCACCGT GTATCCGGGGGCGGTGGCAGCGGGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGCGGAT CAGGGGGAGGAGGGTCCGACATCGTGATGACCCAGTCCCCGTCTATCGGTG TCCGCGTCCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACGTGTCGCGCCAGCCAGGA CATCTCCTCGTGGTTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGA AGCTGCTCATCTACGCCGCTCCTCCCTCAATCGGGAGTCCCTCGCGG TTCAACGGAAGCGGAAGCGGGACAGATTTTACCCTGACTATTAGCTCGCT GCAGCCCGAGGACTTCGCTACTTACTACTGCCAACAGAGCTACTCCACCC CACTGACTTTCCGGCGGGGTACCAAGGTCGAGATCAAG
146259- aa ScFv의 VH CLL-1 CAR 9	73	QVQLVQSGAEVKEPGASVKVSKAPANTFSDHVMHWVRQAPGQRFIEWMGY IHAANGGTHYSQKFQDRVITITRDT SANTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGG YNSDAFDIWGGTMTVTVSS
146259- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 9	86	DIVMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQDISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFNGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQSYSTPLTFGG GTKVEIK
146259- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 9	99	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKEPGASVKVSKAPANTF SDHVMHWVRQAPGQRFIEWMGYIHAANGGTHYSQKFQDRVITITRDT SANTV YMDLSSLRSEDTAVYYCARGGYNSDAFDIWGGTMTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQDISSWLAWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFNGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELVRKFSRSADAPAYKQGNQLYN ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYS EIGMKGERRRGKHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
146259- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 9	112	ATGGCCCTCCCTGTACCCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAAGTCAAGG AACC CGGAGCCTCCGTGAAAGTGCTCTGCAAAGCTCCTGCCAACACTTTC TCGGACCACGTGATGCACTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGCGCTTCA ATGGATGGGATACATTATGCCGCCAATGGCGGTACCCACTACTCCAAA AGTTCCAGGATAGAGTACCATCACCCGGGACACCAGCGCCAACACCGTG TATATGGATCTGTCCAGCCTGAGGTCCGAGGATACCGCCGTGTACTACTG CGCCCGGGGCGGATACAACCTCAGACGCGTTCGACATTGGGGACAGGGTA CTATGGTCACCGTGTCTCCGGGGGCGGTGGCAGCGGGGGCGGAGGCTCT GGCGGAGGCGGATCAGGGGGAGGAGGTCGACATCGTGATGACCCAGTC CCCGTCATCGGTGTCCGCTCCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACGTGTC GCGCCAGCCAGGACATCTCCTCGTGGTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCT GGAAAGGCCCGAAGCTGCTCATCTACGCCGCTCCTCCCTTCAATCGGG AGTGCCCTCGCGTTCAACGGAAGCGGAAGCGGGACAGATTTTACCCTGA CTATTAGCTCGCTGCAGCCCGAGGACTTCGCTACTTACTACTGCCAACAG AGCTACTCCACCCACTGACTTTCGCGCGGGGTACCAAGGTCGAGATCAA GACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCT

[0477]

		CCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGACGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGC CCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTC TTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCG GTTCCAGAGGAGGAGGAAGCGGCTGCGAAGTGCAGCTGAAATTACAGCC GCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAG AGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAAGATCCCCAAG AGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGC GAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGACT GTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCGCCTCGG
139119		
139119- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 6	44	QVQLQESGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKLEWVGE INHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGSG LVVYAIRVGSWFYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSDIQMTQSPS SLASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLMYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQSYSTPPWTFGQGTKVDIK
139119- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 6	57	CAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGCAGGACTTCTCAAGCCATCCGAAAC ACTCTCCCTCACTTGCGCGGTGTACGGGGGAAGCTTCTCGGGATACTACT GGTCTTGATTAGCGAGCCTCCCGGCAAGGCTGGAATGGTTCGGGGAG ATCAACCACTCCGGTTCAACCAACTACAACCCGTCGCTGAAGTCCCGCGT GACCATTTCCGTGGACACCTCTAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCTCGT CCGTGACCGCGCGGACACCGCGCTCTACTACTGCGCTCGGGGATCAGGA CTGGTGGTGTACGCCATCCGCGTGGGCTCGGGCTGGTTCGATTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACTGTGTCGTCGCGCGGAGGAGGTTTCGGGGGCG GAGACAGCGGTGGAGGGGGTAGCGACATCCAGATGACCCAGTCCCGTCC TCGCTGTCCGCTCCGTGGGAGATAGAGTGACCATCACTGTGCGGCATC CCAGAGCATTTCCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAAGG CCCCTAAGCTGTTGATGTACGCCGCCAGCAGCTTGCAGTCGGGCGTGCCG AGCCGGTTTCCGGTTCCGGCTCCGGGACTGACTTCAACCTGACTATCTC ATCCCTGCAACCCGAGGACTTCGCCACTTATTACTGCCAGCAGTCCTACT CAACCCCTCCCTGGACGTTTCGACAGGGCACCAAGGTCGATATCAAG
139119- aa ScFv 의 VH CLL-1 CAR 6	70	QVQLQESGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKLEWVGE INHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGSG LVVYAIRVGSWFYWGQGLVTVSS
139119- aa ScFv 의 VL CLL-1 CAR 6	83	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLMYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQSYSTPPWTFG QGTKVDIK
139119- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 6	96	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLQESGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSF SGYYWSWIRQPPGKLEWVGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARGSGLVVYAIRVGSWFYWGQGLVTVSSGGG SGGGDSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQ KPKAPKLLMYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYC QQSYSTPPWTFGQGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNG LYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE AYSEIGMKGERRRGKHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139119- nt 전장 CAR	109	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGCAGGACTTCTCA

[0478]

CLL-1 CAR 6		AGCCATCCGAAACACTCTCCCTCACTTGCGCGGTGTACGGGGGAAGCTTC TCGGGATACTACTGGTCCTGGATTAGGCAGCCTCCCGGCAAAGGCCTGGA ATGGGTGCGGGAGATCAACCACTCCGGTTCAACCACTACAACCCGTCGC TGAAGTCCCGCGTGACCATTTCCGTGGACACCTCTAAGAATCAGTTCAGC CTGAAGCTCTCGTCCGTGACCGCGGGGACACCGCGTCTACTACTGCGC TCGGGGATCAGGACTGGTGGTGTACGCCATCCGCGTGGGCTCGGGCTGGT TCGATTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACTGTGTCTCGTCCGGCGGAGGA GGTTCGGGGGGCGGAGACAGCGGTGGAGGGGTAGCGACATCCAGATGAC CCAGTCCCCGTCCTCGCTGTCCGCTCCGTGGGAGATAGAGTGACCATCA CCTGTCCGGCATCCCAGAGCATTTCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAG AAGCCCGGAAAGGCCCTAAGCTGTTGATGTACGCCGCCAGCAGCTTGCA GTGGGGCTGCCGAGCCGGTTTTCCGGTTCCGGCTCCGGGACTGACTTCA CCCTGACTATCTCATCCCTGCAACCCGAGGACTTCGCCACTTATTACTGC CAGCAGTCTTACTCAACCCCTCCCTGGACGTTCCGACAGGGCACCAGGT CGATATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTA CCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGAATTCGCTGCGATATCTA CATTGGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGTGCTTTTCACTCG TGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCCTCATGAGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTG TTTATGCCGGTTCCAGAGGAGGAGGAAGCGGGCTGCGAACTGCGCGTGA AATTACGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAG CTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGA CAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGA ATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCA CGACGGAATGTACCAGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACG CTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
146261		
146261- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 10	48	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSY ISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDL SVRAIDAFDIWGQGMVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGSDIVLTQSPS SLASVGRVITTCQASQDISNYLNWYQQKPKAPKLLIYDASNLETGVP SRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDFATYYCQAYSTPFTFGPGTKVEIK
146261- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 10	61	CAAGTGCAACTTGTTCATCCGGTGGAGGTCTTGTGCAGCCCCGAGGATC ACTCAGACTGTCGTGCGCCGCTCTGGGTTCACTTTCTCCTCATACTCGA TGAAGTGGGTGCCGAGGCGCGGGAAAGGGCTGGAATGGGTGTCATAC ATCTCCTCCTCATCTCCACCATCTACTACGCCGATTCCGTGAAGGGCCG CTTCACTATTTCCCGGGACAACGCGAAAACTCGCTCTATCTGCAATGA ACTCCCTGCGCGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGGACCTG AGCGTGCGGGCTATTGATGCGTTTCGACATCTGGGGACAGGGCACCATGGT CACAGTGTCCAGCGGAGGCGGCGGCGGAGGAGGATCAGGGGGAG GAGGTTTCGGGGGGCGGTGGCTCCGATATCGTGCTGACCCAGAGCCGTCG AGCCTCTCCGCTCCGTGCGCGACAGAGTGACCATCACGTGTGAGGCATC CCAGGACATTAGCAACTACCTGAATTGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAGG CACCAAGTTGCTGATCTACGACGCTCCAACCTGGAACCGGAGTGCCA TCCAGGTTCTCGGGCAGCGGCTCGGGAACCGACTTCACTTTTACTATCTC CTCCCTGCAACCCGAGGATTTGCGGACCTACTACTGCCAGCAGGCCTACA GCACCCCTTTACCTTCGGGCGGGAACTAAGGTCGAAATCAAG
146261- aa ScFv 의 VH CLL-1 CAR 10	74	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSY ISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDL SVRAIDAFDIWGQGMVTVSS

[0479]

146261- aa ScFv 의 VL CLL-1 CAR 10	87	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPKGKAPKLLIYD ASNLETGVPSPRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQQAYSTPFTFGP GTKVEIK
146261- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 10	100	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYSMNWVRQAPGKLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLR AEDTAVYYCARDLSVRAIDAFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGG GSGGGSGGGSDIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQ KPKGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYC QQAYSTPFTFGPGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQQQNQL YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPFR
146261- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 10	113	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTTGTTC AATCCGGTGGAGGTCTTGTGC AGCCCGGAGGATCACTCAGACTGTCGTGCGCCGCTCTGGGTTCACTTTC TCCTCATACTCGATGAAGTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGAAAGGCGCTGGA ATGGGTGTCATACATCTCCTCCTCATCTCCACCATCTACTACGCCGATT CCGTGAAGGCGCGTTCCTACTATTTCCCGGGACACGCGAAAACTCGCTC TATCTGCAAAATGAAGTCCCTGCGCGCCGAGGACACCGCGGTGTAAGTGC CGCCCGGACCTGAGCGTGCGGGCTATGATGCGTTTCGACATCTGGGGAC AGGGCACCATGGTTCACAGTGTCAGCGGAGGCGCGGCGAGCGGTGGAGGA GGATCAGGGGGAGGAGGTTCCGGGGGCGGTGGCTCCGATATCGTGCTGAC CCAGAGCCCGTCGAGCCTCTCCGCTCCGTCGCGACAGAGTGACCATCA CGTGTGAGGCATCCAGGACATTAGCAACTACCTGAATTGGTACCAGCAG AAGCCTGGAAAGGCACCCAAAGTTGCTGATCTACGACGCCTCCAACCTGGA AACCGGAGTGCCATCCAGGTTCTCGGGCAGCGGCTCGGGAACCGACTTCA CTTTTACTATCTCCTCCCTGCAACCCGAGGATTTCGCGACCTACTACTGC CAGCAGGCCTACAGCACCCCTTTACCTTCGGGCGCGGAACTAAGGTCGA AATCAAGACCACTACCCAGCAGCCAGGCGCCACCCCGGCTCCTACCA TCGCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCT GGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCTGCGATATCTACAT TTGGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCCTCGTGA TCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCCTTCATGAGGCTGTGCGAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTT ATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGCGGCTGCGAAGTGCAGCTGAAAT TCAGCCGCGAGCGAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGAGAGGAGGCTC TACAACGAAGTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAA GCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATC CCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAAGAGGCAAGGCCACGA CGGACTGTACAGGAGTCTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCGGCTCGG
146262		
146262- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 11	49	EVQLVQSGGGVVRSGRSLRLSCAASGFTFNSYGLHWVRQAPGKLEWVAL IEYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDKSKSTLYLQMDNLR AEDTAVYYCAREG NEDLAFDIWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEIVLTQSPSSL SASVGDRVTITCQASQFIKKNLNWYQHKPKGKAPKLLIYDASSLQTVPSR FSGNRS GTTFSFTISSLQPEDVATYYCQQHDNLPLTFGGGTKEIK
146262- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 11	62	GAAGTGCAATTGGTGCAATCAGGAGGAGGAGTGGTCAGATCTGGAAGAAG CCTGAGACTGTATGCGCGGCTTCGGGCTTACCTTCAACTCCTACGGCC TCCACTGGGTGCGCCAGGCCCCCGGAAAGGCTCGAATGGGTGCGACTG

[0480]

		ATTGAGTACGACGGGTCCAACAAGTACTACGGAGATAGCGTGAAGGGCCG CTTCACCATCTCACGGGACAAAGTCCAAGTCCACCCTGTATCTGCAAATGG ACAACCTGAGGGCCGAGGATACTGCCGTGTACTACTGCGCCCGCAAGGA AACGAAGATCTGGCCTTCGATATTTGGGGCCAGGGTACTCTTGTGACCGT GTGAGCGGAGGCGGAGGCTCCGGTGGAGGAGGATCGGGGGGTGGTGGTT CCGGCGGGGGGGAGCGAAATCGTGCTGACCCAGTCGCCTTCCTCCCTC CCCGCTTCCGTGGGGGACCGGGTCACTATTACGTGTCAGGCGTCCCAATT CATCAAGAAGAATCTGAACTGGTACCAGCACAGCCGGGAAAGGCCCCCA AACTGCTCATCTACGACGCCAGCTCGCTGCAGACTGGCGTGCCTTCCCGG TTTTCCGGGAACCGGTCCGGGAACCACTTCTCATTACCATCAGCAGCCT CCAGCCGGAGGACGTGGCGACCTACTACTGCCAGCAGCATGACAACCTTC CACTGACTTTCGGCGGGGACCAAGGTCGAGATTAAAG
146262- aa ScFv 의 VH CLL-1 CAR 11	75	EVQLVQSGGGVVRSGRSLRLSCAASGFTFNSYGLHWVRQAPGKGLEWVAL IEYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDKSKSTLYLQMDNLR AEDTAVYYCAREG NEDLAFDIWGQGLTVTVSS
146262- aa ScFv 의 VL CLL-1 CAR 11	88	EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCQASQFIKKNLNWYQHKPGKAPKLLIYD ASSLQTVGPSRFSGNRS GTTFSTISSLPEDVATYYCQQHDNLP LTFGG GTKVEIK
146262- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 11	101	MALPVTALLPLALLLHARPEVQLVQSGGGVVRSGRSLRLSCAASGFTF NSYGLHWVRQAPGKGLEWVALIEYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDKSKSTL YLQMDNLR AEDTAVYYCAREGNEDLAFDIWGQGLTVTVSSGGGSGGGGS GGGSGGGGSEIVLTQSPSSLSASVGDRTITCQASQFIKKNLNWYQHKP GKAPKLLIYDASSLQTVGPSRFSGNRS GTTFSTISSLPEDVATYYCQQ HDNLP LTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQF FMRPVQTTQEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYN ELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
146262- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 11	114	ATGGCCCTCCCTGTACCCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGCCCGAAGTGAATTGGTGCAATCAGGAGGAGGAGTGGTCA GATCTGGAAGAAGCCTGAGACTGTCATGCGCGGCTTCGGGCTTTACCTTC AACTCCTACGGCCTCCACTGGGTGCGCCAGGCCCGGAAAAGGCCTCGA ATGGGTGCGCACTGATTGAGTACGACGGGTCCAACAAGTACTACGGAGATA GCGTGAAGGGCCGCTTACCATCTCACGGGACAAGTCCAAGTCCACCCTG TATCTGCAAATGGACAACCTGAGGGCCGAGGATACTGCCGTGTACTACTG CGCCCGCAAGGAAACGAAGATCTGGCCTTCGATATTTGGGGCCAGGGTA CTCTTGTGACCGTGTGCGAGCGGAGGCGGAGGCTCCGGTGGAGGAGGATCG GGGGGTGGTGGTTCCGGCGGGCGGGGGAGCGAAATCGTGCTGACCCAGTC GCCTTCCTCCCTCTCCGCTTCCGTGGGGGACCGGGTCACTATTACGTGTC AGGCGTCCCAATTATCAAGAAGAATCTGAACTGGTACCAGCACAGCCG GGAAAGGCCCCAACTGCTCATCTACGACGCCAGCTCGCTGCAGACTGG CGTGCTTCCCGGTTTTCCGGGAACCGGTGCGGAACCACTTCTCATTCA CCATCAGCAGCCTCCAGCCGGAGGACGTGGCGACCTACTACTGCCAGCAG CATGACAACCTTCCACTGACTTTCGGCGGGGGCACCAAGGTCGAGATTAA GACCACTACCCAGCACCAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCT CCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGC CCCTCTGGCTGGTACTTTCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTC TTTACTGTAAGCGCGGTGCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCG GTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCC GCAGCGCAGATGCTCCAGCTACAAGCAGGGGCAGAACCACTCTACAAC

[0481]

		GAACCTAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAG AGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAG AGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGC GAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACT GTACCAGGGACTCAGCACCCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
146263		
146263- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 12	50	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVSSNYMTWVRQAPGKGLEWVS IYSGGATYYGDSVKGRFTVSRDNSKNTVYLQMNRLTAEDTAVYYCARDRL YCGNNCYLYYYYGMDVWGQGTILVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSDIQ VTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSTPPLTFGQGT KVEIK
146263- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 12	63	CAAGTGCAACTCGTGAATCAGGCGGAGGACTCGTGCAACCCGGAGGTTT CCTTAGACTGTCATGTGCCGCTTCCGGGTCAATGTGTCCAGCAACTACA TGACCTGGGTGACAGAGGCGCGGGAAGGACTTGAATGGGTGTCCGTG ATCTACTCCGGTGGAGCAACATACTACGGAGACTCCGTGAAAGGCCGCTT TACCGTGTCCCGCGATAACTCGAAGAACACCGTGTACTTGCAGATGAACA GGCTGACTGCCGAGGACACCGCGTGTATTATTGCGCCCGGACAGGCTG TACTGTGGAACAACCTGCTACCTGTACTACTACTACGGGATGGACGTGTG GGGACAGGGCACTCTCGTCACGTGTGTATCCGGGGGGGGCGGTAGCGGTG CGGAGGGTCCGGCGGAGGAGGCTCAGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAG GTCACCCAGTCTCCCTCCTCGTGTCCGCTCCGTGGGCGACCGCGTCAC CATTACTTGCCGGGCGTCGCACTCGATCAGCTCCTACCTGAAGTGGTACC AGCAGAAGCCTGGAAGGCCCCGAAGCTGCTGATCTACGCGGCCTCGTCC CTGCAAGCGCGCTCCGTCGCGGTTTCCGCGTTCCGTTCCGGAACCGA CTTACCCTGACTATTTCTCCTCGCAACCCGAGGATTTCCGCACTTACT ACTGCCAGCAGTCTTACTCCACCCACCTCTGACCTTCGGCCAAGGAACC AAGTGCGAAATCAAG
146263- aa ScFv의 VH CLL-1 CAR 12	76	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVSSNYMTWVRQAPGKGLEWVS IYSGGATYYGDSVKGRFTVSRDNSKNTVYLQMNRLTAEDTAVYYCARDRL YCGNNCYLYYYYGMDVWGQGTILVTVSS
146263- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 12	89	DIQVTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSTPPLTFG QGTKEIK
146263- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 12	102	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNV SSNYMTWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGATYYGDSVKGRFTVSRDNSKNTVY LQMNRLTAEDTAVYYCARDRLYCGNNCYLYYYYGMDVWGQGTILVTVSSG GGSGGGSGGGSGGGSGGSDIQVTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSY LNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPED FATYYCQQSYSTPPLTFGQGTKEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSCRFEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY KQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPFEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
146263- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 12	115	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGTCTCA CGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAACTCGTGAATCAGGCGGAGGACTCGTGC AACC CGGAGGTCCCTTAGACTGTCATGTGCCGCTTCCGGGTCAATGTG TCCAGCAACTACATGACCTGGGTGACAGGCGCCGGGAAGGGACTTGA ATGGGTGTCCGTGATCTACTCCGGTGGAGCAACATACTACGGAGACTCCG TGAAAGGCCGCTTTACCGTGTCCCGCGATAACTCGAAGAACACCGTGTAC TTGCAGATGAACAGGCTGACTGCCGAGGACACCGCGTGTATTATTGCGC

[0482]

		CCGGGACAGGCTGTACTGTGGAAACAACCTGCTACCTGTACTACTACTACG GGATGGACGTGTGGGGACAGGGCACTCTCGTCACTGTGTCAATCCGGGGGG GGCGGTAGCGGTGGCGGAGGGTCCGGCGGAGGAGGCTCAGGGGGAGGCGG AAGCGATATCCAGGTACCCAGTCTCCCTCCTCGCTGTCCGCCTCCGTGG GCGACCGCGTCACCACTTACTTGCCGGGCGTCGCGAGTCGATCAGCTCCTAC CTGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCGAAGCTGCTGATCTA CGCGGCCTCGTCCCTGCAAAGCGGCGTCCCGTCGCGGTTACGCGGTTCCG GTTCCGGAACCGACTTCACCTGACTATTTCTCCCTGCAACCCGAGGAT TTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGTCTACTCCACCCACCTCTGACCTT CGGCCAAGGAACCAAGGTCGAAATCAAGACCACTACCCAGCAGCCGAGGC CACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCG GAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGA CTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCAGGG TCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTGCGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTAC TCAAGAGGAGGACGGCTGTTATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCG GCTGCGAAGTGCAGTGAATTCAGCCGCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTAC AAGCAGGGGCGAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGA GGAGTACGAGCTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCG GGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACG CAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGACTGTACCAGGACTCAGCACCGCCA CCAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
139115		
139115- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 1	39	EVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDL EMATIMGGYWGQGTILVTVSSGGGSGGGSGGGSGSALTQPASVSGSPG QSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFS GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSSSTLDVVFGGGKLTVL
139115- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 1	52	GAAGTGCAACTCCAACAGTCAGGCGCAGAAGTCAAGAAGCCCGGATCGTC AGTGAAAGTGTCTGCAAAGCCTCCGGCGGAACCTTCAGCTCCTACGCAA TCAGCTGGGTGCGGCAGGCGCCGGACAGGGACTGGAGTGGATGGCGGT ATCATTCCGATCTTTGGCACCGCCAATTACGCCCAGAAGTTCAGGGACG CGTCACAATCACCGCCGACGAATCGACTTCCACCGCCTACATGGAGCTGT CGTCCTTGAGGAGCGAAGATACCGCCGTGTACTACTGCGCTCGGGATCTG GAGATGGCCACTATCATGGGGGTTACTGGGGCCAGGGGACCTGGTCAC TGTGTCTCGGGAGGAGGGGGATCAGGCGGCGGCGGTTCCGGGGAGGAG GAAGCCAGTCCGCGCTGACTCAGCCAGCTTCCGTGTCTGGTTCGCCGGGA CAGTCCATCACTATTAGCTGTACCGGCACCAGCAGCGACGTGGGCGGCTA CAACTATGTGTATGGTACCAGCAGCACCCGGGGAAGGCGCCTAAGCTGA TGATCTACGACGTGTCCAACCGCCCTAGCGGAGTGTCCAACAGATTCTCC GGTTCGAAGTCAGGGAACACTGCCTCCCTCACGATTAGCGGGCTGCAAGC CGAGGATGAAGCCGACTACTACTGCTCCTCCTATACCTCCTCCTCGACCC TGACGCTGGTGTTCGGAGGAGGCACCAAGCTCACCGTCTCT
139115- aa ScFv의 VH CLL-1 CAR 1	65	EVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDL EMATIMGGYWGQGTILVTVSS
139115- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 1	78	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMI YDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSSSTLD VVFGGGKLTVL
139115- aa 전장 CAR	91	MALPVTALLPLALLHAARPEVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTF SSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTA

[0483]

CLL-1 CAR 1		YMESSSLRSEDVAVYYCARDLEMATIMGGYWGQGLVTVSSGGGSGGGG SGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK APKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCYSSYT SSSTLDVVFVGGGKTLVLTTPAPRPTTAPPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSGRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLY NELNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139115- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 1	104	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTCCAACAGTCAGGCGCAGAAGTCAAGA AGCCCGGATCGTCAGTGAAAGTGTCTCTCAAAGCCTCCGGCGGAACCTTC AGCTCTACGCAATCAGCTGGGTGCGGCAGGCGCCCGGACAGGGACTGGA GTGGATGGGCGGTATCATTCCGATCTTTGGCACCGCCAATTACGCCCAGA AGTTCAGGGACGCGTCACAATCACCGCCGACGAATCGACTTCCACCGCC TACATGGAGCTGTCTGTCCTTGAGGAGCGAAGATACCGCCGTGTACTACTG CGCTCGGGATCTGGAGATGGCCACTATCATGGGGGTTTACTGGGGCCAGG GGACCTGGTCACTGTGTCTCGGGAGGAGGGGATCAGGCGGCGGCGGT TCCGGGGGAGGAGGAAGCCAGTCCGCGCTGACTCAGCCAGCTTCCGTGTC TGGTTCGCCGGGACAGTCCATCACTATTAGCTGTACCGGCACAGCAGCG ACGTGGGCGGCTACAACATATGTGTATGGTACCAGCAGCACCCGGGGAAG GCGCCTAAGCTGATGATCTACGACGTGTCCAACCGCCCTAGCGGAGTGTC CAACAGATTCTCCGGTTCGAAGTCAGGGAACACTGCCTCCCTCACGATTA CGGGCTGCAAGCCGAGGATGAAGCCGACTACTACTGCTCCTCTATACC TCCTCCTCGACCTGGACGTGGTGTTCGGAGGAGGACCAAGCTCACCGT CCTTACCACTACCCAGCAGCAGGAGCCACCCACCCGGCTCCTACCATCG CCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGT GGGGCGGTGCATACCCGGGGTCTTACTTCCGCTGCGATATCTACATTTG GGCCCTCTGGCTGGTACTTGGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCA CTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAA CCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATG CCGTTCGCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGTGCGAACTGCGCGTGAAATTCA GCCGAGCGCAGATGCTCCAGCTACAAGCAGGGGAGAACAGCTCTAC AACGAACCTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGTGGACAAGCG GAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAAATCCCC AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTAT AGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGG ACTGTACCAGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTC ACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139116		
139116- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 2	40	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSL ISGDDGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCARVF DSYYMDVWVGKTTVTVSSGGGSGGGGSGSGGSEIVLTQSPLSLPVTGPGQ PASISCRSSQSLVYTDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGVPDRF SGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQGTHTWSFTFGQGRLEIK
139116- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 2	53	GAAGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTGCAACCTGGAGGAAG CCTGAGACTGTCTATGTCCGCTCGGGATTCACTTTCGATGACTACGCAA TGCACTGGGTCCGCCAGGCCCGCGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCCTC ATCTCCGGCGATGGGGGTTCCACTTACTATGCGGATTCTGTGAAGGGCCG CTTCACAATCTCCCGGACAATTCCAAGAACAACCTGTACCTTCAAATGA ACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGCTGTGTACTACTGCGCGAGAGTGTTT GACTCGTACTATATGGACGTCTGGGGAAAGGGCACCGTGACCGTGTC CAGCGGTGGCGGTGGATCGGGGGGCGGCGGCTCCGGGAGCGGAGGTTCCG

[0484]

		AGATTGTGCTGACTCAGTCGCCGTTGTCACTGCCTGTACCCCCGGGCAG CCGGCCTCCATTTTCATGCCGGTCCAGCCAGTCCCTGGTCTACACCGATGG GAACACTTACCTCAACTGGTTCCAGCAGCGCCAGGACAGTCCCGCGGA GGCTGATCTACAAAGTGTCAAACCGGGACTCCGGCGTCCCCGATCGGTTT TCGGGAAGCGGCAGCGACACCGACTTCACGCTGAAGATTCCCGCGTGGA AGCCGAGGACGTGGGCATCTACTACTGTATGCAGGGCACCCACTGGTCGT TTACCTTCGGACAAGGAAGTCTAGGCTCGAGATCAAG
139116- aa ScFv의 VH CLL-1 CAR 2	66	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSL ISGDDGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCARVF DSYYMDVWGKTTVTVSS
139116- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 2	79	EIVLTQSPSLSLPVP GPASISCRSSQSLVYTDGNTYLNWFQQRPGQSPR RLIYKVSNRDSGV PDRFSGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQGT HWS FTFGQGT RLEIK
139116- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 2	92	MALPVTALLLP LALLLHAARPEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTF DDYAMHWVRQAPGKLEWVSLISGDDGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRVEDTAVYYCARVFD SYMDVWGKTTVTVSSGGGSGGGGSG SGGSEIVLTQSPSLSLPVP GPASISCRSSQSLVYTDGNTYLNWFQQRPG QSPRRLIYKVSNRDSGV PDRFSGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQGT HWSFTFGQGT RLEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSE IGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139116- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 2	105	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCGAAGTCAATTGGTGGAAGCGGAGGAGGAGTGGTGC AACCTGGAGGAAGCCTGAGACTGTCATGTGCCGCTCGGGATTCACTTTC GATGACTACGCAATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCGCGAAAGGGTCTGGA ATGGGTGTCCTCATCTCCGGCGATGGGGGTTCCTACTATGCGGATT CTGTGAAGGGCCGCTTCACAATCTCCGGGACAATTCCAAGAACA CTCTG TACCTTCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGCTGTGTACTACTG CGCGAGAGTGT TTTGACTCGTACTATATGGACGTCTGGGGAAAGGGCACCA CCGTGACCGTGTCCAGCGGTGGCGGTGGATCGGGGGGCGGCGGTCCGGG AGCGGAGGTTCCGAGATTGTGCTGACTCAGTCGCCGTTGTCACTGCCTGT CACCCCGGGGAGCCGGCCTCCATTTCATGCCGGTCCAGCCAGTCCCTGG TCTACACCGATGGGAACACTTACCTCAACTGGTTCAGCAGCGCCAGGA CAGTCCCGCGGAGGCTGATCTACAAAGTGTCAAACCGGGACTCCGGCGT CCCCGATCGGTTCTCGGGAAGCGGCAGCGACACCGACTTCACGTGAAGA TTTCCCGCGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCATCTACTACTGTATGCAGGGC ACCCACTGGTCTGTTTACCTTCGGACAAGGAAGTAGGCTCGAGATCAAGAC CACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCC AGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCC GTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCC TCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCCTACTCGTGATCACTCTTT ACTGTAAGCGCGGTGCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTC ATGAGGCTGTGCACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGTT CCCAGAGGAGGAGGAAGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCA GCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCACTCTACAACGAA CTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGG ACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGG GCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAAGCCTATAGCGAG ATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAAGAGGCAAAGGCCACGACGACTGTA CCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGC

[0485]

		AGGCCCTGCCGCTCGG
139118		
139118- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 3	41	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVSIISVDTSKNQFSLKLYVTAADTAVYYCATPGTYIDFLSGYYPFYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPYTFGQGTKLEIK
139118- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 3	54	CAAGTGCAGCTTCAAGAAAGCGGTCCAGGACTCGTCAAGCCATCAGAAACTCTTTCCCTCACTTGTACCGTGTCTGGGAGGCAGCATCTCCTCGAGCTCCTACTACTGGGGTTGGATTAGACAGCCCCGGGAAAGGGGTTGGAGTGGATCGGTTCCATCTACTACTCCGGGTCGACCTACTACAACCTTCCCTGAAATCTCGGGTGTCCATCTCCGTCGACACCTCCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAAATATGTGACCGCGGCCGATACTGCCGTGTACTATTGCCGCCACCCCGGAACTACTACGACTTCTCTCGGGTACTACCCGTTTTACTGGGGACAGGGGACTCTCGTGACCGTGTCTCGGGCGCGGAGGTTTACGCGGTGGCGGATCGGGGGGAGGAGGCTCAGACATTGTGATGACCCAGAGCCCGTCCAGCTGAGCGCCTCCGTGGGCGATAGGGTCACGATTACTTGCCGGGCGTCCCAAGGAATCTCAAGCTACCTGGCCTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAGGCACCAAGTTGCTGATCTATGCCGCTAGCACTCTGCAGTCCGGGGTGCCTTCCGCTTCTCCGGCTCCGGCTCGGGCACCAGCTTACCTGACCATTTCTCTCACTCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGTGAACCTCTACCTTACACATTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAG
139118- aa ScFv의 VH CLL-1 CAR 3	67	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVSIISVDTSKNQFSLKLYVTAADTAVYYCATPGTYIDFLSGYYPFYWGQGLVTVSS
139118- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 3	80	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPYTFGQGTKLEIK
139118- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 3	93	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVSIISVDTSKNQFSLKLYVTAADTAVYYCATPGTYIDFLSGYYPFYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPYTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139118- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 3	106	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTCCGCTGGCTCTCTGCTCCACGCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTTCAAGAAAGCGGTCCAGGACTCGTCAAGCCATCAGAACTCTTTCCCTCACTTGTACCGTGTCTGGGAGGCAGCATCTCCTCGAGCTCCTACTACTGGGGTTGGATTAGACAGCCCCGGGAAAGGGGTTGGAGTGGATCGGTTCCATCTACTACTCCGGTTCGACCTACTACAACCTTCCCTGAAATCTCGGGTGTCCATCTCCGTCGACACCTCCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAAATATGTGACCGCGGCCGATACTGCCGTGTACTATTGCGCCACCCCGGGAACCTACTACGACTTCTCTCGGGTACTACCCGTTTTACTGGGGACAGGGGACTCTCGTGACCGTGTCTCGGGCGGCGGAGGTTCAGGCGGTGGCGGATCGGGGGGAGGAGGCTCAGACATTGTGATGACCCAAGCCCGTCCAGCCTGAGCGCCTCCGTGGGCGATAGGGTCACGATTACTTGCCGGCGTCCCAGGAATCTCAAGCTACCTGGCCTGGTACCAACAGAAGCCCGAAAGGCACCAAGTTGCTGATCTATGCCGCTAGCACTCTGCAGTCCGGGTGCCTTCCGCTTCTCCGGCTCCGGCTCGGGCACCAGCTTCAACC

[0486]

		TGACCATTTCTCACTGCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAG CAGCTGAACTCCTACCCTTACACATTTCGACAGGGAACCAAGCTGGAAAT CAAGACCACTACCCAGCACCAGGCGCCACCCACCCGGCTCCTACCATCG CCTCCACAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGT GGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTG GGCCCTCTGGCTGGTACTTGCAGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCA CTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAA CCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATG CCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCA GCCCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG GAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCC AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAAGCCTAT AGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGG ACTGTACCAGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTC ACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
139122		
139122- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 4	42	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMWVRQAPGKGLEWVAN INEDGSAKFYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFCARDL RSGRYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSEIVLTQSPGTLSPGGRATL LSCRASQSI SG SFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSPPFTFGLGTLKLEIK
139122- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 4	55	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGAGGACTCGTGCAACCCGGAGGATC ATTGCGACTCTCGTGTGCGGCATCCGGCTTTACCTTTTCATCCTACTGGA TGTCCTGGGTGAGACAGGCCCCCGGGAAGGACTGGAATGGGTGCGGAAC ATCAACGAGGACGGCTCGGCCAAGTTCTACGTGGACTCCGTGAAGGCGCG CTTCACGATCTCACGGGATAACGCCAAGAATTCCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGGGCCGAGGACACTGCGGTGTACTTCTGCGCACGCGACCTG AGGTCGGGAGATACTGGGGACAGGGCACCTCGTGACCGTGTGAGCGCG AGGAGGGGGGTGCGGCGGCGCGGTTCGGGTGGCGGCGGTAGCGAAATTG TGTTGACCCAGTCCCCGGAACCTGAGCCTGTACCTGGAGGACGCGCC ACCTGTCTGCGGGGCCAGCCAGAGCATCTCAGGGTCCTTCCTGGCTTG GTACAGCAGAAAGCCGGGACAGGCTCCGAGACTTCTGATCTACGGCGCT CCTCGGGGCGACCGGAATCCCGGATCGGTTCTCCGGCTCGGGAAGCGGA ACTGACTTCACTCTTACCATTTCCTCGCTGGAGCCGGAAGATTTCGCGGT GTACTACTGCCAGCAGTACGGGTCTCCCTCCAACCTTCGGCTGGGAA CTAAGCTGGAAATCAA
139122- aa ScFv의 VH CLL-1 CAR 4	68	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMWVRQAPGKGLEWVAN INEDGSAKFYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFCARDL RSGRYWGQGLTVTVSS
139122- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 4	81	EIVLTQSPGTLSPGGRATLSCRASQSI SG SFLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSPPFTF GLGTLKLEIK
139122- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 4	94	MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYWMWVRQAPGKGLEWVANINEDGSAKFYVDSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTAVYFCARDLRSGRYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGG GSEIVLTQSPGTLSPGGRATLSCRASQSI SG SFLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSPP FTFGLGTLKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE

[0487]

		RRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPFR
139122- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 4	107	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGC AACCCGGAGGATCATTGCGACTCTCGTGTGCGGCATCCGGCTTTACCTTT TCATCTACTGGATGTCTGGGTGAGACAGGCCCCCGGAAGGGACTGGA ATGGGTGCGCAACATCAACGAGGACGGCTCGGCCAAGTTCTACGTGGACT CCGTGAAGGGCCGCTTACGATCTCACGGGATAACGCCAAGAATTCCCTG TATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACTGCGGTGTACTTCTG CGCACGCGACCTGAGGTCCGGGAGATACTGGGGACAGGGCACCTCGTGA CCGTGTCGAGCGGAGGAGGGGGTCTGGGCGGCGGCGGTTCGGGTGGCGGC GGTAGCGAAATTGTGTTGACCCAGTCCCTTGAACCTGAGCCTGTCAAC TGGAGGACGCGCCACCCTGTCTTCCGGGCGCAGCCAGAGCATCTCAGGGT CCTTCTGCTGGTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGGCTCCGAGACTTCTG ATCTACGGCGCCTCCTCGCGGGCGACCGGAATCCCGGATCGGTTCTCCGG CTCGGAAGCGGAAGTACTTCACTCTTACCATTTCGCCCTGGAGCCGG AAGATTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGGGTCTATCCCTCCAACC TTCGGCTGGGAAGTAAAGCTGGAATCAAAACCACTACCCAGCACCAG GCCACCCACCCCGCTCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTC CGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGTCTT GACTTCGCTGCGATATCTACATTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGGCG GGTCTGCTGCTTCACTCGTGATCACTCTTACTGTAAGCGCGGTGGA AGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCTGTGCAGACT ACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGG CGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCT ACAAGCAGGGGCAGAACAGCTCTACAACGAAGTCAATCTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCTGTACACGAGCTCC AAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAA CGCAAGAGGCAAGGCCACGAGGACTGTACCAGGAGTACGACCCGCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
139117		
139117- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 5	43	EVQLQQSGPGLVRPSETLSLTCTVSGGPVRS GSHYWNWIRQPPGRGLEWI GYIYYSGSTNYPNPSLENRVITISIDTSNNHFS LKLSVTAADTALYFCARG TATFDWNFPFDSWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGSGSDIQMTQSPSSLS ASIGDRVITICRASQSISSYLNWYQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYS TPWTFGQGTKLEIK
139117- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 5	56	GAAGTGCAACTCCAACAATCCGGTCCAGGACTCGTCAGACCTCCGAAAC TCTCTCGCTTACATGCACTGTGTCCGGCGGCCCTGTGCGGTCCGGCTCTC ATTACTGGAATGGATTCCGCCAGCCCCCGGACGCGGACTGGAGTGGATC GGCTACATCTATTACTCGGGGTGACTAACTACAACCCGAGCCTGGAAAA TAGAGTGACCATCTCAATCGACACGTCCAACAACCACTTCTCGCTGAAGT TGTCCTCCGTGACTGCCGCCGATACTGCCCTGTACTTCTGTGCTCGCGGA ACCGCCACCTTCGACTGGAACCTCCCTTTTGACTCATGGGGCCAGGGGAC CCTTGAGACCGTGTCCAGCGGAGGAGGAGCTCCGGTGGTGGCGGGAGCG GTAGCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGTCACCGTCTCTGCTGTCC GCATCCATTGGGGATCGGGTCACTATTACTTGCCGGGCGTCCAGTCCAT CTCGTCTTACCTGAAGTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCAAGC TGCTGATCTACCGGCCAGCAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCTTCAAGGTTT AGCGGCAGCGGATCGGGAACCGACTTACCCCTGACCATTTCCTCCCTCCA ACCCGAGGATTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCTACTCCACCCCGT GGACCTTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAGATCAAG
139117- aa	69	EVQLQQSGPGLVRPSETLSLTCTVSGGPVRS GSHYWNWIRQPPGRGLEWI

[0488]

ScFv의 VH CLL-1 CAR 5		GYIYYSGSTNYPNPSLENRVTTISIDTSNNHFSCLKSSVTAADTALYFCARG TATFDWNFFPDSWGQGLTVTVSS
139117- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 5	82	DIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPWFQG GTKLEIK
139117- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 5	95	MALPVTALLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVRPSETLSLTCTVSGGPV RSGSHYWNWIRQPPGRGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLENRVTTISIDTSNNH FSLKLSSVTAADTALYFCARGTATFDWNFFPDSWGQGLTVTVSSGGGGSG GGSGSGGSDIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQS YSTPWFQGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKF SRSDAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDRKRRGRDPEMGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSE IGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139117- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 5	108	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTCCAACAATCCGGTCCAGGACTCGTCA GACCTCCGAACTCTCTCGCTTACATGCACTGTGTCCGGCGGCCCTGTG CGGTCCGGCTCTCATTACTGGAAGTGGATTCGCCAGCCCCCGGGACGCGG ACTGGAGTGGATCGGCTACATCTATTACTCGGGGTGCGACTAACTACAACC CGAGCTGGAAAATAGAGTGACCATCTCAATCGACACGTCCAACAACCAC TTCTCGCTGAAGTTGTCCTCCGTGACTGCCGCCGATACTGCCCTGTACTT CTGTGCTCGCGGAACCGCCACCTTCGACTGGAAGTCCCTTTTGACTCAT GGGGCCAGGGGACCTTGTGACCGTGTCCAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGT GGTGGCGGGAGCGGTAGCGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGTCACC GTCTCTCGCTGTCCGCATCCATTGGGGATCGGGTCACTATTACTTGCCGGG CGTCCCAGTCCATCTCGTCTACCTGAAGTGGTATCAGCAGAAGCCAGGG AAAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCGGCCAGCAGCTGCAGTCAGGAGT GCCTTCAAGGTTTAGCGGCAGCGGATCGGGAACCGACTTCACCTGACCA TTTCTTCCCTCCAACCGAGGATTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCC TACTCCACCCCGTGACCTTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAGATCAAGAC CACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCC AGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGACGCTGGTGGGGCC GTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCC TCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTT ACTGTAAGCGCGGTGCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCCTT ATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTT CCCAGAGGAGGAGGAAGCGGCTGCGAAGTGCAGCTGAAATTCAGCCGCA GCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG ACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGG GCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAAGCCTATAGCGAG ATTGGTATGAAAGGGGAACGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG CCAGGAGTCAAGACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGC AGGCCCTGCCGCTCGG
139120		
139120- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 7	45	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAPGKLEWVSS ISSSSSYIYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDP SSSGSYIMEDSYYIGMDVWGQGTIVTVSSGGGGSGGGSGGGSGNFMILTQ PHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQRPQSAPTIVIEDNQRP SGVPDRFSGSIDSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSNQVVFVGGGT KLTVL

[0489]

139120- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 7	58	GAAGTGCAATTGGTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGAAACCTGGTGGAAG CCTGAGACTTTTCTGTGCGGCCTCGGGATCACTTTCTCCTCTACTCCA TGAAGTGGGTGAGACAGGCCCTGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCATCC ATCTCCTCCTCATCGTCGTACATCTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGGCG GTTTACCATTTCCTGGGACAACGCTAAGAACAGCCTCTATCTGCAAAATGA ATTCCTCCGCGCCGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGCGAGGGACCCC TCATCAAGCGGCAGCTACTACATGGAGGACTCGTATTACTACGGAATGGA CGTCTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACGGTGTCTCCGGTGGAGGGGGCT CCGGGGGCGGGGATCTGGCGGAGGAGGCTCCAACCTCATGCTGACCAG CCGCACTCCGTGTCCGAAAGCCCCGAAAGACCGTGACAATTTCTGCAC CGGGTCTCCGGCTCGATCGCATCAAACCTACGTGCAGTGGTACCAGCAGC GCCCCGGGAGCGCCCCCACTGTCTACGAGGATAACCAGCGGGCG TCGGGTGTCCAGACCGGTTTTCCGGTTCGATCGATAGCAGCAGCAACAG CGCCTCCTGACCATTTCCTGGCTCAAGACCGAGGATGAGGCTGACTACT ACTGCCAGTCTGATGACTCCTCGAACCAAGTGGTGTTCGGTGGCGGCACC AAGCTGACTGTGCTG
139120- aa ScFv의 VH CLL-1 CAR 7	71	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSS ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDP SSSGSYMEDSYYYGMDVWVGQGTITVTVSS
139120- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 7	84	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQRPQSAPTTVIY EDNQRPSPGVDRFSGSIDSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNQV VFGGGTKLTVL
139120- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 7	97	MALPVTALLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTF SSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCARDPSSSGSYMEDSYYYGMDVWVGQGTITVTVSS GGGSGGGGSGGGSNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQ WYQRPQSAPTTVIYEDNQRPSPGVDRFSGSIDSSNSASLTISGLKTE EADYYCQSYDSSNQVVFVGGGTKLTVLTTTPAPRPPPTAPPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY KQGQQLYLNELNLRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139120- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 7	110	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAATTGGTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGA AACCTGGTGGAAGCCTGAGACTTTCTGTGCGGCCCTCGGGATTCATTTC TCCTCTACTCCATGAACTGGGTGAGACAGGCCCTGGGAAGGGACTGGA ATGGGTGTGATCCATCTCCTCCTCATCGTCGTACATCTACTACGCCGATA GCGTGAAGGGGCGGTTACCAATTTCCCGGACAACGCTAAGAACAGCCTC TATCTGCAAAATGAATTCCTCCGCGCCGAGGACACTGCCGTGTACTACTG CGCAGGGACCCCTCATCAAGCGGCAGCTACTACATGGAGGACTCGTATT ACTACGGAATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACGGTGTCTCTC GGTGAGGGGGGCTCCGGGGGCGGGGATCTGGCGGAGGAGGCTCCAACCT CATGCTGACCCAGCCGCACTCCGTGTCCGAAAGCCCCGAAAGACCGTGA CAATTTCTGCACCGGGTCTCCTCGGCTCGATCGCATCAAACCTACGTGCAG TGGTACCAGCAGCGCCCGGGCAGCGCCCCCACTGTCTATCTACGAGGA TAACCAGCGGCGTCCGGTGTCCAGACCGGTTTTCCGGTTCGATCGATA GCAGCAGCAACAGCGCCTCCCTGACCAATTTCCGGCCTCAAGACCGAGGAT GAGGCTGACTACTACTGCCAGTCGTATGACTCCTCGAACCAAGTGGTGT CGGTGGCGGCACCAAGCTGACTGTGCTGACCACTACCCAGCACCGAGGC CACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCG GAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGA CTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCAGGG

[0490]

		TCCTGCTGCTTTCTACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTGCGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTAC TCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCG GCTGCGAACTGCCCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTAC AAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACCTCAATCTTGGTCGGAGAGA GGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCG GGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACG CAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCA CCAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139121		
139121- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 8	46	QVNLRESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYEMNWVRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARE ALGSSWEWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSTRFSGS SGTDFTFITISLQPEDIAITYCQQYDNLPLTFGGGKLEIK
139121- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 8	59	CAAGTGAACTGAGAGAAAGCGGCGGAGGACTGTGCAACCTGGAGGAAG CCTGAGACTGTATGTGCCGCGTCCGGCTTACCTTCTCGTCTACGAGA TGAAGTGGGTCCGCCAGGCACCGGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCTAC ATTTCTCTCGTCCGGGTCCACCATCTATTACGCCGACTCCGTGAAGGACG GTTACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAATCCCTCTACCTCCAAATGA ACTCACTGAGGGCAGAGGACACTGCGGTCTACTACTGCGCCCGGAAGCT TTGGGTAGCTCCTGGGAGTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACCGTGTCTC GGGTGGAGGGGGCTCCGGTGGCGGGGTTCAGGGGGTGGCGGAAGCGATA TCCAGATGACTCAGTCACCAAGCTCCCTGAGCGCCTCAGTGGGAGATCGG GTCACAATACGTGCCAGCGTCCAGGACATTTCTAACTACCTCAATTG GTACCAGCAGAAGCCGGGAAGGCCCCCAAGCTTCTGATCTACGATGCCT CCAACCTGGAACCGGCGTGCCCTCCCGCTTCTCGGGATCGGCAGCGGC ACTGACTTCACCTTTACCATCTCGTCCCTGCAACCTGAGGACATCGCCAC CTATTACTGCCAGTACGATAAACCCTCCCGCTGACTTTCGGAGGCGGAA CTAAGCTGGAGATTAAG
139121- aa ScFv 의 VH CLL-1 CAR 8	72	QVNLRESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYEMNWVRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARE ALGSSWEWGQGTITVTVSS
139121- aa ScFv 의 VL CLL-1 CAR 8	85	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSTRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIAITYCQQYDNLPLTFGG GKLEIK
139121- aa 전장 CAR CLL-1 CAR 8	98	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVNLRESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYEMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCAREALGSSWEWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLL IYDASNLETGVPSTRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIAITYCQQYDNLPLT FGGGKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKQHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139121- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 8	111	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCAAGTGAACCTGAGAGAAAGCGGCGGAGGACTTGTGC AACCTGGAGGAAGCCTGAGACTGTATGTGCCGCGTCCGGCTTACCTTC TCGTCTACGAGATGAACTGGGTCCGCCAGGCACCGGGCAAAGGACTGGA ATGGGTGTCTACATTTCTCTCGTCCGGTCCACCATCTATTACCGCGACT

[0491]

		CCGTGAAGGGACGGTTTACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCCCTC TACCTCCAAATGAACTCACTGAGGGCAGAGGACACTGCGGTCTACTACTG CGCCCCGAAGCTTTGGGTAGCTCCTGGGAGTGGGGCCAGGGAACCACTG TGACCGTGTCTCGGGTGGAGGGGGCTCCGGTGGCGGGGGTTCAGGGGGT GGCGGAAGCGATATCCAGATGACTCAGTCACCAAGCTCCCTGAGCGCCTC AGTGGGAGATCGGGTCACAATCACGTGCCAGGCGTCCCAGGACATTTCTA ACTACCTCAATTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGAAGGCCCCCAAGCTTCTG ATCTACGATGCCTCCAACCTGGAACCGGGCTGCCCTCCCGCTTCTCGGG ATCGGGCAGCGGCACTGACTTCACCTTTTACCATCTCGTCCCTGCAACCTG AGGACATCGCCACCTATTACTGCCAGCAGTACGATAACCTCCCGCTGACT TTCGGAGGCGGAACTAAGCTGGAGATTAAGACCACTACCCAGCACCGAG GCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTC CGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTT GACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGG GGTCTGTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTACTGTAAGCGCGGTCCGA AGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCTTCATGAGGCTGTGCAGACT ACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGG CGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCT ACAAGCAGGGGCGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCC AAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAA CGCAGAAGAGGCAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
146264		
146264- aa ScFv 도메인 CLL-1 CAR 13	51	QVQLVQSGAEVKKSGASVKVSKASGYPFTGYIYQWVRQAPQGLEWMGW IDPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCASDS YGYYYGMDVWGQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSS LSASVGRVTFTRASQGISALAWYQQKPKPKLLIYDASSLESQVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNYYPLTFGGGTKEIK
146264- nt ScFv 도메인 CLL-1 CAR 13	64	CAAGTGCAACTCGTCCAGTCCGGTGCGAGAAGTGAAAAAGAGCGGAGCCTC AGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGTTACCCCTTCACTGGATACTACA TTCAGTGGGTCCGCCAAGCCCCGGGACAGGGTCTGGAGTGGATGGGGTGG ATTGACCCTAACCTCGGGAAATACGGGATACGCGCAGAAAGTTCCAGGGCCG CGTGACCATGACCAGGAACACCTCGATCAGCACCGCCTACATGGAAGTGT CCTCCCTGCGGTGCGGAGGATACTGCCGTGTACTACTGCGCCTCCGATTCC TATGGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGCACCCCTCGTGAC CGTGTCTCGGAGGCGGAGGGAGCGGCGGGGGTGGATCGGGAGGAGGCG GCTCCGGCGGGCGGGTAGCGACATCCAGATGACCCAGTCACCATCAAGC CTTAGCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACATTCACTGTGCGGCGTCCCA GGGAATCTCCTCCGCTCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGGAAGCCTC CGAAGCTGTTGATCTACGACGCGAGCAGCCTGGAATCAGGGGTGCCCTCC CGGTTTCCGGGTCCGGTCTGGCACCGATTTCACCTGACCATTTCTGTC CCTCCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGTTCAACAAC ACCCGCTGACCTTCGGAGGAGGCACTAAGGTGAGATCAAG
146264- aa ScFv의 VH CLL-1 CAR 13	77	QVQLVQSGAEVKKSGASVKVSKASGYPFTGYIYQWVRQAPQGLEWMGW IDPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCASDS YGYYYGMDVWGQGLTLTVSS
146264- aa ScFv의 VL CLL-1 CAR 13	90	DIQMTQSPSSLSASVGRVTFTRASQGISALAWYQQKPKPKLLIYD ASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNYYPLTFGG GTKVEIK
146264- aa	103	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKSGASVKVSKASGYPF

[0492]

전장 CAR CLL-1 CAR 13		TGYIYQWVRQAPGQGLEWMGWIDPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTA YMESSSLRSED TAVYYCASDSYGYGYGMDVWGQGLVTVSSGGGGSGGGG SGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTFTCRASQGISSALAWYQQK PGKPPKLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QFNYYPLTFGGGTKEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPMEGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
146264- nt 전장 CAR CLL-1 CAR 13	116	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAAGTAAAA AGAGCGGAGCCTCAGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGTTACCCCTTC ACTGGATACTACATTCAGTGGGTCCGCCAAGCCCCGGGACAGGGTCTGGA GTGGATGGGGTGGATTGACCCTAACTCGGGAAATACGGGATACGCGCAGA AGTTCCAGGGCCGCTGACCATGACCAGGAACACCTCGATCAGCACCGCC TACATGGAAGTGTCTCCCTGCGGTGCGAGGATACTGCGGTGTACTACTG CGCCTCCGATTCTATGGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGACAGG GCACCTCGTGACCGTGTCTCGGGAGGCGGAGGAGCGCGGGGGTGGGA TCGGGAGGAGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGTAGCGACATCCAGATGACCCA GTCCACCATCAAGCCTTAGCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACATTCATT GTGGGCGTCCAGGGAATCTCTCCGCTCTGGCTTGGTATCAGCAGAAAG CCTGGGAAGCCTCCGAAGCTGTTGATCTACGACGCGAGCAGCCTGGAATC AGGGGTGCCCTCCCGGTTTCCGGGTCCGGTTCTGGCACCGATTTACCCC TGACCATTTCTGTCCTTCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAG CAGTTCAACAACCTACCCGCTGACCTTCGGAGGAGGCACTAAGGTCGAGAT CAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCTACCATCG CCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGT GGGGCCGTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTG GGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCA CTCTTTACTGTAAAGCGCGGTGCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAA CCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATG CCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGCGGGTGCAGAACTGCGCGTGAAATTCAG GCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCGAACCAGCTCTAC AACGAACCTCAATCTTGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG GAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCC AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAAGCCTAT AGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAAGAGGCAAGGCCACGACGG ACTGTACCAGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTC ACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
181268		
181268- aa ScFv의 VH	195	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYEMNWVRQAPGKLEWVSY ISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDP YSSSWHDAFDIWQGTMTVSS
181268- aa ScFv의 VL	196	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSPLTFG GGTKVDIK
181268- aa 전장 CAR	197	MALPVTALLPLALLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SSYEMNWVRQAPGKLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCARDPYSSSWHDAFDIWQGTMTVSSGGGGSGG GGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYQ

[0493]

		GSSPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSE IGMKGERRRRGKGHDLGYQLSTATKDYDALHMQALPPR
181268- nt 전장 CAR	198	ATGGCCCTCCCTGTACACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTCGTGGAAGCGGTGGAGGTCTTGTGC AACCTGGAGGTTCTTGGCCTGTCTATGTGCAGCTTCCGGCTTCACTTTC TCCTCGTACGAGATGAATTGGGTGCGGCAGGCGCCTGGAAGGGGCTGGA ATGGGTGTCCTACATCTCAAGCTCCGGCTCGACCATCTACTACGCGGACA GCGTGAGGGGGCGGTTACGATTTTCGAGGGACAACGCCAAGAAGCTCGCTC TATCTGCAATGAAGTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCTGTGTATTACTG CGCCCGGGACCCCTACTCCTCCTCATGGCACGACGCCCTTGATATCTGGG GCCAGGAACCATGGTCACCGTCAGCAGCGGGGGCGGAGGTTCCGGGGGA GGGGGCTCCGGCGGAGGAGGCTCCGAGATTGTGTGACTCAGAGCCCGGG TACCCTGTGCTGAGCCCCGAGAGCGGGGCCACCTTTTCATGCCGCGCCA GCCAGTCCGTGTCTCATCTACCTCGCGTGGTACCAGCAGAAACCTGGC CAGGCCCGCGGCTGCTGATCTACGGCGCCTCCTCGCGCGCAACCGGAAT CCCCGACCGGTTCTCCGGGTCTGGCAGCGGAACCGACTTCACTCTACCA TTTCGAGGCTGGAGCCGGAAGATTTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTAC GGCTCCTCGCCACTGACTTTCGGCGGAGGAACCAAGTTCGATATCAAGAC CACTACCCAGCACCAGGCGCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCC AGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCC GTGCATACCCGGGTCTTGACTTCCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCC TCTGGCTGGTACTTGGCGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTT ACTGTAAGCGCGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTAAGCAACCTTC ATGAGGCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGTT CCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAAGTGCCTGAAATTACGCCGCA GCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCGAGAACCAGCTCTACAACGAA CTCAATCTTGGTCGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGG ACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGG GCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAG ATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAGAGGCAAGGCCACGACGACTGTA CCAGGGACTCAGCACGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGC AGGCCCTGCCGCTCGG

[0494]

[0495]

실시양태에서, CAR scFv 단편은 이어서 렌티바이러스 벡터 내로 클로닝되어 단일 코딩 프레임 내에서, 발현을 위한 EF1 알파 프로모터 (서열식별번호: 11)를 사용하여 전장 CAR 구축물을 생성한다.

[0496]

EF1 알파 프로모터

CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGG
CAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCTTTTT
CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCCTGCTTGAAT
TACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCCGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTTCGAGGCCT
TGCGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCTCGTGTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCGCTGCGAATCT
GGTGGCACCTTCGCGCTGTCTCGTGTCTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAATTTTTGATGACCTGTGCGAC
GCTTTTTTCTGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTTGGGGCCGCG
GGCGGCGACGGGGCCCGTGCCTCCAGCGCACATGTTCCGCGAGGCGGGGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCG
GACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCGTGTATCGCCCCGCCTGGGC
GGCAAGGCTGGCCCGGTCCGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCA
AAATGGAGGACGCGCGCTCGGAGAGCGGGCGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAG
CCGTCGCTTCAATGTGACTCCAGGAGTACCGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTCTCGAGCTTTTGAGTAC
GTCGTCTTTAGGTTGGGGGAGGGTTTTATGCGATGGAGTTTTCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGG
CCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCCTTGGAAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCAATCTCAAGCCTC
AGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTCTTCCATTTAGGTGTCGTGA

[0497]

[0498]

Gly/Ser (서열식별번호: 25)

[0499]

GGGGS

[0500]

Gly/Ser (서열식별번호: 26): 이 서열은 1-6개의 "Gly Gly Gly Gly Ser" 반복 단위를 포괄할 수 있다

[0501]

GGGSGGGGS GGGSGGGGS GGGSGGGGS

- [0502] Gly/Ser (서열식별번호: 27)
- [0503] GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS
- [0504] Gly/Ser (서열식별번호: 28)
- [0505] GGGGSGGGGS GGGGS
- [0506] Gly/Ser (서열식별번호: 29)
- [0507] GGGS
- [0508] 폴리A: (A)₅₀₀₀ (서열식별번호: 30)
- [0509] 이 서열은 50-5000개의 아데닌을 포괄할 수 있다.
- [0510] 폴리A: (T)₁₀₀ (서열식별번호: 31)
- [0511] 폴리A: (T)₅₀₀₀ (서열식별번호: 32)
- [0512] 이 서열은 50-5000개의 티민을 포괄할 수 있다.
- [0513] 폴리A: (A)₅₀₀₀ (서열식별번호: 33)
- [0514] 이 서열은 100-5000개의 아데닌을 포괄할 수 있다.
- [0515] 폴리A: (A)₄₀₀ (서열식별번호: 34)
- [0516] 폴리A: (A)₂₀₀₀ (서열식별번호: 35)
- [0517] Gly/Ser (서열식별번호: 38): 이 서열은 1-10개의 "Gly Gly Gly Ser" 반복 단위를 포괄할 수 있다
- [0518] GGGSGGGSGG GSGGGSGGGG GGGSGGGSGG GSGGGSGGGG
- [0519] 한 실시양태에서, CLL-1 CAR은 그의 전체 내용이 본원에 참조로 포함되는 PCT 공개 W02014/051433에 개시된 항-CLL-1 (CLEC12A) 항체의 중쇄 가변 도메인 중 1개 이상, 예를 들어 1, 2 또는 3개의 CDR 및/또는 경쇄 가변 도메인 중 1개 이상, 예를 들어 1, 2 또는 3개의 CDR, 또는 가변 중쇄 (VH) 또는 가변 경쇄 (VL)를 포함할 수 있다.
- [0520] CAR scFv 단편은 렌티바이러스 벡터 내로 클로닝되어 단일 코딩 프레임 내에서, 발현을 위한 EF1 알파 프로모터 (서열식별번호: 11)를 사용하여 전장 CAR 구축물을 생성할 수 있다.
- [0521] CAR 구축물은 하기 서열: GGGGS (서열식별번호: 25); 1-6개의 "Gly Gly Gly Gly Ser" 반복 단위를 포괄하는 것, 예를 들어 GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS (서열식별번호: 26); GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS (서열식별번호: 27); GGGGSGGGGS GGGGS (서열식별번호: 28); GGGS (서열식별번호: 29); 또는 1-10개의 "Gly Gly Gly Ser" 반복 단위를 포괄하는 것, 예를 들어 GGGSGGGSGG GSGGGSGGGG GGGSGGGSGG GSGGGSGGGG (서열식별번호: 38) 중 1개 이상을 갖는 Gly/Ser 링커를 포함할 수 있다. 실시양태에서, CAR 구축물은 폴리 A 서열, 예를 들어 50-5000개 또는 100-5000개의 아데닌을 포괄하는 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 30, 서열식별번호: 33, 서열식별번호: 34 또는 서열식별번호: 35), 또는 50-5000개의 티민을 포괄하는 서열 (예를 들어, 서열식별번호: 31, 서열식별번호: 32)을 포함한다. 대안적으로, CAR 구축물은 예를 들어 서열 GSTSGSGKPGSGEGSTKG (서열식별번호: 486)를 포함하는 링커를 포함할 수 있다.
- [0522] 이중특이적 CAR
- [0523] 한 실시양태에서, 다중특이적 항체 분자는 이중특이적 항체 분자이다. 이중특이적 항체는 2개 이하의 항원에 대해 특이성을 갖는다. 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제1 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다. 한 실시양태에서, 제1 및 제2 에피토프는 동일한 항원, 예를 들어 동일한 단백질 (또는 다량체 단백질의 서브유닛) 상에 존재한다. 한 실시양태에서, 제1 및 제2 에피토프는 중첩된다. 한 실시양태에서, 제1 및 제2 에피토프는 중첩되지 않는다. 한 실시양태에서, 제1 및 제2 에피토프는 상이한 항원, 예를 들어 상이한 단

백질 (또는 다량체 단백질의 상이한 서브유닛) 상에 존재한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 중쇄 가변 도메인 서열 및 경쇄 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 중쇄 가변 도메인 서열 및 경쇄 가변 도메인 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체를 포함한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 또는 그의 단편, 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 또는 그의 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 scFv 또는 그의 단편, 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 scFv 또는 그의 단편을 포함한다.

[0524]

특정 실시양태에서, 항체 분자는 다중-특이적 (예를 들어, 이중특이적 또는 삼중특이적) 항체 분자이다. 이중특이적 또는 이중이량체 항체 분자를 생성하기 위한 프로토콜은 관련 기술분야에 공지되어 있고; 예를 들어 US 5731168에 기재된 "노브 인 홀" 접근법; 예를 들어 WO 09/089004, WO 06/106905 및 WO 2010/129304에 기재된 정전기적 스티어링 Fc 쌍형성; 예를 들어 WO 07/110205에 기재된 바와 같은 가닥 교환 조작된 도메인 (SEED) 이중이량체 형성; 예를 들어 WO 08/119353, WO 2011/131746, 및 WO 2013/060867에 기재된 바와 같은 Fab 아암 교환; 예를 들어 US 4433059에 기재된 바와 같은, 아민-반응성 기 및 술폰히드릴 반응성 기를 갖는 이중이관능성 시약을 사용하여 이중특이적 구조를 생성하는 항체 가교에 의한 이중 항체 접합체; 예를 들어 US 4444878에 기재된 바와 같은, 2개의 중쇄 사이의 디설피드 결합의 환원 및 산화 주기를 통해 상이한 항체로부터 절반 항체 (중쇄-경쇄 쌍 또는 Fab)를 재조합시킴으로써 생성된 이중특이적 항체 결정기; 삼관능성 항체, 예를 들어 US5273743에 기재된 바와 같은, 예를 들어 술폰히드릴 반응성 기를 통해 가교된 3개의 Fab' 단편; 생합성 결합 단백질, 예를 들어 US5534254에 기재된 바와 같은, 예를 들어 C-말단 꼬리를 통해, 바람직하게는 디설피드 또는 아민-반응성 화학적 가교를 통해 가교된 scFv의 쌍; 이중기능적 항체, 예를 들어 US5582996에 기재된 바와 같은, 예를 들어 불변 도메인을 대체한 류신 지퍼 (예를 들어, c-fos 및 c-jun)를 통해 이량체화된 상이한 결합 특이성을 갖는 Fab 단편; 이중특이적 및 올리고특이적 1가- 및 올리고가 수용체, 예를 들어 US5591828에 기재된 바와 같은, 예를 들어 한 항체의 CH1 영역과 전형적으로 경쇄와 회합된 다른 항체의 VH 영역 사이에 폴리펩티드 스페이서를 통해 연결된 2개의 항체 (2개의 Fab 단편)의 VH-CH1 영역; 이중특이적 DNA-항체 접합체, 예를 들어 US5635602에 기재된 바와 같은, 예를 들어 DNA의 이중 가닥 조각을 통한 항체 또는 Fab 단편의 가교; 이중특이적 융합 단백질, 예를 들어 US5637481에 기재된 바와 같은, 예를 들어 2개의 scFv를, 이들과 전체 불변 영역 사이의 친수성 나선 펩티드 링커와 함께 함유하는 발현 구축물; 다가 및 다중특이적 결합 단백질, 예를 들어 US5837242에 기재된 바와 같은, 예를 들어 일반적으로 디아바디로 불리는, Ig 중쇄 가변 영역의 결합 영역을 갖는 제1 도메인, 및 Ig 경쇄 가변 영역의 결합 영역을 갖는 제2 도메인을 갖는 폴리펩티드의 이량체 (이중특이적, 삼중특이적 또는 사중특이적 분자를 생성하는 보다 고차원의 구조가 또한 포괄됨); 예를 들어 US5837821에 기재된 바와 같은, 연결된 VL 및 VH 쇄가, 이량체화되어 이중특이적/다가 분자를 형성할 수 있는 항체 힌지 영역 및 CH3 영역에 펩티드 스페이서에 의해 추가로 연결된, 미니바디 구축물; 예를 들어 US5844094에 기재된 바와 같은, 이중특이적 디아바디를 형성하기 위한 이량체, 삼량체 및 사량체를 형성할 수 있는, 짧은 펩티드 링커 (예를 들어, 5 또는 10개 아미노산)를 사용하거나 또는 링커가 전혀 없이 어느 하나의 배향으로 연결된 VH 및 VL 도메인; 예를 들어 US5864019에 기재된 바와 같은, 일련의 Fv (또는 scFv)를 형성하기 위해 VL 도메인과 추가로 회합된, C-말단에서 가교가능한 기에 의해 펩티드 연결에 의해 연결된 VH 도메인 (또는 패밀리 구성원 내의 VL 도메인)의 스트링; 및 예를 들어 US5869620에 기재된 바와 같은, scFv 또는 디아바디 유형 포맷들 다를 사용하여, 예를 들어 동중2가, 이중2가, 3가 및 4가 구조를 형성하기 위해 비-공유 또는 화학적 가교를 통해 다가 구조로 조합된, 펩티드 링커를 통해 연결된 VH 및 VL 도메인 둘 다를 갖는 단일 쇄 결합 폴리펩티드를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 추가의 예시적인 다중특이적 및 이중특이적 분자 및 그의 제조 방법은, 예를 들어 US5910573, US5932448, US5959083, US5989830, US6005079, US6239259, US6294353, US6333396, US6476198, US6511663, US6670453, US6743896, US6809185, US6833441, US7129330, US7183076, US7521056, US7527787, US7534866, US7612181, US2002004587A1, US2002076406A1, US2002103345A1, US2003207346A1, US2003211078A1, US2004219643A1, US2004220388A1, US2004242847A1, US2005003403A1, US2005004352A1, US2005069552A1, US2005079170A1, US2005100543A1, US2005136049A1, US2005136051A1, US2005163782A1, US2005266425A1, US2006083747A1, US2006120960A1, US2006204493A1, US2006263367A1, US2007004909A1, US2007087381A1, US2007128150A1, US2007141049A1, US2007154901A1, US2007274985A1, US2008050370A1, US2008069820A1, US2008152645A1, US2008171855A1, US2008241884A1, US2008254512A1, US2008260738A1, US2009130106A1, US2009148905A1, US2009155275A1, US2009162359A1, US2009162360A1, US2009175851A1, US2009175867A1, US2009232811A1, US2009234105A1, US2009263392A1, US2009274649A1, EP346087A2,

WO0006605A2, WO02072635A2, WO04081051A1, WO06020258A2, WO2007044887A2, WO2007095338A2, WO2007137760A2, WO2008119353A1, WO2009021754A2, WO2009068630A1, WO9103493A1, WO9323537A1, WO9409131A1, WO9412625A2, WO9509917A1, WO9637621A2, WO9964460A1에서 발견된다. 상기 참조된 출원의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0525] 이중특이적 항체 분자의 각각의 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv) 내에서, VH는 VL의 상류 또는 하류일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상류 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv)은 그의 VL (VL₁)의 상류의 그의 VH (VH₁)와 배열되고, 하류 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv)은 그의 VH (VH₂)의 상류의 그의 VL (VL₂)과 함께 배열되어, 전체적인 이중특이적 항체 분자는 배열 VH₁-VL₁-VL₂-VH₂를 갖는다. 다른 실시양태에서, 상류 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv)은 그의 VH (VH₁)의 상류의 그의 VL (VL₁)과 배열되고, 하류 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv)은 그의 VL (VL₂)의 상류의 그의 VH (VH₂)와 배열되어, 전체적인 이중특이적 항체 분자는 배열 VL₁-VH₁-VH₂-VL₂를 갖는다. 임의로, 링커는 2개의 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv) 사이, 예를 들어 구축물이 VH₁-VL₁-VL₂-VH₂로 배열된 경우에 VL₁과 VL₂ 사이, 또는 구축물이 VL₁-VH₁-VH₂-VL₂로 배열된 경우에 VH₁과 VH₂ 사이에 배치된다. 링커는 본원에 기재된 바와 같은 링커일 수 있고, 예를 들어 (Gly₄-Ser)_n 링커를 포함하며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 4 (서열식별번호: 64)이다. 일반적으로, 2개의 scFv 사이의 링커는 2개의 scFv의 도메인 사이의 쌍형성오류를 피하기 위해 충분히 길어야 한다. 임의로, 링커는 제1 scFv의 VL과 VH 사이에 배치된다. 임의로, 링커는 제2 scFv의 VL과 VH 사이에 배치된다. 다중 링커를 갖는 구축물에서, 링커 중 임의의 2개 이상은 동일하거나 상이할 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 이중특이적 CAR은 VL, VH, 및 임의로 1개 이상의 링커를 본원에 기재된 바와 같은 배열로 포함한다.

[0526] 한 측면에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열 (예를 들어 CLL-1에 대해 결합 특이성을 갖는 scFv, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은, 예를 들어 표 2에 기재된 바와 같은 scFv 포함, 또는 본원에 기재된 CLL-1 scFv로부터의 경쇄 CDR 및/또는 중쇄 CDR 포함), 및 상이한 항원 상의 제2 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖는 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다. 일부 측면에서 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 AML 세포 상에 발현된 항원, 예를 들어 CLL-1 이외의 항원에 대해 결합 특이성을 갖는다. 예를 들어, 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 CD123에 대해 결합 특이성을 갖는다. 또 다른 예로서, 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 CD33에 대해 결합 특이성을 갖는다. 또 다른 예로서, 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 CD34에 대해 결합 특이성을 갖는다. 또 다른 예로서, 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 FLT3에 대해 결합 특이성을 갖는다. 예를 들어, 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 플레이트 수용체 베타에 대해 결합 특이성을 갖는다. 일부 측면에서, 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 B-세포 상에 발현된 항원, 예를 들어 CD19, CD20, CD22 또는 ROR1에 대해 결합 특이성을 갖는다.

[0527] 키메라 TCR

[0528] 한 측면에서, 본 발명의 CLL-1 항체 및 항체 단편 (예를 들어, 표 2에 개시된 것)은 T 세포 수용체 ("TCR") 쇄, 예를 들어 TCR 알파 쇄 또는 TCR 베타 쇄의 1개 이상의 불변 도메인에 그래프팅되어 CLL-1에 특이적으로 결합하는 키메라 TCR을 생성할 수 있다. 이론에 얽매지는 것은 아니지만, 키메라 TCR은 항원 결합 시 TCR 복합체를 통해 신호를 전달할 것으로 여겨진다. 예를 들어, 본원에 개시된 바와 같은 CLL-1 scFv는 TCR 쇄, 예를 들어 TCR 알파 쇄 및/또는 TCR 베타 쇄의 불변 도메인, 예를 들어 세포의 불변 도메인의 적어도 일부, 막횡단 도메인 및 세포질 도메인에 그래프팅될 수 있다. 또 다른 예로서, CLL-1 항체 단편, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 VL 도메인은 TCR 알파 쇄의 불변 도메인에 그래프팅될 수 있고, CLL-1 항체 단편, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 VH 도메인은 TCR 베타 쇄의 불변 도메인에 그래프팅될 수 있다 (또는 대안적으로, VL 도메인은 TCR 베타 쇄의 불변 도메인에 그래프팅될 수 있고, VH 도메인은 TCR 알파 쇄에 그래프팅될 수 있음). 또 다른 예로서, CLL-1 항체 또는 항체 단편의 CDR, 예를 들어 표 3, 4, 5, 6, 7 또는 8에 기재된 바와 같은 CLL-1 항체 또는 항체 단편의 CDR은 TCR 알파 및/또는 베타 쇄에 그래프팅되어 CLL-1에 특이적으로 결합하는 키메라 TCR을 생성할 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 LCDR은 TCR 알파 쇄의 가변 도메인에 그래프팅될 수 있고, 본원에 개시된 HCDR은 TCR 베타 쇄의 가변 도메인에 그래프팅될 수 있거나, 또는 그 반대이다. 이러한 키메라 TCR은 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Willemsen RA et al., Gene Therapy 2000; 7: 1369-1377; Zhang T et al., Cancer Gene Ther 2004; 11: 487-496; Aggen et al., Gene Ther. 2012 Apr; 19(4):365-74]).

[0529] 막횡단 도메인

[0530] 막횡단 도메인과 관련하여, 다양한 실시양태에서, CAR은 CAR의 세포외 도메인에 부착된 막횡단 도메인을 포함하도록 설계될 수 있다. 막횡단 도메인은 막횡단 영역에 인접한 1개 이상의 추가의 아미노산, 예를 들어 막횡단 도메인이 유래된 단백질의 세포외 영역과 회합된 1개 이상의 아미노산 (예를 들어, 세포외 영역의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 최대 15개의 아미노산) 및/또는 막횡단 도메인이 유래된 단백질의 세포내 영역과 회합된 1개 이상의 추가의 아미노산 (예를 들어, 세포내 영역의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 최대 15개의 아미노산)을 포함할 수 있다. 한 측면에서, 막횡단 도메인은 사용된 CAR의 다른 도메인 중 1개와 회합된 것이다. 일부 경우에, 막횡단 도메인은 이러한 도메인이 동일 또는 상이한 표면 막 단백질의 막횡단 도메인에 결합하는 것을 피하기 위해, 예를 들어 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하기 위해 선택될 수 있거나 또는 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다. 한 측면에서, 막횡단 도메인은 CART 세포 표면 상의 또 다른 CAR과 동종이량체화가 가능하다. 상이한 측면에서, 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 동일한 CART에 존재하는 천연 결합 파트너의 결합 도메인과의 상호작용을 최소화하기 위해 변형되거나 치환될 수 있다.

[0531] 막횡단 도메인은 천연 또는 재조합 공급원으로 유래될 수 있다. 공급원이 천연인 경우에, 도메인은 임의의 막-결합 또는 막횡단 단백질로부터 유래될 수 있다. 한 측면에서, 막횡단 도메인은 CAR이 표적에 결합할 때마다 세포내 도메인(들)에 신호전달을 할 수 있다. 본 발명에서 특히 유용한 막횡단 도메인은 적어도 예를 들어 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 체, CD28, CD3 엠실론, CD45, CD4, CD5, CD8 (예를 들어, CD8 알파, CD8 베타), CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154의 막횡단 영역(들)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인은 적어도 공동자극 도메인, 예를 들어 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFTR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드의 막횡단 영역(들)을 포함할 수 있다.

[0532] 일부 경우에, 막횡단 도메인은 힌지, 예를 들어 인간 단백질로부터의 힌지를 통해 CAR의 세포외 영역, 예를 들어 CAR의 항원 결합 도메인에 부착될 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 힌지는 인간 Ig (이뮤노글로불린) 힌지, 예를 들어 IgG4 힌지 또는 CD8a 힌지일 수 있다. 한 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함한다 (예를 들어, 그로 이루어진다). 한 측면에서, 막횡단 도메인은 서열식별번호: 6의 막횡단 도메인을 포함한다 (예를 들어, 그로 이루어진다).

[0533] 한 측면에서, 힌지 또는 스페이서는 IgG4 힌지를 포함한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 하기 아미노산 서열의 힌지를 포함한다:

ESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKM
(SEQ ID NO:3)

[0534]

[0535] 일부 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 하기 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된 힌지를 포함한다:

GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCCCCGAGTTCCTGGGCGG
 ACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGA
 CCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCGAGGTCCA
 GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGG
 GAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCA
 GGA CTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCC
 AGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGG
 TGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGAC
 CTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAC
 GGCCAGCCCCGAGAACA ACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCA
 GCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAA
 CGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGA
 GCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG (SEQ ID NO:14)

[0536]

[0537] 한 측면에서, 힌지 또는 스페이서는 IgD 힌지를 포함한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 하기 아미노산 서열의 힌지를 포함한다:

RWPESPKAQASSVPTAQQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERET
 KTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTG
 GVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAQA
 PVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPG
 STTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH (SEQ ID
 NO:4)

[0538]

[0539] 일부 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 하기 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된 힌지를 포함한다:

AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGCACAGCCCCA
 GGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACT
 GGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGA
 GAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATC
 TCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGT
 TTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGCCCATTGACTTGGGAGGTTGCCGAAA
 GGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCT
 CAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTC
 TGTCACATGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAG
 AGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAAGCTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTG
 ATCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCCGCC
 AACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTCG
 CTCCAGCCCCGGCCCCACCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTGGGCCTGGAGTGTC
 TTAAGGGTCCCAGCACCACTAGCCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTC
 CCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCCTACG
 TGA CTGACCATT (SEQ ID NO:15)

[0540]

[0541] 한 측면에서, 막횡단 도메인은 재조합될 수 있고, 이 경우에 이는 소수성 잔기, 예컨대 류신 및 발린을 우세하

게 포함할 것이다. 한 측면에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체가 재조합 막횡단 도메인의 각각의 말단에서 발견될 수 있다.

- [0542] 임의로, 2 내지 10개 아미노산 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커는 CAR의 막횡단 도메인과 세포질 영역 사이에 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체는 특히 적합한 링커를 제공한다. 예를 들어, 한 측면에서, 링커는 GGGGSGGGGS (서열식별번호: 5)의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 GGTGGCGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTCC (서열식별번호: 16)의 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된다.
- [0543] 한 측면에서, 힌지 또는 스페이서는 KIR2DS2 힌지를 포함한다.
- [0544] 세포질 도메인
- [0545] 본 발명의 CAR의 세포질 도메인 또는 영역은 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 신호전달 도메인은 일반적으로 CAR이 도입된 면역 세포의 정상 이펙터 기능 중 적어도 1종을 활성화하는 것을 담당한다.
- [0546] 본 발명의 CAR에 사용하기 위한 세포내 신호전달 도메인의 예는 항원 수용체 관여 후에 신호 전달을 개시하기 위해 함께 작용하는 T 세포 수용체 (TCR) 및 보조-수용체의 세포질 서열, 뿐만 아니라 동일한 기능적 능력을 갖는 이들 서열의 임의의 유도체 또는 변이체 및 임의의 재조합 서열을 포함한다.
- [0547] TCR을 통해 생성된 신호 단독은 T 세포의 완전한 활성화를 위해 불충분하고 2차 및/또는 공동자극 신호가 또한 필요함이 공지되어 있다. 따라서, T 세포 활성화는 세포질 신호전달 서열의 2개의 별개의 부류에 의해 매개된다고 언급될 수 있다: TCR을 통해 항원-의존성 1차 활성화를 개시하는 것 (1차 세포내 신호전달 도메인) 및 2차 또는 공동자극 신호를 제공하기 위해 항원-비의존성 방식으로 작용하는 것 (2차 세포질 도메인, 예를 들어 공동자극 도메인).
- [0548] 1차 신호전달 도메인은 TCR 복합체의 1차 활성화를 자극 방식으로 또는 억제 방식으로 조절한다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호전달 모티프를 함유할 수 있다.
- [0549] 본 발명에 특히 유용한 1차 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 ITAM의 예는 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"으로도 공지됨), FcεRI, DAP10, DAP12 및 CD66d의 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 CAR은 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3-제타의 1차 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0550] 한 실시양태에서, 1차 신호전달 도메인은 천연 ITAM 도메인과 비교하여 변경된 (예를 들어, 증가된 또는 감소된) 활성을 갖는 변형된 ITAM 도메인, 예를 들어 돌연변이된 ITAM 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 1차 신호전달 도메인은 변형된 ITAM-함유 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 최적화된 및/또는 말단절단된 ITAM-함유 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 1차 신호전달 도메인은 1, 2, 3 또는 4 개 또는 그 초과 ITAM 모티프를 포함한다.
- [0551] 본 발명에 특히 유용한 1차 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 분자의 추가의 예는 DAP10, DAP12, 및 CD32의 것을 포함한다.
- [0552] CAR의 세포내 신호전달 도메인은 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3-제타 신호전달 도메인을 단독으로 포함할 수 있거나, 또는 본 발명의 CAR과 관련하여 유용한 임의의 다른 목적하는 세포내 신호전달 도메인(들)과 조합될 수 있다. 예를 들어, CAR의 세포내 신호전달 도메인은 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3 제타쇄 부분 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 공동자극 신호전달 도메인은 공동자극 분자의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 부분을 지칭한다. 공동자극 분자는 항원 수용체 이외의 세포 표면 분자 또는 림프구의 항원에 대한 효율적인 반응을 위해 필요한 그의 리간드이다. 이러한 분자의 예는 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFRR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150,

IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드 등을 포함한다. 예를 들어, CD27 공동자극은 시험관내에서 인간 CART 세포의 확장, 이펙터 기능, 및 생존을 증진시키고, 생체내에서 인간 T 세포 지속성 및 항종양 활성을 증대시키는 것으로 입증된 바 있다 (Song et al. Blood. 2012; 119(3):696-706).

[0553] 본 발명의 CAR의 세포질 부분 내의 세포내 신호전달 서열은 서로 무작위로 또는 명시된 순서로 연결될 수 있다. 임의로, 예를 들어 2 내지 10개 아미노산 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 아미노산) 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커는 세포내 신호전달 서열 사이에 연결을 형성할 수 있다. 한 실시양태에서, 글리신-세린 이중체가 적합한 링커로서 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 단일 아미노산, 예를 들어 알라닌, 글리신이 적합한 링커로서 사용될 수 있다.

[0554] 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과인 공동자극 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 실시양태에서, 2개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과인 공동자극 신호전달 도메인은 링커 분자, 예를 들어 본원에 기재된 링커 분자에 의해 분리된다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개의 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커 분자는 글리신 잔기이다. 일부 실시양태에서, 링커는 알라닌 잔기이다.

[0555] 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 CD28의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 4-1BB의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, 4-1BB의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 신호전달 도메인이다. 한 측면에서, CD3-제타의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 9 (돌연변이체 CD3 제타) 또는 서열식별번호: 10 (야생형 인간 CD3 제타)의 신호전달 도메인이다.

[0556] 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 CD27의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, CD27의 신호전달 도메인은 하기의 아미노산 서열을 포함한다:

[0557] QRRKYRSNKGESPVPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (SEQ ID NO:8)

[0558] 한 측면에서, CD27의 신호전달 도메인은 하기의 핵산 서열에 의해 코딩된다:

AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCC
GCCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCA
GCCTATCGCTCC (SEQ ID NO:19)

[0559] 한 측면에서, 세포내 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 CD28의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, CD28의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열을 포함한다. 한 측면에서, CD28의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 483의 핵산 서열에 의해 코딩된다.

[0561] 한 측면에서, 세포내 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 ICOS의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, CD28의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열을 포함한다. 한 측면에서, ICOS의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 485의 핵산 서열에 의해 코딩된다.

[0562] 한 측면에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 제2 CAR, 예를 들어, 예를 들어 동일한 표적 (CLL-1) 또는 상이한 표적 (예를 들어, CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타)에 대한 상이한 항원 결합 도메인을 포함하는 제2 CAR을 추가로 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 CAR은 급성 골수성 백혈병 세포 상에서 발현된 표적, 예컨대 예를 들어, CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타에 대한 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, CAR-발현 세포는 제1 항원에 특이적으로 결합하고 공동자극 신호전달 도메인을 갖지만 1차 신호전달 도메인은 갖지 않는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 CAR, 및 제2의 상이한 항원에 특이적으로 결합하고 1차 신호전달 도메인을 갖지만 공동자극 신호전달 도메인은 갖지 않는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 포함한다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 공동자극 신호전달 도메인, 예를 들어 4-1BB, CD28, CD27, ICOS, 또는 OX-40을 제1 CAR에, 및 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3 제타를 제2 CAR에 배치하면, CAR 활성을 둘 다의 표적이 발현되는 세포로 제한할 수 있다. 한 실시양태에서, CAR 발현 세포는 CLL-1 결합 도메인, 막형단 도메인 및 공동자극 도메인을 포함하는 제1 CLL-1 CAR, 및 CLL-1 이외의 항원 (예를 들어, AML 세포 상에서 발현된 항원, 예를 들어 CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타)에 특이적으로 결합하고 항원 결합 도메인, 막형단 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을

포함한다. 또 다른 실시양태에서, CAR 발현 세포는 CLL-1 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함하는 제1 CLL-1 CAR, 및 CLL-1 이외의 항원 (예를 들어, AML 세포 상에서 발현된 항원, 예를 들어 CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타)에 특이적으로 결합하고 항원에 대한 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 포함한다.

[0563] 한 실시양태에서, CAR-발현 세포는 본원에 기재된 CLL-1 CAR 및 억제 CAR을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 CAR은, 암 세포 상에서는 발견되지 않지만 정상 세포, 예를 들어 CLL을 또한 발현하는 정상 세포 상에서는 발견되는 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 CAR은 억제 분자의 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 세포내 도메인을 포함한다. 예를 들어, 억제 CAR의 세포내 도메인은 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGF β 베타의 세포내 도메인일 수 있다.

[0564] 한 실시양태에서, CAR-발현 세포가 2개 이상의 상이한 CAR을 포함하는 경우에, 상이한 CAR의 항원 결합 도메인은 항원 결합 도메인이 서로 상호작용하지 않도록 하는 것일 수 있다. 예를 들어, 제1 및 제2 CAR을 발현하는 세포는 제1 CAR의 항원 결합 도메인을, 예를 들어 제2 CAR의 항원 결합 도메인과 회합을 형성하지 않는 단편, 예를 들어 scFv로서 가질 수 있고, 예를 들어 제2 CAR의 항원 결합 도메인은 VHH이다.

[0565] 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 그의 상보성 결정 영역이 단일 도메인 폴리펩티드의 일부인 분자를 포함하는 단일 도메인 항원 결합 (SDAB) 분자를 포함한다. 예는 중쇄 가변 도메인, 자연적으로 경쇄가 결합된 결합 분자, 통상적인 4-쇄 항체로부터 유래된 단일 도메인, 조각된 도메인 및 항체로부터 유래된 것 이외의 단일 도메인 스캐폴드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. SDAB 분자는 임의의 관련 기술 분야의 것, 또는 임의의 미래의 단일 도메인 분자일 수 있다. SDAB 분자는 마우스, 인간, 낙타, 라마, 칠성장어, 어류, 상어, 염소, 토끼, 및 소를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 이 용어는 또한 낙타과 및 상어 이외의 종으로부터의 자연 발생 단일 도메인 항체 분자를 포함한다.

[0566] 한 측면에서, SDAB 분자는 어류에서 발견된 이뮤노글로불린의, 예컨대 예를 들어 상어의 혈청에서 발견된 신규 항원 수용체 (NAR)로서 공지된 이뮤노글로불린 이소형으로부터 유래된 가변 영역으로부터 유래될 수 있다. NAR의 가변 영역으로부터 유래된 단일 도메인 분자 ("IgNAR")를 생산하는 방법은 WO 03/014161 및 문헌 [Streltsov (2005) Protein Sci. 14:2901-2909]에 기재되어 있다.

[0567] 또 다른 측면에 따르면, SDAB 분자는 경쇄가 결합된 중쇄로서 공지된 자연 발생 단일 도메인 항원 결합 분자이다. 이러한 단일 도메인 분자는 예를 들어 WO 9404678 및 문헌 [Hamers-Casterman, C. et al. (1993) Nature 363:446-448]에 개시되어 있다. 명확성을 위해, 자연적으로 경쇄가 결합된 중쇄 분자로부터 유래된 이러한 가변 도메인은 4쇄 이뮤노글로불린의 통상적인 VH와 구별하기 위해 본원에서 VHH 또는 나노바디로 공지된다. 이러한 VHH 분자는 낙타과 종으로부터, 예를 들어 낙타, 라마, 단봉낙타, 알파카 및 구아나코에서 유래될 수 있다. 낙타과 외에도 다른 종이 자연적으로 경쇄가 결합된 중쇄 분자를 생산할 수 있고; 이러한 VHH는 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0568] SDAB 분자는 재조합, CDR-그래프팅, 인간화, 낙타화, 탈-면역화 및/또는 시험관내 생성될 (예를 들어, 파지 디스플레이에 의해 선택될) 수 있다.

[0569] 또한, 예를 들어 수용체의 항원 결합 도메인 사이의 상호작용은 항원 결합 도메인 중 1종 이상이 그의 동족 항원에 결합하는 능력을 억제하기 때문에, 항원 결합 도메인을 포함하는 복수의 키메라 막 포매된 수용체를 갖는 세포는 바람직하지 않을 수 있는 것으로 밝혀진 바 있다. 따라서, 이러한 상호작용을 최소화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 및 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체를 갖는 세포가 본원에 개시된다. 또한, 이러한 상호작용을 최소화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 및 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체를 코딩하는 핵산, 뿐만 아니라 이러한 세포 및 핵산의 제조 및 사용 방법이 본원에 개시된다. 한 실시양태에서, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어, 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다.

[0570] 일부 실시양태에서, 본 발명은 제1 및 제2 CAR을 포함하며, 여기서 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 가변 경쇄 도메인 및 가변 중쇄 도메인을 포함하지 않다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv가 아니다. 일부 실시양태에서, 상기

제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어, 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0571] 일부 실시양태에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어, 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0572] 일부 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 CAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않는다. 일부 실시양태에서, 상기 제2 CAR의 존재 하에서의 상기 제1 CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 CAR의 부재 하에서의 상기 제1 CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합의 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다.

[0573] 일부 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR의 항원 결합 도메인은 둘 다 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 더 낮은 정도로 서로 회합한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR의 항원 결합 도메인은 둘 다 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 더 낮은 정도로 서로 회합한다.

[0574] 또 다른 측면에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또 다른 작용제, 예를 들어 CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제를 추가로 발현할 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 작용제는 억제 분자를 억제하는 작용제일 수 있다. 억제 분자, 예를 들어 PD1은 일부 실시양태에서 면역 억제 반응을 일으키는 CAR-발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있다. 억제 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 분자를 억제하는 작용제는 양성 신호를 세포에 제공하는 제2 폴리펩티드, 예를 들어 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인과 회합된 제1 폴리펩티드, 예를 들어 억제 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 작용제는 예를 들어 억제 분자, 예컨대 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타, 또는 임의의 이들의 단편 (예를 들어, 임의의 이들의 세포외 도메인의 적어도 일부)의 제1 폴리펩티드, 및 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 공동자극 도메인 (예를 들어 본원에 기재된 바와 같은, 예를 들어 4-1BB, CD27, ICOS 또는 CD28) 및/또는 1차 신호전달 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 CD3 제타 신호전달 도메인) 포함)인 제2 폴리펩티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 작용제는 PD1 또는 그의 단편 (예를 들어, PD1의 세포외 도메인의 적어도 일부)의 제1 폴리펩티드, 및 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 CD28 신호전달 도메인 및/또는 본원에 기재된 CD3 제타 신호전달 도메인)의 제2 폴리펩티드를 포함한다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 예를 들어 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 WO 2013/019615에 기재된 바와 같은 스위치 공동자극 수용체를 포함한다. PD1은 CD28, CTLA-4, ICOS, 및 BTLA를 또한 포함하는 CD28 패밀리의 수용체의 억제 구성원이다. PD-1은 활성화된 B 세포, T 세포 및 글수 세포 상에서 발현된다 (Agata et al. 1996 Int. Immunol 8:765-75). PD1에 대한 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2는 PD1에 결합 시 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 제시된 바 있다 (Freeman et al. 2000 J Exp Med 192:1027-34; Latchman et al. 2001 Nat Immunol 2:261-8; Carter et al. 2002 Eur J Immunol 32:634-43). PD-L1은 인간 암에서 풍부하다 (Dong et al. 2003 J Mol Med 81:281-7; Blank et al. 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314; Konishi et al. 2004 Clin Cancer Res 10:5094). 면역 억제는 PD1과 PD-L1의 국부 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있다.

[0575] 한 실시양태에서, 작용제는 억제 분자의 세포외 도메인 (ECD)을 포함하고, 예를 들어 프로그램화된 사멸 1 (PD1)은 막횡단 도메인 및 세포내 신호전달 도메인, 예컨대 41BB 및 CD3 제타에 융합될 수 있다 (본원에서 PD1 CAR로도 지칭됨). 한 실시양태에서, PD1 CAR은 본원에 기재된 CLL-1 CAR과 조합되어 사용되는 경우에 CAR-발현 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 지속성을 개선시킨다. 한 실시양태에서, CAR은 서열식별번호: 24에 밑줄로 표시한 PD1의 세포외 도메인을 포함하는 PD1 CAR이다. 한 실시양태에서, PD1 CAR은 서열식별번호: 24의

아미노산 서열을 포함한다.

Malpvtalllplalllhaarppgwflsdprpwnpptsfallvvtgednatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaaf
pedrsqpgqdcfrvrtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylclgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqlvt
paprptptaptiasqplslrpeacraagavhtrglfdacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqttee
dgcscrfeeeeeggcclrvkfsrsadapaykqgqnllynelnlgrreedyldkrrgrdpemggkprknpqeglynelqkdkma
eayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqlppr (SEQ ID NO:24)

[0576]

[0577] 한 실시양태에서, PD1 CAR은 하기 제공된 아미노산 서열 (서열식별번호: 22)을 포함한다.

pgwflsdprpwnpptsfallvvtgednatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcfrvrtqlp
ngrdfhmsvvrarrndsgtylclgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqlvt
paprptptaptiasqplslrpeacraagavhtrglfdacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqttee
dgcscrfeeeeeggcclrvkfsrsadapaykqgqnllynelnlgrreedyldkrrgrdpemggkprknpqeglynelqkdkma
eayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqlppr (SEQ ID NO:22)

[0578]

[0579] 한 실시양태에서, 작용제는 PD1 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 PD1 CAR을 코딩하는 핵산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, PD1 CAR에 대한 핵산 서열이 하기 제시되고, 여기서 PD1 ECD는 하기 서열식별번호: 23에서 밑줄로 표시된다.

atggccctccctgtcactgcctctgtctcccccctgcactcctgctccacgccgctagaccaccggatggtttctggactctc
cggatcgcccggtggaatcccccaaccttctcaccggcactctgtgtgactgaggcgataatcgaccttcacgtgctcgtttccaa
cacctccgaatcattcgtgctgaactgggtaccgatgagcccgtaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgc
aaccgggacaggttgcgttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtgtgctccgcgtaggcgaaacga
ctccgggacactacgtgctggagccatctcgtgctgcctaaaggcccaataaagagagcttgaggccgaactgagagtaccga
gcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatccccatcgctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgaccactccggcg
ccgcgcccaccgactccggcccaactatcgcgagccagccctgtcgtgagggcggaagcatgccgccctgccggcgaggtgc
tgtgcataccggggattggacttcgatcgacatctacatttggtcctctcgcgggaactgtggcgtgctccttctgtccctggtcat
cacctgtactgcaagcggggctggaaaaagcttctgtacatttcaagcagccctcatgagggccgtgcaaacaccagaggagg
acggtgtcctcgtccggttccccgaagaggaagaaggaggttgcgagctgcgcgtgaagttctccggagcggcgcacgccccgcct
ataagcaggggcagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggacggcggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcgccg
ggaccccgaaatggcggaagcctagaagaagaacctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgag
gcctactccgaaattgggatgaaggagagcggcgagggggaaggggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccgccacca
aggacacatagatgccctgcacatgcaggcccttccccctgc (SEQ ID NO: 23)

[0580]

[0581] 또 다른 측면에서, 본 발명은 CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포의 집단을 제공한다. 일부 실시양태에서, CAR-발현 세포의 집단은 상이한 CAR을 발현하는 세포의 혼합물을 포함한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, CAR-발현 세포 (예를 들어, CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 집단은 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인을 갖는 CAR을 발현하는 제1 세포, 및 제1 세포에 의해 발현된 CAR 내의 항-CLL-1 결합 도메인과 상이한, 상이한 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인을 갖는 CAR을 발현하는 제2 세포를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, CAR-발현 세포의 집단은 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 항-CLL-1 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제1 세포, 및 CLL-1 이외의 표적 (예를 들어, CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타)에 대한 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제2 세포를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, CAR-발현 세포의 집단은 예를 들어 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제1 세포, 및 2차 신호전달 도메인, 예를 들어 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제2 세포를 포함한다.

[0582]

또 다른 측면에서, 본 발명은 집단 내의 적어도 1종의 세포는 본원에 기재된 항-CLL-1 도메인을 갖는 CAR을 발현하고 제2 세포는 또 다른 작용제, 예를 들어 CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제를 발현하는 세포의

집단을 제공한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 작용제는 억제 분자를 억제하는 작용제일 수 있다. 억제 분자는 예를 들어 일부 실시양태에서 면역 이펙터 반응을 일으키는 CAR-발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있다. 억제 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 분자를 억제하는 작용제는 양성 신호를 세포에 제공하는 제2 폴리펩티드, 예를 들어 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인과 회합된 제1 폴리펩티드, 예를 들어 억제 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 작용제는 예를 들어 억제 분자, 예컨대 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타, 또는 임의의 이들의 단편 (예를 들어, 임의의 이들의 세포외 도메인의 적어도 일부)의 제1 폴리펩티드, 및 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 공동자극 도메인 (예를 들어 본원에 기재된 바와 같은, 예를 들어 4-1BB, CD27, ICOS 또는 CD28) 및/또는 1차 신호전달 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 CD3 체타 신호전달 도메인) 포함)인 제2 폴리펩티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 작용제는 PD1 또는 그의 단편 (예를 들어, PD1의 세포외 도메인의 적어도 일부)의 제1 폴리펩티드, 및 본원에 기재된 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 CD28 신호전달 도메인 및/또는 본원에 기재된 CD3 체타 신호전달 도메인)의 제2 폴리펩티드를 포함한다.

[0583] 한 측면에서, 본 발명은 CAR-발현 세포 (예를 들어, CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 집단, 예를 들어 상이한 CAR을 발현하는 세포의 혼합물을 또 다른 작용제, 예를 들어 키나제 억제제, 예컨대 본원에 기재된 키나제 억제제와 조합하여 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 집단 내의 적어도 1종의 세포가 본원에 기재된 바와 같은 항암 연관 항원 결합 도메인을 갖는 CAR을 발현하고, 제2 세포는 또 다른 작용제, 예를 들어 CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제를 발현하는 것인 세포의 집단을 또 다른 작용제, 예를 들어 키나제 억제제, 예컨대 본원에 기재된 키나제 억제제와 조합하여 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0584] 자연 킬러 세포 수용체 (NKR) CAR

[0585] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자는 자연 킬러 세포 수용체 (NKR)의 1종 이상의 성분을 포함하며, 그에 의해 NKR-CAR을 형성한다. NKR 성분은 임의의 하기 자연 킬러 세포 수용체: 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR), 예를 들어, KIR2DL1, KIR2DL2/L3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, DIR2DS5, KIR3DL1/S1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR2DP1, 및 KIR3DP1; 천연 세포독성 수용체 (NCR), 예를 들어, NKp30, NKp44, NKp46; 면역 세포 수용체의 신호전달 림프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리, 예를 들어, CD48, CD229, 2B4, CD84, NTB-A, CRACC, BLAME, 및 CD2F-10; Fc 수용체 (FcR), 예를 들어, CD16, 및 CD64; 및 Ly49 수용체, 예를 들어 LY49A, LY49C로부터의 막횡단 도메인, 힌지 도메인, 또는 세포질 도메인일 수 있다. 본원에 기재된 NKR-CAR 분자는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 DAP12와 상호작용할 수 있다. NKR 성분을 포함하는 CAR 분자의 예시적인 구성 및 서열은 국제 공개 번호 WO2014/145252에 기재되어 있고, 그 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0586] 카메라 항원 수용체를 조절하기 위한 전략

[0587] CAR 활성을 조절할 수 있는 많은 방식이 존재한다. 일부 실시양태에서, CAR 활성이 제어될 수 있는 조절성 CAR (RCAR)은 CAR 요법의 안전성 및 효능을 최적화하는데 바람직하다. 예를 들어, 이량체화 도메인에 융합된 카스파제를 사용하여 예를 들어 아포토시스를 유도하는 것 (예를 들어, 문헌 [Di et al., N Engl. J. Med. 2011 Nov. 3; 365(18):1673-1683] 참조)은 본 발명의 CAR 요법에서 안전성 스위치로서 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, CAR-발현 세포는 또한 유도성 카스파제-9 (i카스파제-9) 분자를 발현할 수 있고, 이는 이량체화 약물 (예를 들어, 리미두시드 (AP1903 (벨리쿰 파마슈티칼스(Bellicum Pharmaceuticals)) 또는 AP20187 (아리아드(Ariad))로도 불림)의 투여 시, 카스파제-9의 활성화 및 세포의 아포토시스로 이어진다. i카스파제-9 분자는 CID의 존재 하에 이량체화를 매개하는 이량체화 (CID) 결합 도메인의 화학적 유도제를 함유한다. 이는 CAR-발현 세포의 유도적 및 선택적 고갈을 발생시킨다. 일부 경우에, i카스파제-9 분자는 CAR-코딩 벡터(들)와 별개의 핵산 분자에 의해 코딩된다. 일부 경우에, i카스파제-9 분자는 CAR-코딩 벡터와 동일한 핵산 분자에 의해 코딩된다. i카스파제-9는 CAR-발현 세포의 임의의 독성을 피하기 위한 안전성 스위치를 제공할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Song et al. Cancer Gene Ther. 2008; 15(10):667-75; Clinical Trial Id. No. NCT02107963; 및

Di Stasi et al. N. Engl. J. Med. 2011; 365:1673-83]을 참조한다.

[0588] 본 발명의 CAR 요법을 조절하기 위한 대안적 전략은 예를 들어 항체 의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 유도함으로써, 예를 들어 CAR-발현 세포를 결실시킴으로써 CAR 활성을 비활성화시키거나 턴 오프하는 소분자 또는 항체를 이용하는 것을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또한 세포 사멸, 예를 들어 ADCC 또는 보체-유도 세포 독성을 유도할 수 있는 분자에 의해 인식되는 항원을 발현할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 또한 항체 또는 항체 단편에 의해 표적화될 수 있는 수용체를 발현할 수 있다. 이러한 수용체의 예는 EpCAM, VEGFR, 인테그린 (예를 들어, 인테그린 $\alpha v \beta 3$, $\alpha 4$, $\alpha 1 \beta 3$, $\alpha 4 \beta 7$, $\alpha 5 \beta 1$, $\alpha v \beta 3$, αv), TNF 수용체 슈퍼패밀리의 구성원 (예를 들어, TRAIL-R1, TRAIL-R2), PDGF 수용체, 인터페론 수용체, 플레이트 수용체, GPNMB, ICAM-1, HLA-DR, CEA, CA-125, MUC1, TAG-72, IL-6 수용체, 5T4, GD2, GD3, CD2, CD3, CD4, CD5, CD11, CD11a/LFA-1, CD15, CD18/ITGB2, CD19, CD20, CD22, CD23/1gE 수용체, CD25, CD28, CD30, CD33, CD38, CD40, CD41, CD44, CD51, CD52, CD62L, CD74, CD80, CD125, CD147/바시킨, CD152/CTLA-4, CD154/CD40L, CD195/CCR5, CD319/SLAMF7, 및 EGFR, 및 그의 말단절단된 버전 (예를 들어, 1개 이상의 세포외 에피토프는 보존되었지만 세포질 도메인 내 1개 이상의 영역이 결여된 버전)을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또한 신호전달 능력은 결여되었지만 ADCC를 유도할 수 있는 분자, 예를 들어 세특시맵 (에르비투스(ERBITUX)®)에 의해 인식되는 에피토프를 보유하는 말단절단된 표피 성장 인자 수용체 (EGFR)를 발현할 수 있어서, 세특시맵의 투여는 ADCC를 유도하고 이어서 CAR-발현 세포를 고갈시킨다 (예를 들어, WO2011/056894, 및 문헌 [Jonnalagadda et al., Gene Ther. 2013; 20(8)853-860] 참조). 또 다른 전략은 본원에 기재된 CAR-발현 세포에서 CD32 및 CD20 항원 둘 다로부터의 표적 에피토프를 합한 고도로 치밀한 마커/자살 유전자를 발현시키는 것을 포함하고, 이는 리톡시맵에 결합하고, 예를 들어 ADCC에 의해 CAR-발현 세포의 선택적 고갈을 발생시킨다 (예를 들어, 문헌 [Philip et al., Blood. 2014; 124(8)1277-1287] 참조). 본원에 기재된 CAR-발현 세포를 고갈시키는 다른 방법은 예를 들어 ADCC를 유도함으로써 파괴를 위해 성숙한 림프구, 예를 들어 CAR-발현 세포에 선택적으로 결합하고 표적화하는 모노클로날 항-CD52 항체인 캄파트 (CAMPATH)의 투여를 포함한다. 다른 실시양태에서, CAR-발현 세포는 CAR 리간드, 예를 들어 항-이디오타입 항체를 사용하여 선택적으로 표적화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-이디오타입 항체는 이펙터 세포 활성화, 예를 들어 ADCC 또는 ADC 활성을 유발하여 CAR-발현 세포의 수를 감소시킬 수 있다. 다른 실시양태에서, CAR 리간드, 예를 들어 항-이디오타입 항체는 세포 사멸을 유도하는 작용제, 예를 들어 독소에 커플링되어 CAR-발현 세포의 수를 감소시킬 수 있다. 대안적으로, CAR 분자 그 자체가 활성이 조절될 수 있도록, 예를 들어 하기 기재된 바와 같이 턴 온 및 오프될 수 있도록 구성될 수 있다.

[0589] 일부 실시양태에서, RCAR은 가장 단순한 실시양태에서 전형적으로 2개인 폴리펩티드의 세트를 포함하며, 여기서 본원에 기재된 표준 CAR의 성분, 예를 들어 항원 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인은 개별 폴리펩티드 또는 구성원 상에 분할된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드의 세트는 이량체화 분자의 존재 시 폴리펩티드를 서로 커플링시킬 수 있는, 예를 들어 항원 결합 도메인을 세포내 신호전달 도메인에 커플링시킬 수 있는 이량체화 스위치를 포함한다. 이러한 조절성 CAR의 추가의 설명 및 예시적인 구성이 본원, 및 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 국제 공개 번호 WO 2015/090229에서 제공된다.

[0590] 한 측면에서, RCAR은 2개의 폴리펩티드 또는 구성원: 1) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 구성원, 및 제1 스위치 도메인; 2) 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 본원에 기재된 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원, 및 제2 스위치 도메인을 포함한다. 임의로, RCAR은 본원에 기재된 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 세포내 신호전달 구성원에, 항원 결합 구성원에, 또는 둘 다에 배치될 수 있다. (달리 나타내지 않는 한, RCAR의 구성원 또는 요소가 본원에 기재된 경우에, 순서는 제공된 바와 같을 수 있지만, 다른 순서가 또한 포함된다. 다시 말해서, 한 실시양태에서 순서는 텍스트에 제시된 바와 같지만, 다른 실시양태에서 순서는 상이할 수 있다. 예를 들어, 막횡단 영역의 한 측면 상의 요소의 순서는 예와 상이할 수 있고, 예를 들어 세포내 신호전달 도메인에 대해 스위치 도메인의 배치는 상이하고, 예를 들어 반대로 될 수 있다).

[0591] 한 실시양태에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 세포내 또는 세포외 이량체화 스위치를 형성할 수 있다. 한 실시양태에서, 이량체화 스위치는 예를 들어 제1 및 제2 스위치 도메인이 동일한 동종이량체화 스위치, 또는 예를 들어 제1 및 제2 스위치 도메인이 서로 상이한 이종이량체화 스위치일 수 있다.

[0592] 실시양태에서, RCAR은 "다중 스위치"를 포함할 수 있다. 다중 스위치는 이종이량체화 스위치 도메인 또는 동종이량체화 스위치 도메인을 포함할 수 있다. 다중 스위치는 제1 구성원, 예를 들어 항원 결합 구성원, 및 제2 구성원, 예를 들어 세포내 신호전달 구성원 상에 독립적으로 복수의, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는

10개의 스위치 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 제1 구성원은 복수의 제1 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반 스위치 도메인을 포함할 수 있고, 제2 구성원은 복수의 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FRB-기반 스위치 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 제1 구성원은 제1 및 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반 스위치 도메인 및 FRB-기반 스위치 도메인을 포함할 수 있고, 제2 구성원은 제1 및 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반 스위치 도메인 및 FRB-기반 스위치 도메인을 포함할 수 있다.

[0593] 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 구성원은 1개 이상의 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 1차 세포내 신호전달 도메인 및 1개 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다.

[0594] 한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 1개 이상의 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 1개 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 본원에 기재된, 예를 들어 4-1BB, CD28, CD27, ICOS, 및 OX40으로부터 선택된 복수의, 예를 들어 2 또는 3개의 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고, 실시양태에서 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 세포외로부터 세포내 방향으로 하기 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다: 4-1BB-CD27; 4-1BB-CD27; CD27-4-1BB; 4-1BB-CD28; CD28-4-1BB; OX40-CD28; CD28-OX40; CD28-4-1BB; 또는 4-1BB-CD28. 이러한 실시양태에서, 세포내 결합 구성원은 CD3제타 도메인을 포함한다. 하나의 이러한 실시양태에서, RCAR은 (1) 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 2개의 공동자극 도메인 및 제1 스위치 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원; 및 (2) 막횡단 도메인 또는 막 테더링 도메인 및 적어도 1개의 1차 세포내 신호전달 도메인, 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0595] 한 실시양태는 항원 결합 구성원이 CAR 세포의 표면에 테더링되지 않은 RCAR을 제공한다. 이는 세포를 항원 결합 구성원을 코딩하는 서열로 형질전환시키지 않으면서, 세포내 신호전달 구성원을 갖는 세포가 1개 이상의 항원 결합 도메인과 편리하게 쌍형성되도록 한다. 이러한 실시양태에서, RCAR은 1) 제1 스위치 도메인, 막횡단 도메인, 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 1차 세포내 신호전달 도메인, 및 제1 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 구성원; 및 2) 항원 결합 도메인, 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원 (여기서 항원 결합 구성원은 막횡단 도메인 또는 막 테더링 도메인을 포함하지 않고, 임의로, 세포내 신호전달 도메인을 포함하지 않음)을 포함한다. 일부 실시양태에서, RCAR은 3) 제2 항원 결합 도메인, 예를 들어 항원 결합 도메인에 의해 결합되는 것과 상이한 항원에 결합하는 제2 항원 결합 도메인; 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 제2 항원 결합 구성원을 추가로 포함할 수 있다.

[0596] 또한, 항원 결합 구성원이 이중특이적 활성화 및 표적화 능력을 포함하는 RCAR이 본원에 제공된다. 이러한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 복수의, 예를 들어 2, 3, 4, 또는 5개의 항원 결합 도메인, 예를 들어 scFv를 포함할 수 있고, 여기서 각각의 항원 결합 도메인은 표적 항원, 예를 들어 상이한 항원 또는 동일한 항원, 예를 들어 동일한 항원 상의 동일한 또는 상이한 에피토프에 결합한다. 한 실시양태에서, 복수의 항원 결합 도메인은 탠덤으로 존재하고, 임의로 링커 또는 힌지 영역이 각각의 항원 결합 도메인 사이에 배치된다. 적합한 링커 및 힌지 영역이 본원에 기재되어 있다.

[0597] 한 실시양태는 증식의 전환을 가능하게 하는 구성을 갖는 RCAR을 제공한다. 이러한 실시양태에서, RCAR은 1) 임의로, 막횡단 도메인 또는 막 테더링 도메인; 예를 들어 4-1BB, CD28, CD27, ICOS, 및 OX40으로부터 선택된 1개 이상의 공동-자극 신호전달 도메인, 및 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 구성원; 및 2) 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3제타 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원 (여기서 항원 결합 구성원은 스위치 도메인을 포함하지 않거나, 또는 세포내 신호전달 구성원 상의 스위치 도메인과 이량체화하는 스위치 도메인을 포함하지 않음)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 공동-자극 신호전달 도메인을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 구성원은 동종이량체화 스위치로부터의 스위치 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 구성원은 이중이량체화 스위치의 제1 스위치 도메인을 포함하고, RCAR은 이중이량체화 스위치의 제2 스위치 도메인을 포함하는 제2 세포내 신호전달 구성원을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 제2 세포내 신호전달 구성원은 세포내 신호전달 구성원과 동일한 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 이량체화 스위치는 세포내에 존재한다. 한 실시양태에서, 이량체화 스위치는 세포외에 존재한다.

[0598] 본원에 기재된 임의의 RCAR 구성에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 본원에 기재된 바와 같은 FKBP-FRB-기반 스위치를 포함한다.

[0599] 또한, 본원에 기재된 RCAR을 포함하는 세포가 본원에 제공된다. RCAR을 발현하도록 조작된 임의의 세포가 RCARX 세포로서 사용될 수 있다. 한 실시양태에서 RCARX 세포는 T 세포이고, RCART 세포로서 지칭된다. 한 실

시양태에서, RCARX 세포는 NK 세포이고, RCARN 세포로서 지칭된다.

[0600] 또한, RCAR 코딩 서열을 포함하는 핵산 및 벡터가 본원에 제공된다. RCAR의 다양한 요소를 코딩하는 서열은 동일한 핵산 분자, 예를 들어 동일한 플라스미드 또는 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 배치될 수 있다. 한 실시양태에서, (i) 항원 결합 구성원을 코딩하는 서열 및 (ii) 세포내 신호전달 구성원을 코딩하는 서열은 동일한 핵산, 예를 들어 벡터 상에 존재할 수 있다. 상응하는 단백질의 생산은, 예를 들어 개별 프로모터의 사용에 의해, 또는 비시스트론 전사 산물 (단일 번역 산물의 절단에 의해 또는 2개의 개별 단백질 산물의 번역에 의해 2개의 단백질의 생산을 발생시킬 수 있음)의 사용에 의해 달성될 수 있다. 한 실시양태에서, 절단가능한 캡티드를 코딩하는 서열, 예를 들어 P2A 또는 F2A 서열은 (i)과 (ii) 사이에 배치된다. 한 실시양태에서, IRES, 예를 들어 EMCV 또는 EV71 IRES를 코딩하는 서열이 (i)과 (ii) 사이에 배치된다. 이들 실시양태에서, (i) 및 (ii)는 단일 RNA로서 전사된다. 한 실시양태에서, (i) 및 (ii)가 개별 mRNA로서 전사되도록, 제1 프로모터는 (i)에 작동가능하게 연결되고, 제2 프로모터는 (ii)에 작동가능하게 연결된다.

[0601] 대안적으로, RCAR의 다양한 요소를 코딩하는 서열은 상이한 핵산 분자, 예를 들어 상이한 플라스미드 또는 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 배치될 수 있다. 예를 들어, (i) 항원 결합 구성원을 코딩하는 서열은 제1 핵산, 예를 들어 제1 벡터 상에 존재할 수 있고, (ii) 세포내 신호전달 구성원을 코딩하는 서열은 제2 핵산, 예를 들어 제2 벡터 상에 존재할 수 있다.

[0602] 이량체화 스위치

[0603] 이량체화 스위치는 비-공유 또는 공유일 수 있다. 비-공유 이량체화 스위치에서, 이량체화 분자는 스위치 도메인 사이의 비-공유 상호작용을 촉진한다. 공유 이량체화 스위치에서, 이량체화 분자는 스위치 도메인 사이의 공유 상호작용을 촉진한다.

[0604] 한 실시양태에서, RCAR은 FKBP/FRAP 또는 FKBP/FRB-기반 이량체화 스위치를 포함한다. FKBP12 (FKBP 또는 FK506 결합 단백질)는 천연 생성물 면역억제 약물인 라파마이신에 대한 초기 세포내 표적으로서 기능하는 풍부한 세포질 단백질이다. 라파마이신은 FKBP 및 대형 PI3K 상동체 FRAP (RAFT, mTOR)에 결합한다. FRB는 FKBP-라파마이신 복합체에 결합하는데 충분한 FRAP의 93개의 아미노산 부분이다 (Chen, J., Zheng, X. F., Brown, E. J. & Schreiber, S. L. (1995) Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue. Proc Natl Acad Sci U S A 92: 4947-51.)

[0605] 실시양태에서, FKBP/FRAP, 예를 들어 FKBP/FRB 기반 스위치는 이량체화 분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파마이신 유사체를 사용할 수 있다.

[0606] FKBP의 아미노산 서열은 다음과 같다:

DVPDYASLGGPSSPKKKRKVSRGVQVETISPGDGRTFPK
RGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRG
WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHHPGIIPPHATLVFD
VELLKLETSY (SEQ ID NO: 205)

[0607]

[0608] 실시양태에서, FKBP 스위치 도메인은 라파마이신 또는 라파로그의 존재 하에 FRB 또는 그의 단편 또는 유사체에 결합하는 능력을 갖는 FKBP의 단편, 예를 들어 하기인, 서열식별번호: 205의 밑줄친 부분을 포함할 수 있다:

VQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSR
DRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYA
YGATGHHPGIIPPHATLVFDVELLKLETS (SEQ ID NO:206)

[0609]

[0610] FRB의 아미노산 서열은 다음과 같다:

ILWHEMWHEG LEEASRLYFG ERNVKGMFEV LEPLHAMMER GPQTLKETSF
NQAYGRDLME AQEWCRKYMK SGNVKDLTQA WDLYYHVFRF ISK (SEQ ID NO:
207)

[0611]

[0612] 본원에 사용된 용어 "FKBP/FRAP, 예를 들어 FKBP/FRB 기반 스위치"는 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001의 존재 하에 FRB, 또는 그의 단편 또는 유사체에 결합하는 능력을 갖는 FKBP 단편 또는 그의 유사체를 포함하고, 서열식별번호: 54 또는 55의 FKBP 서열과 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일성을 갖거나 또는 그와 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기만큼 상이한 제1 스위치 도메인; 및 라파마이신 또는 라파로그의 존재 하에 FRB, 또는 그의 단편 또는 유사체에 결합하는 능력을 갖는 FRB 단편 또는 그의 유사체를 포함하고, 서열식별번호: 56의 FRB 서열과 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일성을 갖거나 또는 그와 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기만큼 상이한 제2 스위치 도메인을 포함하는 이량체화 스위치를 지칭한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 RCAR은 서열식별번호: 205 (또는 서열식별번호: 206)에 개시된 아미노산 잔기를 포함하는 1개의 스위치 도메인 및 서열식별번호: 207에 개시된 아미노산 잔기를 포함하는 1개의 스위치 도메인을 포함한다.

[0613] 실시양태에서, FKBP/FRB 이량체화 스위치는 FRB-기반 스위치 도메인, 예를 들어 변형된 FRB 스위치 도메인, FKBP-기반 스위치 도메인과 이량체화 분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001 사이에 변경된, 예를 들어 증진된 복합체 형성을 나타내는 변형된 FRB 스위치 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 변형된 FRB 스위치 도메인은 아미노산 위치(들) L2031, E2032, S2035, R2036, F2039, G2040, T2098, W2101, D2102, Y2105, 및 F2108에서의 돌연변이로부터 선택된, 1개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과 돌연변이를 포함하며, 여기서 야생형 아미노산은 임의의 다른 자연-발생 아미노산으로 돌연변이된다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 E2032에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 E2032는 페닐알라닌 (E2032F), 메티오닌 (E2032M), 아르기닌 (E2032R), 발린 (E2032V), 티로신 (E2032Y), 이소류신 (E2032I), 예를 들어 서열식별번호: 208, 또는 류신 (E2032L), 예를 들어 서열식별번호: 209로 돌연변이된다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 T2098에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 T2098은 페닐알라닌 (T2098F) 또는 류신 (T2098L), 예를 들어 서열식별번호: 210으로 돌연변이된다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 E2032 및 T2098에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 E2032는 임의의 아미노산으로 돌연변이되고, 여기서 T2098은 임의의 아미노산, 예를 들어 서열식별번호: 211로 돌연변이된다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 E2032I 및 T2098L 돌연변이, 예를 들어 서열식별번호: 212를 포함한다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 E2032L 및 T2098L 돌연변이, 예를 들어 서열식별번호: 213을 포함한다.

[0614] <표 9> 이량체화 분자에 대해 증가된 친화도를 갖는 예시적인 돌연변이체 FRB

FRB 돌연변이체	아미노산 서열	SEQ ID NO:
E2032I 돌연변이체	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAEQWCRKYMKGSGNVKDLTQAWDLYYHVFRISKTS	208
E2032L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAEQWCRKYMKGSGNVKDLTQAWDLYYHVFRISKTS	209
T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLEASRLYFGERNVKGMEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAEQWCRKYMKGSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISKTS	210
E2032, T2098 돌연변이체	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAEQWCRKYMKGSGNVKDLTQAWDLYYHVFRISKTS	211
E2032I, T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAEQWCRKYMKGSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISKTS	212
E2032L, T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAEQWCRKYMKGSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISKTS	213

[0615]

[0616] 다른 적합한 이량체화 스위치는 GyrB-GyrB 기반 이량체화 스위치, 지베렐린-기반 이량체화 스위치, 태그/결합제 이량체화 스위치, 및 할로-태그/스냅-태그 이량체화 스위치를 포함한다. 본원에 제공된 안내에 따라, 이러한 스위치 및 관련 이량체화 분자는 통상의 기술자에게 명백할 것이다.

[0617] 이량체화 분자

[0618] 스위치 도메인 사이의 회합은 이량체화 분자에 의해 촉진된다. 이량체화 분자의 존재 하에, 스위치 도메인 사이의 상호작용 또는 회합은 제1 스위치 도메인과 회합된, 예를 들어 융합된 폴리펩티드와 제2 스위치 도메인과 회합된, 예를 들어 융합된 폴리펩티드 사이의 신호 전달을 허용한다. 비-제한적 수준의 이량체화 분자의 존재 하에, 신호 전달은 예를 들어 본원에 기재된 시스템에서 측정 시 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 5, 10, 50, 100배 증가된다.

[0619] 라파마이신 및 라파마이신 유사체 (때때로 라파로그로 지칭됨), 예를 들어 RAD001은 본원에 기재된 FKBP/FRB-기반 이량체화 스위치에서 이량체화 분자로서 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 이량체화 분자는 라파마이신

(시롤리무스), RAD001 (에베롤리무스), 조타롤리무스, 템시롤리무스, AP-23573 (리다포롤리무스), 비올리무스 및 AP21967로부터 선택될 수 있다. FKBP/FRB-기반 이량체화 스위치와 함께 사용하기에 적합한 추가의 라파마이신 유사체는 섹션 표제 "조합 요법", 또는 서브섹션 표제 "낮은 용량의 mTOR 억제제와의 조합"에 추가로 기재되어 있다.

[0620] 스플릿 CAR

[0621] 일부 실시양태에서, CAR-발현 세포는 스플릿 CAR을 사용한다. 스플릿 CAR 접근법은 본원에 참조로 포함되는 공개 W02014/055442 및 W02014/055657에 보다 상세하게 기재되어 있다. 간략하게, 스플릿 CAR 시스템은 제1 항원 결합 도메인 및 공동자극 도메인 (예를 들어, 41BB)을 갖는 제1 CAR을 발현하는 세포를 포함하고, 세포는 또한 제2 항원 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3 제타)을 갖는 제2 CAR을 발현한다. 세포가 제1 항원을 만난 경우에, 공동자극 도메인이 활성화되고 세포는 증식한다. 세포가 제2 항원을 만난 경우에, 세포내 신호전달 도메인이 활성화되고 세포-사멸 활성이 개시된다. 따라서, CAR-발현 세포는 오직 둘 다의 항원의 존재 하에서만 활성화된다. 실시양태에서 제1 항원 결합 도메인은 CLL-1을 인식하고, 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 도메인을 포함하고, 제2 항원 결합 도메인은 급성 골수성 백혈병 세포 상에서 발현된 항원, 예를 들어 CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타를 인식한다. 실시양태에서 제1 항원 결합 도메인은 CLL-1을 인식하고, 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 도메인을 포함하고, 제2 항원 결합 도메인은 B-세포 상에서 발현된 항원, 예를 들어 CD19, CD20, CD22 또는 ROR1을 인식한다.

[0622] 안정성 및 돌연변이

[0623] CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv 분자 (예를 들어, 가용성 scFv)의 안정성은 통상적인 대조군 scFv 분자 또는 전장 항체의 생물물리학적 특성 (예를 들어, 열적 안정성)을 참조하여 평가될 수 있다. 한 실시양태에서, 인간 scFv는 기재된 검정에서 대조군 결합 분자 (예를 들어 통상적인 scFv 분자)보다 약 0.1, 약 0.25, 약 0.5, 약 0.75, 약 1, 약 1.25, 약 1.5, 약 1.75, 약 2, 약 2.5, 약 3, 약 3.5, 약 4, 약 4.5, 약 5, 약 5.5, 약 6, 약 6.5, 약 7, 약 7.5, 약 8, 약 8.5, 약 9, 약 9.5, 약 10°C, 약 11°C, 약 12°C, 약 13°C, 약 14°C, 또는 약 15°C 더 큰 열적 안정성을 갖는다.

[0624] 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 개선된 열적 안정성은 후속적으로 전체 CLL-1 CAR 구축물에 부여되어, CLL-1 CAR 구축물의 개선된 치료 특성으로 이어진다. 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 열적 안정성은 통상적인 항체와 비교하여 적어도 약 2°C 또는 3°C 개선될 수 있다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 통상적인 항체와 비교하여 1°C 개선된 열적 안정성을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 통상적인 항체와 비교하여 2°C 개선된 열적 안정성을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, scFv는 통상적인 항체와 비교하여 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15°C 개선된 열적 안정성을 갖는다. 비교는, 예를 들어 본원에 개시된 scFv 분자와 전장 항체 사이에 이루어질 수 있다. 열적 안정성은 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, T_m이 측정될 수 있다. T_m 측정 방법 및 단백질 안정성을 결정하는 다른 방법이 하기에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[0625] scFv에서의 돌연변이는 scFv의 안정성을 변경시키고, scFv 및 CART CLL-1 구축물의 전체적인 안정성을 개선시킨다. 인간 scFv의 안정성은 T_m, 온도 변성 및 온도 응집과 같은 측정을 사용하여 결정된다.

[0626] 돌연변이체 scFv의 결합 능력은 실시예에 기재된 검정을 사용하여 결정될 수 있다.

[0627] 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 돌연변이된 scFv가 CLL-1 CAR 구축물에 대해 개선된 안정성을 부여하도록 적어도 1개의 돌연변이를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 돌연변이된 scFv가 CLL-1 CAR 구축물에 대해 개선된 안정성을 부여하도록 인간화 과정으로부터 발생한 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 돌연변이를 포함한다.

[0628] 단백질 안정성의 평가 방법

[0629] 항원 결합 도메인의 안정성은 예를 들어 하기 기재된 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 이러한 방법은 가장 덜 안정한 도메인이 먼저 언폴딩되거나 또는 협동적으로 언폴딩되는 다중도메인 유닛 (예를 들어, 단일 언폴딩 전이를 나타내는 다중도메인 단백질)의 전체적인 안정성 역치를 제한하는 다중 열적 언폴딩 전이의 결정을 가능하게 한다. 가장 덜 안정한 도메인은 수많은 추가의 방식으로 확인될 수 있다. 돌연변이유발은 도메인이 전체 안정성을 제한하는지 프로빙하기 위해 수행될 수 있다. 추가로, 다중도메인 단백질의 프로테아제 저항성은, 가장 덜 안정한 도메인이 DSC 또는 다른 분광학적 방법을 통해 본질적으로 언폴딩되는 것으로 공지된 조건 하에 수행될 수 있다 (Fontana, et al., (1997) Fold. Des., 2: R17-26; Dimasi et al. (2009) J. Mol. Biol. 393:

672-692). 가장 덜 안정한 도메인이 확인되면, 이러한 도메인 (또는 그의 부분)을 코딩하는 서열을 방법에서 시험 서열로서 사용할 수 있다.

[0630] a) 열적 안정성

[0631] 조성물의 열적 안정성은 관련 기술분야에 공지된 많은 비-제한적 생물물리학적 또는 생화학적 기술을 사용하여 분석될 수 있다. 특정 실시양태에서, 열적 안정성은 분석적 분광분석법에 의해 평가된다.

[0632] 예시적인 분석적 분광분석 방법은 시차 주사 열량측정 (DSC)이다. DSC는 대부분의 단백질 또는 단백질 도메인의 언폴딩을 수반하는 열 흡광도에 감수성인 열량계를 사용한다 (예를 들어, 문헌 [Sanchez-Ruiz, et al., Biochemistry, 27: 1648-52, 1988] 참조). 단백질의 열적 안정성을 결정하기 위해, 단백질의 샘플을 열량계 내로 삽입하고, 온도를 Fab 또는 scFv가 언폴딩될 때까지 상승시킨다. 단백질이 언폴딩되는 온도는 전체적인 단백질 안정성을 나타낸다.

[0633] 또 다른 예시적인 분석적 분광분석 방법은 원형 이색성 (CD) 분광분석법이다. CD 분광측정법은 증가하는 온도의 함수로서 조성물의 광학 활성을 측정한다. 원형 이색성 (CD) 분광분석법은 구조적 비대칭으로 인해 발생하는 좌선회 편광 대 우선회 편광의 흡수에서의 차이를 측정한다. 불규칙적 또는 언폴딩된 구조는 규칙적 또는 폴딩된 구조의 것과 매우 상이한 CD 스펙트럼을 생성한다. CD 스펙트럼은 증가하는 온도의 변성 효과에 대한 단백질의 감수성을 반영하고, 따라서 단백질의 열적 안정성을 나타낸다 (문헌 [van Mierlo and Steemsma, J. Biotechnol., 79(3):281-98, 2000] 참조).

[0634] 열적 안정성을 측정하기 위한 또 다른 예시적인 분석적 분광분석 방법은 형광 방출 분광분석법이다 (상기 문헌 [van Mierlo and Steemsma] 참조). 열적 안정성을 측정하기 위한 또 다른 예시적인 분석적 분광분석 방법은 핵자기 공명 (NMR) 분광분석법이다 (예를 들어 상기 문헌 [van Mierlo and Steemsma] 참조).

[0635] 조성물의 열적 안정성은 생화학적으로 측정될 수 있다. 열적 안정성을 평가하기 위한 예시적인 생화학적 방법은 열 켈린지 검정이다. "열 켈린지 검정"에서, 조성물은 설정된 시간 동안 소정의 범위의 상승된 온도에 적용된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 시험 scFv 분자 또는 scFv 분자를 포함하는 분자는 소정의 범위의 증가하는 온도에, 예를 들어 1-1.5시간 동안 적용된다. 이어서, 단백질의 활성이 관련 생화학적 검정에 의해 검정된다. 예를 들어, 단백질이 결합 단백질 (예를 들어 scFv 또는 scFv-함유 폴리펩티드)인 경우에, 결합 단백질의 결합 활성은 기능적 또는 정량적 ELISA에 의해 결정될 수 있다.

[0636] 이러한 검정은 이. 콜라이 및 고처리량 스크리닝을 사용하여 고처리량 포맷 및 실시예에 개시된 포맷으로 수행될 수 있다. 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv 변이체의 라이브러리는 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv 발현이 유도될 수 있고, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 열 켈린지에 적용될 수 있다. 켈린지된 시험 샘플은 결합에 대해 검정될 수 있고, 안정한 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 스케일-업되어 추가로 특징화될 수 있다.

[0637] 열적 안정성은 임의의 상기 기술 (예를 들어 분석적 분광분석 기술)을 사용하여 조성물의 용융 온도 (T_m)를 측정함으로써 평가된다. 용융 온도는 조성물의 분자의 50%가 폴딩된 상태로 존재하는 열 전이 곡선의 중간점에서의 온도이다 (예를 들어, 문헌 [Dimasi et al. (2009) J. Mol Biol. 393: 672-692] 참조). 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv에 대한 T_m 값은 약 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C이다. 한 실시양태에서, IgG에 대한 T_m 값은 약 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C이다. 한 실시양태에서, 다가 항체에 대한 T_m 값은 약 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C이다.

[0638] 열적 안정성은 또한 분석적 열량측정 기술 (예를 들어 DSC)을 사용하여 조성물의 비열 또는 열 용량 (C_p)을 측

정함으로써 평가된다. 조성물의 비열은 1mol의 물의 온도를 1℃ 상승시키기 위해 필요한 에너지 (예를 들어 kcal/mol 단위)이다. 큰 Cp는 변성된 또는 불활성 단백질 조성물의 특징이다. 조성물의 열 용량의 변화 (ΔC_p)는 그의 열 전이 전 및 후에 조성물의 비열을 결정함으로써 측정된다. 열적 안정성은 또한 언폴딩의 깁스 (Gibbs) 자유 에너지 (ΔG), 언폴딩의 엔탈피 (ΔH), 또는 언폴딩의 엔트로피 (ΔS)를 비롯한 열역학적 안정성의 다른 파라미터를 측정하거나 결정함으로써 평가될 수 있다. 상기 생화학적 검정 중 1종 이상 (예를 들어 열 켈린지 검정)이, 조성물의 50%가 그의 활성 (예를 들어 결합 활성)을 보유하는 온도 (즉, T_c 값)를 결정하는데 사용된다.

[0639] 또한, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv에 대한 돌연변이는 비돌연변이된 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv와 비교하여 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 열적 안정성을 변경시킨다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv에 열적 안정성을 부여하는 단일 돌연변이를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv에 열적 안정성을 부여하는 다중 돌연변이를 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv 내의 다중 돌연변이는 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 열적 안정성에 대해 상가적 효과를 갖는다.

[0640] b) % 응집

[0641] 조성물의 안정성은 그의 응집 성향을 측정함으로써 결정될 수 있다. 응집은 수많은 비-제한적인 생화학적 또는 생물물리학적 기술에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 크로마토그래피, 예를 들어 크기-배제 크로마토그래피 (SEC)를 사용하여 조성물의 응집이 평가될 수 있다. SEC는 분자를 크기를 기초로 하여 분리한다. 칼럼은, 이온 및 소분자는 그의 내부에 수용하지만 큰 것은 수용하지 않을 중합체 겔의 반-고체 비드로 채워진다. 단백질 조성물이 칼럼의 상단에 적용되는 경우에, 치밀하게 폴딩된 단백질 (즉, 비-응집된 단백질)은 큰 단백질 응집체에 이용가능한 것보다 더 큰 부피의 용매 전반에 분포된다. 그 결과, 큰 응집체는 칼럼을 통해 보다 신속하게 이동하고, 이러한 방식으로 혼합물이 그의 성분으로 분리되거나 분획화될 수 있다. 각각의 분획은 겔로부터 용리됨에 따라 별개로 정량화될 수 있다 (예를 들어 광 산란에 의해). 따라서, 조성물의 % 응집은 분획의 농도를 겔에 적용된 단백질의 총 농도와 비교함으로써 결정될 수 있다. 안정한 조성물은 칼럼으로부터 본질적으로 단일 분획으로서 용리되고, 용리 프로파일 또는 크로마토그램에서 본질적으로 단일 피크로서 출현한다.

[0642] c) 결합 친화도

[0643] 조성물의 안정성은 그의 표적 결합 친화도를 결정함으로써 평가될 수 있다. 결합 친화도를 결정하기 위한 매우 다양한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 결합 친화도를 결정하기 위한 예시적인 방법은 표면 플라즈몬 공명을 사용한다. 표면 플라즈몬 공명은 예를 들어 비아코어(BIAcore) 시스템 (파마시아 바이오센서 아베 (Pharmacia Biosensor AB), 스웨덴 옅살라 및 미국 뉴저지주 피스카타웨이)을 사용하여 바이오센서 매트릭스 내에서 단백질 농도에서의 변경을 검출함으로써 실시간 생물특이적 상호작용의 분석을 가능하게 하는 광학 현상이다. 추가의 설명에 대해서는, 문헌 [Jonsson, U., et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26; Jonsson, U., et al. (1991) Biotechniques 11:620-627; Johnsson, B., et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131; 및 Johnsson, B., et al. (1991) Anal. Biochem. 198:268-277]을 참조한다.

[0644] 한 측면에서, CAR의 항원 결합 도메인은 본원에 기재된 항원 결합 도메인 아미노산 서열과 상동성인 아미노산 서열을 포함하고, 항원 결합 도메인은 본원에 기재된 항-CLL-1 항체 단편의 목적하는 기능적 특성을 보유한다. 하나의 구체적 측면에서, 본 발명의 CAR 조성물은 항체 단편을 포함한다. 추가 측면에서, 그러한 항체 단편은 scFv를 포함한다.

[0645] 다양한 측면에서, CAR의 항원 결합 도메인은 1개 또는 둘 다의 가변 영역 (예를 들어, VH 및/또는 VL) 내의, 예를 들어 1개 이상의 CDR 영역 내의 및/또는 1개 이상의 프레임워크 영역 내의 1개 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 조작된다. 하나의 구체적 측면에서, 본 발명의 CAR 조성물은 항체 단편을 포함한다. 추가 측면에서, 그러한 항체 단편은 scFv를 포함한다.

[0646] 본 발명의 항체 또는 항체 단편은, 아미노산 서열은 변경되지만 (예를 들어, 야생형으로부터) 목적하는 활성은 변경되지 않도록 추가로 변형될 수 있음을 관련 기술분야의 통상의 기술자는 이해할 것이다. 예를 들어, "비필수" 아미노산 잔기에서의 아미노산 치환으로 이어지는 추가의 뉴클레오타이드 치환이 단백질에 대해 이루어질 수 있다. 예를 들어, 분자 내 비필수 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 또 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 아미노산의 스트링은 측쇄 패밀리 구성원의 순서 및/또는 조성에서 상이한

구조적으로 유사한 스트링으로 대체될 수 있고, 예를 들어 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된 보존적 치환이 이루어질 수 있다.

- [0647] 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 관련 기술분야에 정의되어 있고, 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함한다.
- [0648] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열과 관련하여 퍼센트 동일성은 동일한 2개 이상의 서열을 지칭한다. 하기 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하여 또는 수동 정렬 및 시각적 검사에 의해 측정된 바와 같은 비교 윈도우 또는 지정된 영역에 걸쳐 최대 상응을 위해 비교 및 정렬했을 때, 2개의 서열이 명시된 핵분율의 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드를 가질 경우에 (예를 들어, 명시된 영역에 걸쳐, 또는 명시되지 않은 경우에 전체 서열에 걸쳐 60% 동일성, 임의로 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성), 2개의 서열은 "실질적으로 동일하다". 임의로, 동일성은 길이가 적어도 약 50개 뉴클레오티드 (또는 10개 아미노산)인 영역에 걸쳐, 또는 보다 바람직하게는 길이가 100 내지 500 또는 1000개 또는 그 초과 뉴클레오티드 (또는 20, 50, 200개 또는 그 초과 아미노산)인 영역에 걸쳐 존재한다.
- [0649] 서열 비교를 위해, 전형적으로 1개의 서열은 시험 서열이 비교되는 참조 서열로서 작용한다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우에, 시험 및 참조 서열은 컴퓨터에 입력되고, 필요한 경우에 하위서열 좌표가 지정되고, 서열 알고리즘 프로그램 파라미터가 지정된다. 디폴트 프로그램 파라미터가 사용될 수 있거나, 또는 대안적 파라미터가 지정될 수 있다. 이어서, 서열 비교 알고리즘은 프로그램 파라미터를 기초로 하여 참조 서열 대비 시험 서열의 퍼센트 서열 동일성을 계산한다. 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 예를 들어 문헌 [Smith and Waterman, (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c]의 국부 상동성 알고리즘에 의해, 문헌 [Needleman and Wunsch, (1970) J. Mol. Biol. 48:443]의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, 문헌 [Pearson and Lipman, (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444]의 유사성 검색 방법에 의해, 이들 알고리즘의 컴퓨터 실행 (위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)의 위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지 내의 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA)에 의해, 또는 수동 정렬 및 시각적 검사에 의해 (예를 들어, 문헌 [Brent et al., (2003) Current Protocols in Molecular Biology] 참조)에 의해 수행될 수 있다.
- [0650] 퍼센트 서열 동일성 및 서열 유사성을 결정하기 위해 적합한 알고리즘의 2가지 예는 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이고, 이것은 각각 문헌 [Altschul et al., (1977) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402; 및 Altschul et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410]에 기재되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 국립 생물 정보 센터를 통해 공중 이용가능하다.
- [0651] 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 또한 PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하는, ALIGN 프로그램 (버전 2.0)에 통합된 문헌 [E. Meyers and W. Miller, (1988) Comput. Appl. Biosci. 4:11-17]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다. 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 Blossom 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6을 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지 (www.gcg.com에서 이용가능) 내의 GAP 프로그램에 통합된 문헌 [Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:444-453] 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0652] 한 측면에서, 본 발명은 기능적으로 동등한 분자를 생성하는 출발 항체 또는 단편 (예를 들어, scFv) 아미노산 서열의 변형을 고려한다. 예를 들어, CAR 내에 포함된 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 VH 또는 VL은 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 출발 VH 또는 VL 프레임워크 영역의 적어도 약 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 보유하도록 변형될 수 있다. 본 발명은 기능적으로 동등한 분자를 생성하기 위해 전체 CAR 구축물의 변형, 예를 들어 CAR 구축물의 다양한 도메인의 1개 이상의 아미노산 서열의 변형을 고려한다. CAR 구축물은 출발 CAR 구축물의 적어도 약 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일성을 보유하도록 변형될 수 있다.
- [0653] RNA 형질감염

- [0654] 시험관내 전사된 RNA CAR을 생산하는 방법이 본원에 개시된다. 본 발명은 또한 세포 내로 직접 형질감염될 수 있는 CAR 코딩 RNA 구축물을 포함한다. 형질감염에 사용하기 위한 mRNA를 생성하는 방법은 특수하게 설계된 프라이머를 사용한 주형의 시험관내 전사 (IVT)에 이은 폴리A 첨가를 수반할 수 있으며, 이는 3' 및 5' 비번역 서열 ("UTR"), 5' 캡 및/또는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES), 발현시킬 핵산, 및 폴리A 테일을 함유하는, 전형적으로 50-2000개 염기 길이의 구축물 (서열식별번호: 35)을 생산한다. 이와 같이 생산된 RNA는 상이한 유형의 세포를 효율적으로 형질감염시킬 수 있다. 한 측면에서, 주형은 CAR에 대한 서열을 포함한다.
- [0655] 한 측면에서, 항-CLL-1 CAR은 메신저 RNA (mRNA)에 의해 코딩된다. 한 측면에서, 항-CLL-1 CAR을 코딩하는 mRNA는 CART 세포의 생산을 위해 T 세포 내로 도입된다.
- [0656] 한 실시양태에서, 시험관내 전사된 RNA CAR은 일시적 형질감염의 형태로서 세포에 도입될 수 있다. RNA는 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)-생성 주형을 사용하여 시험관내 전사에 의해 생산된다. 임의의 공급원으로부터의 관심 DNA는 적절한 프라이머 및 RNA 폴리머라제를 사용하여 시험관내 mRNA 합성을 위한 주형으로 PCR에 의해 직접 전환될 수 있다. DNA의 공급원은 예를 들어 게놈 DNA, 플라스미드 DNA, 파지 DNA, cDNA, 합성 DNA 서열 또는 임의의 다른 적절한 DNA 공급원일 수 있다. 시험관내 전사를 위한 목적하는 주형은 본 발명의 CAR이다. 예를 들어, RNA CAR을 위한 주형은 항종양 항체의 단일쇄 가변 도메인을 포함하는 세포의 영역; 힌지 영역, 막횡단 도메인 (예를 들어, CD8a의 막횡단 도메인); 및 예를 들어 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 4-1BB의 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 영역을 포함한다.
- [0657] 한 실시양태에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 오픈 리딩 프레임을 함유한다. DNA는 유기체의 게놈으로부터 자연 발생 DNA 서열로부터 유래될 수 있다. 한 실시양태에서, 핵산은 일부 또는 모두의 5' 및/또는 3' 비번역 영역 (UTR)을 포함할 수 있다. 핵산은 엑손 및 인트론을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 인간 핵산 서열이다. 또 다른 실시양태에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 5' 및 3' UTR을 포함하는 인간 핵산 서열이다. DNA는 대안적으로 자연 발생 유기체에서 정상적으로는 발현되지 않는 인공 DNA 서열일 수 있다. 예시적인 인공 DNA 서열은 함께 라이게이션되어 융합 단백질을 코딩하는 오픈 리딩 프레임을 형성하는 유전자의 부분을 함유하는 것이다. 함께 라이게이션되는 DNA의 부분은 단일 유기체로부터 또는 1종 초과 유기체로부터 유래될 수 있다.
- [0658] PCR은 형질감염을 위해 사용되는 mRNA의 시험관내 전사를 위한 주형을 생성하기 위해 사용된다. PCR을 수행하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. PCR에 사용하기 위한 프라이머는 PCR을 위한 주형으로서 사용되는 DNA의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 갖도록 설계된다. 본원에 사용된 "실질적으로 상보적인"은 프라이머 서열 내의 대부분의 또는 모든 염기가 상보적이거나 또는 1개 이상의 염기가 비-상보적이거나 미스매치된 뉴클레오티드의 서열을 지칭한다. 실질적으로 상보적인 서열은 PCR을 위해 사용되는 어닐링 조건 하에서 의도된 DNA 표적과 어닐링하거나 혼성화할 수 있다. 프라이머는 DNA 주형의 임의의 부분에 실질적으로 상보적으로 설계될 수 있다. 예를 들어, 프라이머는 5' 및 3' UTR을 포함하는, 세포에서 정상적으로 전사되는 핵산의 부분 (오픈 리딩 프레임)을 증폭하도록 설계될 수 있다. 프라이머는 또한 특정한 관심 도메인을 코딩하는 핵산의 부분을 증폭하도록 설계될 수 있다. 한 실시양태에서, 프라이머는 5' 및 3' UTR의 모두 또는 일부를 포함하는 인간 cDNA의 코딩 영역을 증폭하도록 설계될 수 있다. PCR을 위해 유용한 프라이머는 관련 기술분야에 널리 공지된 합성 방법에 의해 생성될 수 있다. "정방향 프라이머"는 증폭될 DNA 서열의 상류에 존재하는 DNA 주형상의 뉴클레오티드에 실질적으로 상보적인 뉴클레오티드의 영역을 함유하는 프라이머이다. "상류"는 코딩 가닥과 관련하여 증폭시킬 DNA 서열에 대해 5' 위치를 지칭하기 위해 본원에 사용된다. "역방향 프라이머"는 증폭시킬 DNA 서열의 하류에 존재하는 이중-가닥 DNA 주형에 실질적으로 상보적인 뉴클레오티드의 영역을 함유하는 프라이머이다. "하류"는 코딩 가닥과 관련하여 증폭시킬 DNA 서열의 3' 위치를 지칭하기 위해 본원에 사용된다.
- [0659] PCR에 유용한 임의의 DNA 폴리머라제가 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. 시약 및 폴리머라제는 수많은 공급원으로부터 상업적으로 입수가능하다.
- [0660] 안정성 및/또는 번역 효율을 촉진하는 능력을 갖는 화학 구조도 사용될 수 있다. RNA는 바람직하게는 5' 및 3' UTR을 갖는다. 한 실시양태에서, 5' UTR은 1 내지 3000개 뉴클레오티드 길이이다. 코딩 영역에 추가되는 5' 및 3' UTR 서열의 길이는 UTR의 상이한 영역에 어닐링하는 PCR용 프라이머의 설계를 포함하나 이에 제한되지는 않는 상이한 방법에 의해 변경될 수 있다. 이러한 접근법을 사용하여, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 전사된 RNA의 형질감염 후에 최적 번역 효율을 달성하기 위해 필요한 5' 및 3' UTR 길이를 변형시킬 수 있다.
- [0661] 5' 및 3' UTR은 관심 핵산에 대한 자연 발생, 내인성 5' 및 3' UTR일 수 있다. 대안적으로, 관심 핵산에 내인

성이 아닌 UTR 서열은 UTR 서열을 정방향 및 역방향 프라이머 내로 혼입시킴으로써 또는 주형의 임의의 다른 변형에 의해 부가될 수 있다. 관심 핵산에 내인성이 아닌 UTR 서열의 사용은 RNA의 안정성 및/또는 번역 효율의 변형을 위해 유용할 수 있다. 예를 들어, 3' UTR 서열 내의 AU-풍부 요소가 mRNA의 안정성을 감소시킬 수 있다고 공지되어 있다. 따라서, 3' UTR은 관련 기술분야에 널리 공지된 UTR의 특성을 기초로 하여 전사되는 RNA의 안정성을 증가시키도록 선택되거나 설계될 수 있다.

[0662] 한 실시양태에서, 5' UTR은 내인성 핵산의 코작(Kozak) 서열을 함유할 수 있다. 대안적으로, 관심 핵산에 내인성이 아닌 5' UTR이 상기 기재된 바와 같이 PCR에 의해 부가되는 경우에, 컨센서스 코작 서열은 5' UTR 서열의 부가에 의해 대체될 수 있다. 코작 서열은 일부 RNA 전사체의 번역 효율을 증가시킬 수 있지만, 효율적인 번역을 가능하게 하기 위해 모든 RNA에 필요한 것으로 보이지는 않는다. 많은 mRNA에 대한 코작 서열의 필요성은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 다른 실시양태에서, 5' UTR은 그의 RNA 게놈이 세포에서 안정한 RNA 바이러스의 5' UTR일 수 있다. 다른 실시양태에서, 다양한 뉴클레오타이드 유사체가 mRNA의 엑소뉴클레아제 분해를 저해하기 위해 3' 또는 5' UTR에 사용될 수 있다.

[0663] 유전자 클로닝을 필요로 하지 않으면서 RNA를 DNA 주형으로부터 합성할 수 있기 위해, 전사 프로모터는 전사시킬 서열의 상류의 DNA 주형에 부착되어야 한다. RNA 폴리머라제에 대한 프로모터로서 기능하는 서열이 정방향 프라이머의 5' 말단부에 부가되는 경우에, RNA 폴리머라제 프로모터는 전사되는 오픈 리딩 프레임의 상류의 PCR 생성물 내로 혼입된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 프로모터는 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 T7 폴리머라제 프로모터이다. 다른 유용한 프로모터는 T3 및 SP6 RNA 폴리머라제 프로모터를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. T7, T3 및 SP6 프로모터에 대한 컨센서스 뉴클레오타이드 서열이 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0664] 바람직한 실시양태에서, mRNA는 세포에서 리보솜 결합, 번역의 개시 및 mRNA의 안정성을 결정하는 5' 말단 및 3' 폴리(A) 테일 상에 둘 다의 캡을 갖는다. 원형 DNA 주형, 예를 들어 플라스미드 DNA에서, RNA 폴리머라제는 진행 세포에서의 발현에 적합하지 않은 긴 콘카테머 생성물을 생산한다. 3' UTR의 말단에서 선형화된 플라스미드 DNA의 전사는 전사 후에 폴리아데닐화된 경우에도 진행 형질감염에 유효하지 않은 정상 크기의 mRNA를 생성한다.

[0665] 선형 DNA 주형 상에서, 파지 T7 RNA 폴리머라제는 주형의 마지막 염기를 넘어 전사체의 3' 말단을 연장시킬 수 있다 (Schenborn and Mierendorf, *Nuc Acids Res.*, 13:6223-36 (1985); Nacheva and Berzal-Herranz, *Eur. J. Biochem.*, 270:1485-65 (2003)).

[0666] 폴리A/T 스트레치의 DNA 주형 내로의 통상적인 통합 방법은 분자 클로닝이다. 그러나, 플라스미드 DNA 내로 통합된 폴리A/T 서열은 플라스미드 불안정성을 유발할 수 있고, 이것은 박테리아 세포로부터 수득된 플라스미드 DNA 주형이 종종 결실 및 다른 이상에 의해 고도로 오염되는 이유이다. 이는 클로닝 절차를 어렵고 시간 소모적으로 만들 뿐만 아니라 종종 신뢰할 수 없게 만든다. 이러한 이유 때문에, 클로닝 없이 폴리A/T 3' 스트레치를 갖는 DNA 주형의 구축을 가능하게 하는 방법이 매우 바람직하다.

[0667] 전사 DNA 주형의 폴리A/T 절편은 폴리T 테일, 예컨대 100T 테일 (서열식별번호: 31) (크기는 50-5000 T일 수 있음 (서열식별번호: 32))을 함유하는 역방향 프라이머를 사용하여 PCR 동안, 또는 DNA 라이게이션 또는 시험관내 제조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 다른 방법에 의해 PCR 후에 생산될 수 있다. 폴리(A) 테일은 또한 안정성을 RNA에 제공하고, 그의 분해를 감소시킨다. 일반적으로, 폴리(A) 테일의 길이는 전사된 RNA의 안정성과 양의 상관관계가 있다. 한 실시양태에서, 폴리(A) 테일은 100 내지 5000개 아데노신 (서열식별번호: 33)이다.

[0668] RNA의 폴리(A) 테일은 폴리(A) 폴리머라제, 예컨대 이. 콜라이 폴리A 폴리머라제 (E-PAP)를 사용하여 시험관내 전사 후에 추가로 연장될 수 있다. 한 실시양태에서, 폴리(A) 테일의 길이를 100개의 뉴클레오타이드로부터 300 내지 400개의 뉴클레오타이드 (서열식별번호: 34)로 증가시키는 것은, RNA의 번역 효율의 약 2-배 증가를 발생시킨다. 추가로, 상이한 화학기의 3' 말단에 대한 부착은 mRNA 안정성을 증가시킬 수 있다. 이러한 부착은 변형된/인공 뉴클레오타이드, 압타머 및 다른 화합물을 함유할 수 있다. 예를 들어, ATP 유사체는 폴리(A) 폴리머라제를 사용하여 폴리(A) 테일 내로 혼입될 수 있다. ATP 유사체는 RNA의 안정성을 추가로 증가시킬 수 있다.

[0669] 5' 캡이 또한 RNA 분자에게 안정성을 제공한다. 바람직한 실시양태에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 RNA는 5' 캡을 포함한다. 5' 캡은 관련 기술분야에 공지되고 본원에 기재된 기술을 사용하여 제공된다 (Cougot, et al., *Trends in Biochem. Sci.*, 29:436-444 (2001); Stepinski, et al., *RNA*, 7:1468-95 (2001); Elango, et al., *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 330:958-966 (2005)).

- [0670] 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 RNA는 또한 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열을 함유할 수 있다. IRES 서열은 mRNA에 대한 캡-비의존성 리보솜 결합을 개시하고 번역의 개시를 용이하게 하는 임의의 바이러스, 염색체 또는 인공적으로 설계된 서열일 수 있다. 세포 투과성 및 생존을 용이하게 하는 인자, 예컨대 당, 펩티드, 지질, 단백질, 항산화제, 및 계면활성제를 함유할 수 있는, 세포 전기천공에 적합한 임의의 용질이 포함될 수 있다.
- [0671] RNA는 임의의 수많은 상이한 방법, 예를 들어 전기천공 (아막사 뉴클레오펙터(Amaxa Nucleofector)-II (아막사 바이오시스템즈(Amaxa Biosystems), 독일 쾰른), (ECM 830 (BTX) (하버드 인스트루먼트(Harvard Instruments), 매사추세츠주 보스턴) 또는 진 펄서(Gene Pulser) II (바이오라드(BioRad), 콜로라도주 덴버), 멀티포레이터 (Multiporator) (에펜도르프(Eppendorf), 독일 함부르크), 리포펙션을 사용한 양이온성 리포솜 매개 형질감염, 중합체 캡슐화, 펩티드 매개 형질감염, 또는 바이오리스틱 입자 전달 시스템, 예컨대 "유전자 총" (예를 들어, 문헌 [Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001)] 참조)을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 상업적으로 입수가 가능한 방법을 사용하여 표적 세포 내로 도입될 수 있다.
- [0672] 비-바이러스 전달 방법
- [0673] 일부 측면에서, 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산을 세포 또는 조직 또는 대상체 내로 전달하는데 비-바이러스 방법이 사용될 수 있다.
- [0674] 일부 실시양태에서, 비-바이러스 방법은 트랜스포손 (전위가능 요소로도 불림)의 사용을 포함한다. 일부 실시양태에서, 트랜스포손은 게놈 내 위치에서 그 자체를 삽입할 수 있는 DNA 조각, 예를 들어 자기-복제 및 그의 카피의 게놈 내로의 삽입이 가능한 DNA 조각, 또는 보다 긴 핵산으로부터의 스플라이싱 및 게놈 내 또 다른 위치 내로의 삽입이 가능한 DNA 조각이다. 예를 들어, 트랜스포손은 전위를 위한 역전된 반복부 플랭킹 유전자로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0675] 트랜스포손을 사용한 핵산 전달의 예시적인 방법은 슬리핑 뷰티 트랜스포손 시스템(Sleeping Beauty transposon system) (SBTS) 및 피기백(piggyBac) (PB) 트랜스포손 시스템을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Aronovich et al. Hum. Mol. Genet. 20.1(2011):R14-20; Singh et al. Cancer Res. 15(2008):2961-2971; Huang et al. Mol. Ther. 16(2008):580-589; Grabundzija et al. Mol. Ther. 18(2010):1200-1209; Kebriaei et al. Blood. 122.21(2013):166; Williams. Molecular Therapy 16.9(2008):1515-16; Bell et al. Nat. Protoc. 2.12(2007):3153-65; 및 Ding et al. Cell. 122.3(2005):473-83]을 참조하고, 이들 모두는 본원에 참조로 포함된다.
- [0676] SBTS는 2개의 성분: 1) 트랜스젠을 함유하는 트랜스포손 및 2) 트랜스포사제 효소의 공급원을 포함한다. 트랜스포사제는 트랜스포손을 캐리어 플라스미드 (또는 다른 공여자 DNA)로부터 표적 DNA, 예컨대 숙주 세포 염색체/게놈으로 전위시킬 수 있다. 예를 들어, 트랜스포사제는 캐리어 플라스미드/공여자 DNA에 결합하고, 플라스미드로부터 트랜스포손 (트랜스젠(들) 포함)을 잘라내고, 이를 숙주 세포의 게놈 내로 삽입한다. 예를 들어, 상기 문헌 [Aronovich et al.]을 참조한다.
- [0677] 예시적인 트랜스포손은 pT2-기반 트랜스포손을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Grabundzija et al. Nucleic Acids Res. 41.3(2013):1829-47; 및 Singh et al. Cancer Res. 68.8(2008): 2961-2971]을 참조하고, 이들 모두는 본원에 참조로 포함된다. 예시적인 트랜스포사제는 Tc1/마리너-유형 트랜스포사제, 예를 들어 SB10 트랜스포사제 또는 SB11 트랜스포사제 (예를 들어 시토메갈로바이러스 프로모터로부터 발현될 수 있는 과다활성 트랜스포사제)를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Aronovich et al.; Kebriaei et al.; 및 Grabundzija et al.]을 참조하고, 이들 모두는 본원에 참조로 포함된다.
- [0678] SBTS의 사용은 트랜스젠, 예를 들어 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산의 효율적인 통합 및 발현을 허용한다. 예를 들어 트랜스포손 시스템, 예컨대 SBTS를 사용하여 본원에 기재된 CAR을 안정적으로 발현하는 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포를 생성하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0679] 본원에 기재된 방법에 따라, 일부 실시양태에서, 1종 이상의 핵산, 예를 들어 SBTS 성분을 함유하는 플라스미드가 세포 (예를 들어, T 또는 NK 세포)에게 전달된다. 예를 들어, 핵산(들)은 핵산 (예를 들어, 플라스미드 DNA) 전달의 표준 방법, 예를 들어 본원에 기재된 방법, 예를 들어 전기천공, 형질감염 또는 리포펙션에 의해 전달된다. 일부 실시양태에서, 핵산은 트랜스젠, 예를 들어 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산을 포함하는 트랜스포손을 함유한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 트랜스젠 (예를 들어, 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산) 뿐만 아니라 트랜스포사제 효소를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 트랜스포손을 함유한다. 다른 실시양태에서,

2개의 핵산을 갖는 시스템, 예를 들어 이중-플라스미드 시스템이 제공되며, 예를 들어 여기서 제1 플라스미드는 트랜스진을 포함하는 트랜스포손을 함유하고, 제2 플라스미드는 트랜스포사제 효소를 코딩하는 핵산 서열을 함유한다. 예를 들어, 제1 및 제2 핵산은 숙주 세포 내로 공동-전달된다.

[0680] 일부 실시양태에서, SBTS를 사용한 유전자 삽입 및 뉴클레아제 (예를 들어, 아연 핑거 뉴클레아제 (ZFN), 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제 (TALEN), CRISPR/Cas 시스템, 또는 조작된 메가뉴클레아제 재조작된 귀소 엔도뉴클레아제)를 사용한 유전자 편집의 조합을 사용하는 것에 의해, 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포, 예를 들어 T 또는 NK 세포가 생성된다.

[0681] 일부 실시양태에서, 비-바이러스 전달 방법의 사용은 세포, 예를 들어 T 또는 NK 세포의 재프로그래밍 및 세포의 대상체 내로의 직접 주입을 허용한다. 비-바이러스 벡터의 이점은 환자 집단을 충족시키는데 필요한 충분한 양을 생산하는 것의 용이성 및 상대적으로 낮은 비용, 저장 동안의 안정성, 및 면역원성의 결여를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0682] CAR을 코딩하는 핵산 구축물

[0683] 본 발명은 또한 본원에 기재된 1개 이상의 CAR 구축물을 코딩하는 핵산 분자를 제공한다. 한 측면에서, 핵산 분자는 메신저 RNA 전사체로서 제공된다. 한 측면에서, 핵산 분자는 DNA 구축물로서 제공된다.

[0684] 따라서, 한 측면에서, 본 발명은 키메라 항원 수용체 (CAR)를 코딩하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이며, 여기서 CAR은 항-CLL-1 결합 도메인 (예를 들어, 인간 항-CLL-1 결합 도메인), 막횡단 도메인, 및 자극 도메인, 예를 들어 공동자극 신호전달 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인, 예를 들어 제타 쇄를 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인, 예를 들어 서열식별번호: 39-51로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 항-CLL-1 결합 도메인이다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, CD28, CD3 엽실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및 CD154로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인이다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 서열식별번호: 6의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 힌지 영역, 예를 들어 본원에 기재된 힌지에 의해 막횡단 도메인에 연결된다. 한 실시양태에서, 힌지 영역은 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 3 또는 서열식별번호: 4 또는 서열식별번호: 5, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 단리된 핵산 분자는 공동자극 도메인을 코딩하는 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인은 예를 들어 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CD5, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CD5, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFTR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, Nkp80 (KLRF1), Nkp44, Nkp30, Nkp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택된, 본원에 기재된 단백질의 기능적 신호전달 도메인이다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인은 서열식별번호: 7의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7 또는 서열식별번호: 8의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열, 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다.

[0685] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 1의 리더 서열, 서열식별번호: 39-51로 이루어진 군으로부터 선택된 서열 (또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열)을 갖는 scFv 도메인, 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 3 또는 서열식별번호: 4 또는 서열식별번호: 5 (또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열)의 힌지 영역, 서열식별번호: 6의 서열 (또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열)을 갖는 막횡단 도메인, 서열식별번호: 7의 서열을 갖는 4-1BB 공동자극 도메인 또는 서열식별번호: 8의 서열 (또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열)을 갖는 CD27 공동

자극 도메인 또는 서열식별번호: 482의 서열 (또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열)을 갖는 CD28 공동자극 도메인 또는 서열식별번호: 483의 서열 (또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열)을 갖는 ICOS 공동자극 도메인, 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열 (또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열)을 갖는 CD3 제타 자극 도메인을 포함하는 CAR 구축물을 코딩하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이다.

[0686] 또 다른 측면에서, 본 발명은 핵산 분자에 의해 코딩된 단리된 폴리펩티드 분자에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 단리된 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 91-103으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0687] 또 다른 측면에서, 본 발명은 항-CLL-1 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 자극 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR) 분자를 코딩하는 핵산 분자에 관한 것이며, 여기서 상기 항-CLL-1 결합 도메인은 서열식별번호: 39-51로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0688] 한 실시양태에서, 코딩된 CAR 분자는 공동자극 도메인을 코딩하는 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 공동자극 도메인은 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, Nkp80 (KLRP1), Nkp44, Nkp30, Nkp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인이다. 한 실시양태에서, 4-1BB 공동자극 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, CD27 공동자극 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, CD28 공동자극 도메인은 서열식별번호: 482의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, ICOS 공동자극 도메인은 서열식별번호: 484의 아미노산 서열을 포함한다.

[0689] 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, CD28, CD3 앵클론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, Nkp80 (KLRP1), Nkp44, Nkp30, Nkp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인이다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 서열식별번호: 6의 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 4-1BB의 기능적 신호전달 도메인 및 제타의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 서열 및 서열식별번호: 9의 서열을 포함하며, 여기서 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다. 한 실시양태에서, 항-CLL-1 결합 도메인은 힌지 영역에 의해 막횡단 도메인에 연결된다. 한 실시양태에서, 힌지 영역은 서열식별번호: 2를 포함한다. 한 실시양태에서, 힌지 영역은 서열식별번호: 3 또는 서열식별번호: 4 또는 서열식별번호: 5를 포함한다.

[0690] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 1의 리더 서열, 서열식별번호: 59-51로 이루어진 군으로부터 선택된 서열 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 갖는 scFv 도메인, 서열식별번호: 2 또는 서열식별번호: 3 또는 서열식별번호: 4 또는 서열식별번호: 5의 힌지 영역, 서열식별번호: 6의 서열을 갖는 막횡단 도메인, 서열식별번호: 7의 서열을 갖는 4-1BB 공동자극 도메인 또는 서열식별번호: 8의 서열을 갖는 CD27 공동자극 도메인, 및 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10의 서열을 갖는 CD3 제타 자극 도메인을 포함하는 코딩된 CAR 분자에

관한 것이다. 한 실시양태에서, 코딩된 CAR 분자는 서열식별번호: 91-103으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열, 또는 그의 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0691] 목적하는 분자를 코딩하는 핵산 서열은 관련 기술분야에 공지된 재조합 방법을 사용하여, 예컨대 예를 들어 유전자를 발현하는 세포로부터 라이브러리를 스크리닝함으로써, 이를 포함하는 것으로 공지된 벡터로부터 유전자를 유도함으로써, 또는 표준 기술을 사용하여 이를 함유하는 세포 및 조직으로부터 직접 단리함으로써 획득할 수 있다. 대안적으로, 관심 유전자는 클로닝하기 보다는 합성적으로 생산할 수 있다.

[0692] 본 발명은 또한 본 발명의 DNA가 삽입된 벡터를 제공한다. 레트로바이러스, 예컨대 렌티바이러스로부터 유래된 벡터는 딸세포에서 트랜스진의 장기간의 안정한 통합 및 그의 증식을 가능하게 하기 때문에 장기간의 유전자 전달을 달성하기 적합한 도구이다. 렌티바이러스 벡터는 비-증식 세포, 예컨대 간세포를 형질도입할 수 있다는 점에서 종양-레트로바이러스, 예컨대 무린 백혈병 바이러스로부터 유래된 벡터에 비해 추가의 이점을 갖는다. 이는 또한 낮은 면역원성의 추가의 이점을 갖는다. 레트로바이러스 벡터는 또한, 예를 들어 감마레트로바이러스 벡터일 수 있다. 감마레트로바이러스 벡터는, 예를 들어 프로모터, 패키징 신호 (Ψ), 프라이머 결합 부위 (PBS), 1개 이상 (예를 들어, 2개)의 긴 말단 반복부 (LTR), 및 관심 트랜스진, 예를 들어 CAR을 코딩하는 유전자를 포함할 수 있다. 감마레트로바이러스 벡터는 바이러스 구조 유전자, 예컨대 gag, pol, 및 env가 결합되어 있을 수 있다. 예시적인 감마레트로바이러스 벡터는 무린 백혈병 바이러스 (MLV), 비장-조점 형성 바이러스 (SFV), 및 골수증식성 육종 바이러스 (MPSV), 및 그로부터 유래된 벡터를 포함한다. 다른 감마레트로바이러스 벡터가, 예를 들어 문헌 [Tobias Maetzig et al., "Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application" Viruses. 2011 Jun; 3(6): 677-713]에 기재되어 있다.

[0693] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 목적하는 CAR을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터는 아데노바이러스 벡터 (A5/35)이다. 또 다른 실시양태에서, CAR을 코딩하는 핵산의 발현은 트랜스포손, 예컨대 슬리핑 뷰티, 크리스퍼, CAS9, 및 아연 핑거 뉴클레아제를 사용하여 달성할 수 있다. 하기 문헌 [June et al. 2009Nature Reviews Immunology 9.10: 704-716]을 참조하고, 이는 본원에 참조로 포함된다.

[0694] 간단히 요약하면, CAR을 코딩하는 천연 또는 합성 핵산의 발현은 전형적으로 CAR 폴리펩티드 또는 그의 부분을 코딩하는 핵산을 프로모터에 작동가능하게 연결하고, 구축물을 발현 벡터 내로 혼입시킴으로써 달성된다. 벡터는 진핵세포에서의 복제 및 통합에 적합할 수 있다. 전형적인 클로닝 벡터는 전사 및 번역 종결인자, 개시 서열, 및 목적하는 핵산 서열의 발현의 조절을 위해 유용한 프로모터를 함유한다.

[0695] 본 발명의 발현 구축물은 또한 표준 유전자 전달 프로토콜을 사용한 핵산 면역화 및 유전자 요법을 위해 사용될 수 있다. 유전자 전달을 위한 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로 포함하는 미국 특허 번호 5,399,346, 5,580,859, 5,589,466을 참조한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 유전자 요법 벡터를 제공한다.

[0696] 핵산은 수많은 유형의 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 예를 들어, 핵산은 플라스미드, 파지미드, 파지 유도체, 동물 바이러스, 및 코스미드를 포함하나 이에 제한되지는 않는 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 특정한 관심 벡터는 발현 벡터, 복제 벡터, 프로브 생성 벡터, 및 서열분석 벡터를 포함한다.

[0697] 또한, 발현 벡터는 바이러스 벡터의 형태로 세포에 제공될 수 있다. 바이러스 벡터 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NY], 및 다른 바이러스학 및 분자 생물학 매뉴얼에 기재되어 있다. 벡터로서 유용한 바이러스는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 포진 바이러스, 및 렌티바이러스를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일반적으로 적합한 벡터는 적어도 1종의 유기체에서 기능적인 복제 기점, 프로모터 서열, 편리한 제한 엔도뉴클레아제 부위, 및 1개 이상의 선택 마커를 함유한다 (예를 들어, WO 01/96584; WO 01/29058; 및 미국 특허 번호 6,326,193).

[0698] 수많은 바이러스 기반 시스템이 포유동물 세포 내로의 유전자 전달을 위해 개발된 바 있다. 예를 들어, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편리한 플랫폼을 제공한다. 선택된 유전자는 벡터 내로 삽입되고 관련 기술분야에 공지된 기술을 사용하여 레트로바이러스 입자 내에 패키징될 수 있다. 이어서, 재조합 바이러스는 단리되고, 생체내에서 또는 생체외에서 대상체의 세포로 전달될 수 있다. 수많은 레트로바이러스 시스템이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다. 수많은 아데노바이러스 벡터가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 렌티바이러스 벡터가 사용된다.

[0699] 추가의 프로모터 요소, 예를 들어 인핸서는 전사 개시의 빈도를 조절한다. 전형적으로, 이들은 개시 부위의

30-110 bp 상류의 영역에 위치하지만, 수많은 프로모터는 기능적 요소를 또한 개시 부위의 하류에 함유하는 것으로 밝혀진 바 있다. 프로모터 요소 사이의 간격은 빈번하게 탄력적이어서, 프로모터 기능은 요소가 역전되거나 서로에 대해 이동할 때 보존된다. 티미딘 키나제 (tk) 프로모터에서, 프로모터 요소 사이의 간격은 활성이 감소하기 시작하기 전 50 bp까지 증가할 수 있다. 프로모터에 따라, 개별 요소는 전사를 활성화하기 위해 협동적 또는 독립적으로 기능할 수 있는 것으로 보인다.

[0700] 포유동물 T 세포에서 CAR 트랜스진을 발현할 수 있는 프로모터의 예는 EF1a 프로모터이다. 천연 EF1a 프로모터는 아미노아실 tRNA의 리보솜으로의 효소적 전달을 담당하는 신장 인자-1 복합체의 알파 서브유닛의 발현을 구동한다. EF1a 프로모터는 포유동물 발현 플라스미드에서 광범하게 사용된 바 있고, 렌티바이러스 벡터 내로 클로닝된 트랜스진으로부터 CAR 발현을 구동하는데 유효한 것으로 밝혀진 바 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 한 측면에서, EF1a 프로모터는 서열식별번호: 11로서 제공된 서열을 포함한다.

[0701] 프로모터의 또 다른 예는 극초기 시토메갈로바이러스 (CMV) 프로모터 서열이다. 이 프로모터 서열은 그에 작동 가능하게 연결된 임의의 폴리뉴클레오티드 서열의 높은 수준의 발현을 구동할 수 있는 강력한 구성적 프로모터 서열이다. 그러나, 원숭이 바이러스 40 (SV40) 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스 (MMTV), 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV) 긴 말단 반복부 (LTR) 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, 엡스타인-바르(Epstein-Barr) 바이러스 극초기 프로모터, 라우스(Rous) 육종 바이러스 프로모터, 뿐만 아니라 예컨대 비제한적으로 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 신장 인자-1α 프로모터, 헤모글로빈 프로모터, 및 크레아틴 키나제 프로모터인 인간 유전자 프로모터를 포함하나 이에 제한되지는 않는 다른 구성적 프로모터 서열이 또한 사용될 수 있다. 또한, 본 발명은 구성적 프로모터의 사용으로 제한되지 않아야 한다. 유도성 프로모터가 또한 본 발명의 일부로서 고려된다. 유도성 프로모터의 사용은 발현을 목적으로 하는 경우에 작동가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드 서열의 발현을 턴 온할 수 있거나, 또는 발현을 목적으로 하지 않는 경우에 발현을 턴 오프할 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 유도성 프로모터의 예는 메탈로티오닌 프로모터, 글루코코르티코이드 프로모터, 프로게스테론 프로모터, 및 테트라시클린 프로모터를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0702] 프로모터의 또 다른 예는 포스포글리세레이트 키나제 (PGK) 프로모터이다. 실시양태에서, 말단절단된 PGK 프로모터 (예를 들어, 야생형 PGK 프로모터 서열과 비교하여 1개 이상, 예를 들어 1, 2, 5, 10, 100, 200, 300 또는 400개의 뉴클레오티드 결실을 갖는 PGK 프로모터)가 바람직할 수 있다. 예시적인 PGK 프로모터의 뉴클레오티드 서열이 하기 제공된다.

[0703] WT PGK 프로모터

```

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCTGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAA
CGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACCTCTGCACGCCAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGC
GCTTGGCGTTCTTGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGACGCGCCCCCGGGTGTTCCTATCGCCG
CTTCTAGGCCCCACTGCGACGCTTGCTGCACTTCTTACAGCTCTGGGTCCAGCCGCGGCGACGCAAGGGC
CTTGGTGGGTCCTCGTCGGCGCAGGGACGCGTTTGGGTCCCGACGGAACCTTTCCGCGTTGGGGTTGGGC
ACCATAAGCT

```

(SEQ ID NO: 487)

[0704]

[0705] 예시적인 말단절단된 PGK 프로모터:

PGK100:

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
(SEQ ID NO: 488)

PGK200:

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTGCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAA
CG
(SEQ ID NO: 489)

PGK300:

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTGCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAA
CGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGC
GCTTGGCGTTCCTTGAAGGGCTGAATCCCCG
(SEQ ID NO: 490)

PGK400:

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTGCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAA
CGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGC
GCTTGGCGTTCCTTGAAGGGCTGAATCCCCGCTCGTCTTCGCAGCGGCCCGGGGTGTCCCATCGCCG
CTTCTAGGCCACTGCGACGCTTGCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCG
(SEQ ID NO: 491)

[0706]

[0707]

백터는 또한, 예를 들어 분비를 용이하게 하는 신호 서열, 폴리아데닐화 신호 및 전사 종결인자 (예를 들어, 소 성장 호르몬 (BGH) 유전자로부터), 에피솜 복제 및 원핵생물에서의 복제를 가능하게 하는 요소 (예를 들어 SV40 기원 및 CoIE1 또는 관련 기술분야에 공지되어 있는 다른 것) 및/또는 선택을 가능하게 하는 요소 (예를 들어, 암피실린 저항성 유전자 및/또는 제오신 마커)를 포함할 수 있다.

[0708]

CAR 폴리펩티드 또는 그의 부분의 발현을 평가하기 위해, 세포 내로 도입되는 발현 백터는 또한 바이러스 백터를 통해 형질감염되거나 감염될 것이 모색되는 세포의 집단으로부터 발현 세포의 확인 및 선택을 용이하게 하기 위한 선택 마커 유전자 또는 리포터 유전자 또는 둘 다를 함유할 수 있다. 다른 측면에서, 선택 마커는 DNA의 개별 조각 상에 보유되고, 공동-형질감염 절차에 사용될 수 있다. 선택 마커 및 리포터 유전자 둘 다는 숙주 세포에서 발현이 가능하도록 하는 적절한 조절 서열과 플랜킹될 수 있다. 유용한 선택 마커는 예를 들어 항생제-저항성 유전자, 예컨대 neo 등을 포함한다.

[0709]

리포터 유전자는 잠재적으로 형질감염된 세포를 확인하고 조절 서열의 기능성을 평가하기 위해 사용된다. 일반적으로 리포터 유전자는, 수용자 유기체 또는 조직에 존재하지 않거나 그에 의해 발현되지 않고, 그의 발현이 일부 용이하게 검출가능한 특성, 예를 들어 효소적 활성에 의해 표시되는 폴리펩티드를 코딩하는 유전자이다. 리포터 유전자의 발현은 DNA가 수용자 세포 내로 도입된 후 적합한 시간에 검정된다. 적합한 리포터 유전자는 루시페라제, 베타-갈락토시다제, 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제, 분비된 알칼리성 포스파타제를 코딩하는 유전자, 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Ui-Tei et al., 2000 FEBS Letters 479: 79-82]). 적합한 발현 시스템은 널리 공지되어 있고, 공지된 기술을 사용하여 제조하거나 상업적으로 입수할 수 있다. 일반적으로, 리포터 유전자의 최고 수준의 발현을 보이는, 최소 5' 플랜킹 영역을 갖는 구축물은 프로모터로서 확인된다. 이러한 프로모터 영역은 리포터 유전자에 연결되고, 프로모터-구동 전사를 조정하는 능력에 대해 작용제를 평가하는데 사용될 수 있다.

[0710]

한 실시양태에서, 백터는 제2 CAR을 코딩하는 핵산을 추가로 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 CAR은 급성 골수성 백혈병 세포 상에서 발현되는 표적, 예컨대 예를 들어, CD123, CD33, CD34, FLT3 또는 플레이트 수용체 베타에 대한 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 백터는 제1 항원에 특이적으로 결합하고 공동 자극 신호전달 도메인을 갖지만 1차 신호전달 도메인은 갖지 않는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 CAR을 코딩하는 핵산 서열, 및 제2의, 상이한 항원에 특이적으로 결합하고 1차 신호전달 도메인을 갖지만 공동 자극 신호전달 도메인은 갖지 않는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 코딩하는 핵산을 포함한다. 한 실

시양태에서, 벡터는 CLL-1 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 공동자극 도메인을 포함하는 제1 CLL-1 CAR을 코딩하는 핵산 및 CLL-1 이외의 항원 (예를 들어, AML 세포 상에서 발현된 항원, 예를 들어 CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타)에 특이적으로 결합하고 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 코딩하는 핵산을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 벡터는 CLL-1 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함하는 제1 CLL-1 CAR을 코딩하는 핵산 및 CLL-1 이외의 항원 (예를 들어, AML 세포 상에서 발현된 항원, 예를 들어, CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타)에 특이적으로 결합하고 항원에 대한 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 코딩하는 핵산을 포함한다.

[0711] 한 실시양태에서, 벡터는 본원에 기재된 CLL-1 CAR을 코딩하는 핵산 및 억제 CAR을 코딩하는 핵산을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 CAR은, 암 세포에서는 발견되지 않지만 정상 세포, 예를 들어 CLL을 또한 발현하는 정상 세포에서 발견되는 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 CAR은 억제 분자의 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 세포내 도메인을 포함한다. 예를 들어, 억제 CAR의 세포내 도메인은 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타의 세포내 도메인일 수 있다.

[0712] 실시양태에서, 벡터는 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 CLL-1 CAR 및 제2 CAR, 예를 들어 억제 CAR 또는 CLL-1 이외의 항원 (예를 들어, AML 세포 상에서 발현된 항원, 예를 들어 CD123, CD33, CD34, FLT3, 또는 플레이트 수용체 베타)에 특이적으로 결합하는 CAR을 코딩하는 2개 이상의 핵산 서열을 포함할 수 있다. 이러한 실시양태에서, CAR을 코딩하는 2개 이상의 핵산 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 채로서 단일 핵산 분자에 의해 코딩된다. 이러한 측면에서, 2개 이상의 CAR은, 예를 들어 1개 이상의 펩티드 절단 부위 (예를 들어, 세포내 프로테아제에 대한 자가-절단 부위 또는 기질)에 의해 분리될 수 있다. 펩티드 절단 부위의 예는 하기를 포함하며, 여기서 GSG 잔기는 임의적이다:

T2A: (GSG) E G R G S L L T C G D V E E N P G P (SEQ ID NO: 492)

P2A: (GSG) A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (SEQ ID NO: 493)

E2A: (GSG) Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO: 494)

F2A: (GSG) V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO: 495)

[0713]

[0714] 유전자를 세포 내로 도입하고 발현시키는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 발현 벡터와 관련하여, 벡터는 관련 기술분야의 임의의 방법에 의해 숙주 세포, 예를 들어 포유동물, 박테리아, 효모, 또는 곤충 세포 내로 용이하게 도입될 수 있다. 예를 들어, 발현 벡터는 물리적, 화학적, 또는 생물학적 수단에 의해 숙주 세포 내로 옮겨질 수 있다.

[0715]

폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전, 리포펙션, 입자 충격, 미세주사, 전기천공 등을 포함한다. 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 생산하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1 -4, Cold Spring Harbor Press, NY]을 참조한다. 숙주 세포 내로 폴리뉴클레오티드의 도입을 위한 바람직한 방법은 인산칼슘 형질감염이다.

[0716]

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

[0717]

숙주 세포 내로 폴리뉴클레오티드를 도입하기 위한 화학적 수단은 콜로이드성 분산액 시스템, 예컨대 거대분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로구체, 비드, 및 수중유 에멀전, 미셀, 혼합된 미셀, 및 리포솜을 비롯한 지질-기반 시스템을 포함한다. 시험관내 및 생체내에서 전달 비히클로서 사용하기 위한 예시적인 콜로이드성 시스템은 리포솜 (예를 들어, 인공 막 소포)이다. 핵산의 최신 기술의 표적화된 전달, 예컨대 표적화된 나노입자 또는 다른 적합한 마이크로미터-미만 크기의 전달 시스템을 사용한 폴리뉴클레오티드의 전달을 위한 다른 방법이 이용

가능하다.

- [0718] 비-바이러스 전달 시스템이 이용되는 경우에, 예시적인 전달 비히클은 리포솜이다. 지질 제제의 사용은 숙주 세포 내로의 핵산의 도입 (시험관내, 생체외 또는 생체내)을 위해 고려된다. 또 다른 측면에서, 핵산은 지질과 회합될 수 있다. 지질과 회합된 핵산은 리포솜의 수성 내부에 캡슐화되거나, 리포솜의 지질 이중층 내에 점재되거나, 리포솜 및 올리고뉴클레오타이드 둘 다와 회합된 연결 분자를 통해 리포솜에 부착되거나, 리포솜 내에 포획되거나, 리포솜과 복합체화되거나, 지질 함유 용액 중에 분산되거나, 지질과 혼합되거나, 지질과 조합되거나, 지질 내에 현탁액으로서 함유되거나, 미셀과 함께 함유 또는 복합체화되거나, 또는 지질과 달리 회합될 수 있다. 지질, 지질/DNA 또는 지질/발현 벡터 회합 조성물은 용액 중의 임의의 특정한 구조로 제한되지 않는다. 예를 들어, 이들은 이중층 구조로, 미셀로서, 또는 "붕괴된" 구조로 존재할 수 있다. 이들은 또한 단순히 용액 중에 점재되고, 가능하게는 크기 또는 형상이 균일하지 않은 응집체를 형성할 수 있다. 지질은 자연 발생 또는 합성 지질일 수 있는 지방 물질이다. 예를 들어, 지질은 세포질에서 자연 발생하는 지방 액적, 뿐만 아니라 장쇄 지방족 탄화수소 및 그의 유도체, 예컨대 지방산, 알콜, 아민, 아미노 알콜, 및 알데히드를 함유하는 화합물의 부류를 포함한다.
- [0719] 사용하기 적합한 지질은 상업적 공급원으로부터 취득할 수 있다. 예를 들어, 디미리스틸 포스파티딜콜린 ("DMPC")은 미주리주 세인트 루이스의 시그마(Sigma)로부터 취득할 수 있고; 디세틸 포스페이트 ("DCP")는 케이 & 케이 래보러토리즈(K & K Laboratories) (뉴욕주 플레인뷰)로부터 취득할 수 있고; 콜레스테롤 ("Chol")은 칼 바이오켄-베링(Calbiochem-Behring)으로부터 취득할 수 있고; 디미리스틸 포스파티딜글리세롤 ("DMPG") 및 다른 지질은 아반티 폴라 리피즈, 인크.(Avanti Polar Lipids, Inc.) (앨라배마주 버밍엄)로부터 취득할 수 있다. 클로로포름 또는 클로로포름/메탄올 내의 지질의 원액은 약 -20℃에서 저장될 수 있다. 클로로포름이 메탄올보다 더 용이하게 증발되기 때문에, 클로로포름이 유일한 용매로서 사용된다. "리포솜"은 둘러싸는 지질 이중층 또는 응집체의 생성에 의해 형성된 다양한 단일 및 다층막 지질 비히클을 포괄하는 일반적 용어이다. 리포솜은 인지질 이중층 막 및 내부 수성 매질을 갖는 소포 구조를 갖는 것을 특징으로 할 수 있다. 다층 리포솜은 수성 매질에 의해 분리된 다층 지질 층을 갖는다. 이들은 인지질이 과량의 수용액 중에 현탁될 경우에 자발적으로 형성된다. 지질 성분은 폐쇄된 구조의 형성 전에 자기-재배열을 거치고, 물 및 지질 이중층들 사이의 용해된 용질을 포획한다 (Ghosh et al., 1991 Glycobiology 5: 505-10). 그러나, 정상 소포 구조가 아니라 용액 중에서 상이한 구조를 갖는 조성물도 포괄된다. 예를 들어, 지질은 미셀 구조를 가정할 수 있거나 또는 단지 지질 분자의 불균일 응집체로서 존재할 수 있다. 또한, 리포펙타민-핵산 복합체가 고려된다.
- [0720] 외인성 핵산을 숙주 세포 내로 도입하거나 또는 달리 세포를 본 발명의 억제제에 노출시키기 위해 사용된 방법과 상관없이, 숙주 세포에서 재조합 DNA 서열의 존재를 확인하기 위해 다양한 검정을 수행할 수 있다. 이러한 검정은, 예를 들어 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 "분자 생물학적" 검정, 예컨대 서던 및 노던 블롯팅, RT-PCR 및 PCR; 예를 들어 면역학적 수단 (ELISA 및 웨스턴 블롯)에 의해 또는 본 발명의 범주 내에 포함되는 작용제를 확인하기 위해 본원에 기재된 검정에 의해, 예컨대 특정한 펩티드의 존재 또는 부재를 검출하는 "생화학적" 검정을 포함한다.
- [0721] 본 발명은 CAR 코딩 핵산 분자를 포함하는 벡터를 추가로 제공한다. 한 측면에서, CAR 벡터는 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포 내로 직접 형질도입될 수 있다. 한 측면에서, 벡터는 클로닝 또는 발현 벡터, 예를 들어 1종 이상의 플라스미드 (예를 들어, 발현 플라스미드, 클로닝 벡터, 미니서클, 미니벡터, 이중 미세 염색체), 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 구축물을 포함하나 이에 제한되지는 않는 벡터이다. 한 측면에서, 벡터는 포유동물 T 세포에서 CAR 구축물을 발현할 수 있다. 한 측면에서, 포유동물 T 세포는 인간 T 세포이다.
- [0722] 세포의 공급원
- [0723] 확장 및 유전적 변형 전에, 세포 (예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)의 공급원을 대량체로부터 취득한다. 용어 "대상체"는 면역 반응이 도출될 수 있는 살아있는 유기체 (예를 들어, 포유동물)를 포함하는 것으로 의도된다. 대상체의 예는 인간, 개, 고양이, 마우스, 래트, 및 그의 트랜스제닉 종을 포함한다. T 세포는 말초 혈액 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉막 삼출, 비장 조직, 및 종양을 비롯한 수많은 공급원으로부터 취득될 수 있다.
- [0724] 본 발명의 특정 측면에서, 관련 기술분야에서 입수가 가능한 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)주의 임의의 수가 사용될 수 있다. 본 발명의 특정 측면에서, T 세포는 통상의 기술자에게 공지된 임의의 많은 기술, 예컨대 피콜(Ficoll)TM 분리를 사용하여 대상체로부터 수집된 혈액 단위로부터 취득될 수 있다. 하나의

바람직한 측면에서, 개체의 순환 혈액으로부터의 세포는 분리반출술에 의해 수득된다. 분리반출술 생성물은 전형적으로 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포를 비롯한 림프구, 다른 유핵 백혈구, 적혈구, 및 혈소판을 함유한다. 한 측면에서, 분리반출술에 의해 수집된 세포는 혈장 분획을 제거하고 세포를 후속 프로세싱 단계를 위해 적절한 완충제 또는 배지에 두기 위해 세척될 수 있다. 본 발명의 한 측면에서, 세포를 포스페이트 완충 염수(PBS)로 세척한다. 대안적 측면에서, 세척 용액은 칼슘이 결여되어 있고, 마그네슘이 결여될 수 있거나 또는 모두는 아니지만 많은 2가 양이온이 결여될 수 있다.

[0725] 칼슘의 부재 하에 초기 활성화 단계는 확대된 활성화로 이어질 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 명백한 바와 같이, 세척 단계는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 의해, 예컨대 반-자동화 "관통형" 원심분리기 (예를 들어, 코브(Cobe) 2991 셀 프로세서, 박스터 시토메이트(Baxter CytoMate), 또는 해모네틱스 셀 세이버 5(Haemonetics Cell Saver 5))를 제조업체의 지침에 따라 사용하는 것에 의해 달성할 수 있다. 세척 후에, 세포를 다양한 생체적합성 완충제, 예컨대 Ca-무함유, Mg-무함유 PBS, 플라스마라이트 A(PlasmaLyte A), 또는 완충제 존재 또는 부재 하의 다른 염수 용액 중에 재현탁시킬 수 있다. 대안적으로, 분리반출술 샘플의 바람직하지 않은 성분을 제거하고, 세포를 배양 배지 내에 직접 재현탁시킬 수 있다.

[0726] 본 출원의 방법은 5% 이하, 예를 들어 2%의 인간 AB 혈청을 포함하는 배양 배지 조건을 이용할 수 있고, 공지된 배양 배지 조건 및 조성, 예를 들어 문헌 [Smith et al., "Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement" Clinical & Translational Immunology (2015) 4, e31; doi:10.1038/cti.2014.31]에 기재된 것을 사용할 수 있는 것으로 인식된다.

[0727] 한 측면에서, T 세포는 적혈구를 용해시키고, 예를 들어 퍼콜(PERCOLL)TM 구배를 통한 원심분리에 의해 또는 역류 원심 분리에 의해 단핵구를 고갈시킴으로써 말초 혈액 림프구로부터 단리된다.

[0728] T 세포의 특정 하위집단, 예컨대 CD3+, CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및 CD45RO+ T 세포는 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 추가로 단리될 수 있다. 예를 들어, 한 측면에서, T 세포는 항-CD3/항-CD28 (예를 들어, 3x28)-접합된 비드, 예컨대 디나비즈(DYNABEADS)[®] M-450 CD3/CD28 T와 함께 목적하는 T 세포의 양성 선택을 위한 충분한 시간 동안 인큐베이션함으로써 단리된다. 한 측면에서, 시간은 약 30분이다. 추가 측면에서, 시간은 30분 내지 36시간 또는 그 초과 및 그 사이의 모든 정수 값의 범위이다. 추가 측면에서, 시간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6시간이다. 또 다른 바람직한 측면에서, 시간은 10 내지 24시간이다. 한 측면에서, 인큐베이션 시간은 24시간이다. 다른 세포 유형과 비교하여 T 세포가 거의 없는 임의의 상황에서, 예컨대 종양 조직으로부터 또는 면역손상 개체로부터 종양 침윤 림프구 (TIL)를 단리하는데 있어서, T 세포를 단리하기 위해 보다 긴 인큐베이션 시간이 사용될 수 있다. 또한, 보다 긴 인큐베이션 시간의 사용은 CD8+ T 세포의 포획 효율을 증가시킬 수 있다. 따라서, 단순히 시간을 단축하거나 연장함으로써 T 세포가 CD3/CD28 비드에 결합하도록 하고/거나, 비드 대 T 세포의 비를 증가시키거나 감소시킴으로써 (본원에 추가로 기재된 바와 같음), 배양 개시 시 또는 과정 동안의 다른 시점에 T 세포의 하위집단을 우선적으로 선택할 수 있다. 추가로, 비드 또는 다른 표면 상의 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체의 비를 증가시키거나 감소시킴으로써, T 세포의 하위집단은 배양 개시 시 또는 다른 목적하는 시점에 우선적으로 선택될 수 있다. 통상의 기술자는 다중 선택 라운드가 또한 본 발명과 관련하여 사용될 수 있음을 인식할 것이다. 특정 측면에서, 활성화 및 확장 과정에서 선택 절차를 수행하고 "비선택된" 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. "비선택된" 세포는 또한 추가 라운드의 선택에 적용될 수 있다.

[0729] 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 풍부화는 음성 선택된 세포에 고유한 표면 마커에 대해 지시된 항체의 조합을 사용하여 달성될 수 있다. 1가지 방법은 음성 선택된 세포 상에 제시된 세포 표면 마커에 대해 지시된 모노클로날 항체의 각테일을 사용하는 음성 자기 면역부착 또는 유동 세포측정법을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 풍부화하기 위해, 모노클로날 항체 각테일은 전형적으로 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 특정 측면에서, 전형적으로 CD4+, CD25+, CD62Lhi, GITR+, 및 FoxP3+를 발현하는 조절 T 세포를 풍부화하거나 또는 양성 선택하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로, 특정 측면에서, T 조절 세포는 항-CD25 접합된 비드 또는 다른 유사한 선택 방법에 의해 고갈된다.

[0730] 본원에 기재된 방법은, 예를 들어 본원에 기재된 예를 들어 음성 선택 기술을 사용하여, 예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 특정 하위집단, T 조절 세포-고갈 집단, CD25+ 고갈 세포의 선택을 포함할 수 있다. 바람직하게는, T 조절 고갈 세포의 집단은 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 미만의 CD25+ 세포를 함유한다.

[0731] 한 실시양태에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포는 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간

드, IL-2를 사용하여 집단으로부터 제거된다. 한 실시양태에서, 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드는 기질, 예를 들어 비드에 접합되거나, 또는 달리 기질, 예를 들어 비드 상에 코팅된다. 한 실시양태에서, 항-CD25 항체 또는 그의 단편은 본원에 기재된 바와 같은 기질에 접합된다.

[0732] 한 실시양태에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포는 밀테니(Miltenyi)TM로부터의 CD25 고갈 시약을 사용하여 집단으로부터 제거된다. 한 실시양태에서, 세포 대 CD25 고갈 시약의 비는 1e7개 세포 대 20 uL, 또는 1e7개 세포 대 15 uL, 또는 1e7개 세포 대 10 uL, 또는 1e7개 세포 대 5 uL, 또는 1e7개 세포 대 2.5 uL, 또는 1e7개 세포 대 1.25 uL이다. 한 실시양태에서, 예를 들어 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 고갈을 위해, 5억개 초과인 세포/ml가 사용된다. 추가 측면에서, 6억, 7억, 8억, 또는 9억개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다.

[0733] 한 실시양태에서, 고갈될 면역 이펙터 세포의 집단은 약 6×10^9 개의 CD25+ T 세포를 포함한다. 다른 측면에서, 고갈될 면역 이펙터 세포의 집단은 약 1×10^9 개 내지 1×10^{10} 개의 CD25+ T 세포, 및 그 사이의 임의의 정수 값을 포함한다. 한 실시양태에서, T 조절 고갈 세포의 생성된 집단은 2×10^9 개의 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포, 또는 그 미만 (예를 들어, 1×10^9 개, 5×10^8 개, 1×10^8 개, 5×10^7 개, 1×10^7 개, 또는 그 미만의 CD25+ 세포)을 갖는다.

[0734] 한 실시양태에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포는 고갈 튜빙 세트, 예컨대 예를 들어 튜빙 162-01이 구비된 클리니맥(CliniMAC) 시스템을 사용하여 집단으로부터 제거된다. 한 실시양태에서, 클리니맥 시스템은 고갈 설정, 예컨대 예를 들어, DEPLETION2.1로 가동된다.

[0735] 특정한 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 분리반출술 전 또는 CAR-발현 세포 생성물의 제조 동안 대상체에서 면역 세포의 음성 조절자의 수준을 감소시키는 것 (예를 들어, 원치않는 면역 세포, 예를 들어 T_{REG} 세포의 수를 감소시키는 것)은 대상체의 재발 위험을 감소시킬 수 있다. 예를 들어, T_{REG} 세포를 고갈시키는 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다. T_{REG} 세포를 감소시키는 방법은 시클로포스파미드, 항-GITR 항체 (본원에 기재된 항-GITR 항체), CD25-고갈 및 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0736] 일부 실시양태에서, 제조 방법은 CAR-발현 세포의 제조 전에 T_{REG} 세포의 수를 감소시키는 것 (예를 들어, 고갈시키는 것)을 포함한다. 예를 들어, 제조 방법은, 예를 들어 CAR-발현 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포) 생성물의 제조 전에 T_{REG} 세포를 고갈시키기 위해 샘플, 예를 들어 분리반출술 샘플을 항-GITR 항체 및/또는 항-CD25 항체 (또는 그의 단편 또는 CD25-결합 리간드)와 접촉시키는 것을 포함한다.

[0737] 한 실시양태에서, 대상체는 CAR-발현 세포 생성물 제조를 위한 세포의 수집 전에 T_{REG} 세포를 감소시키는 1종 이상의 요법으로 사전-처리되고, 그에 의해 CAR-발현 세포 처리에 대한 대상체의 재발 위험이 감소된다. 한 실시양태에서, T_{REG} 세포를 감소시키는 방법은 대상체에게 시클로포스파미드, 항-GITR 항체 중 1종 이상의 투여, CD25-고갈, 또는 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 시클로포스파미드, 항-GITR 항체 중 1종 이상의 투여, CD25-고갈, 또는 그의 조합은 CAR-발현 세포 생성물의 주입 전, 그 동안 또는 그 후에 일어날 수 있다.

[0738] 한 실시양태에서, 대상체는 CAR-발현 세포 생성물 제조를 위한 세포의 수집 전에 시클로포스파미드로 사전-처리되고, 그에 의해 CAR-발현 세포 처리에 대한 대상체의 재발 위험이 감소된다. 한 실시양태에서, 대상체는 CAR-발현 세포 생성물 제조를 위한 세포의 수집 전에 항-GITR 항체로 사전-처리되고, 그에 의해 CAR-발현 세포 처리에 대한 대상체의 재발 위험이 감소된다.

[0739] 한 실시양태에서, 제거될 세포의 집단은 조절 T 세포도 또는 종양 세포도 아니지만, CART 세포의 확장 및/또는 기능에 달리 음의 영향을 미치는 세포, 예를 들어 CD14, CD11b, CD33, CD15, 또는 잠재적으로 면역 억제 세포에 의해 발현되는 다른 마커를 발현하는 세포이다. 한 실시양태에서, 이러한 세포는 조절 T 세포 및/또는 종양 세포와 공동으로, 또는 상기 고갈 후에, 또는 또 다른 순서로 제거되는 것이 고려된다.

[0740] 본원에 기재된 방법은 1개 초과인 선택 단계, 예를 들어 1개 초과인 고갈 단계를 포함할 수 있다. 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 풍부화는, 예를 들어 음성 선택된 세포에 고유한 표면 마커로 지시되는 항체의 조합에 의해 달성될 수 있다. 1가지 방법은 음성 선택된 세포의 표면 상에 존재하는 세포 표면 마커로 지시되는 모노클로날 항체의 각테일을 사용하는 음성 자기 면역부착 또는 유동 세포측정법을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 풍부화하기 위해, 모노클로날 항체 각테일은 CD14, CD20, CD11b, CD16,

HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함할 수 있다.

- [0741] 본원에 기재된 방법은 종양 항원, 예를 들어 CD25를 포함하지 않는 종양 항원, 예를 들어 CD19, CD30, CD38, CD123, CD20, CD14 또는 CD11b를 발현하는 집단으로부터 세포를 제거하여 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 CAR의 발현에 적합한 T 조절 고갈, 예를 들어 CD25+ 고갈 및 종양 항원 고갈 세포의 집단을 제공하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 종양 항원 발현 세포는 T 조절, 예를 들어 CD25+ 세포와 동시에 제거된다. 예를 들어, 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 및 항종양 항원 항체 또는 그의 단편은 세포를 제거하는데 사용될 수 있는 동일한 기질, 예를 들어 비드에 부착될 수 있거나, 또는 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 항종양 항원 항체 또는 그의 단편은 세포를 제거하는데 사용될 수 있는 혼합물인 개별 비드에 부착될 수 있다. 다른 실시양태에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포의 제거 및 종양 항원 발현 세포의 제거는 순차적이고, 예를 들어 어느 하나의 순서로 일어날 수 있다.
- [0742] 또한, 체크 포인트 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 체크 포인트 억제제를 발현하는 집단으로부터 세포, 예를 들어 PD1+ 세포, LAG3+ 세포, 및 TIM3+ 세포 중 1종 이상을 제거하여, T 조절 고갈, 예를 들어 CD25+ 고갈 세포 및 체크 포인트 억제제 고갈 세포, 예를 들어 PD1+, LAG3+ 및/또는 TIM3+ 고갈 세포의 집단을 제공하는 것을 포함하는 방법이 제공된다. 예시적인 체크 포인트 억제제는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGF β 베타를 포함한다. 한 실시양태에서, 체크 포인트 억제제 발현 세포는 T 조절, 예를 들어 CD25+ 세포와 동시에 제거된다. 예를 들어, 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 및 항-체크 포인트 억제제 항체 또는 그의 단편은 세포를 제거하는데 사용될 수 있는 동일한 비드에 부착될 수 있거나, 또는 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 항-체크 포인트 억제제 항체 또는 그의 단편은 세포를 제거하는데 사용될 수 있는 혼합물인 개별 비드에 부착될 수 있다. 다른 실시양태에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포의 제거 및 체크 포인트 억제제 발현 세포의 제거는 순차적이고, 예를 들어 어느 하나의 순서로 일어날 수 있다.
- [0743] 한 실시양태에서, IFN- γ , TNF α , IL-17A, IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, IL-10, IL-13, 그랜자임 B 및 퍼포린, 또는 다른 적절한 분자, 예를 들어 다른 시토카인 중 1종 이상을 발현하는 T 세포 집단이 선택될 수 있다. 세포 발현에 대해 스크리닝하는 방법은 예를 들어 PCT 공개 번호 WO 2013/126712에 기재된 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0744] 양성 또는 음성 선택에 의한 세포의 목적하는 집단의 단리를 위해, 세포의 농도 및 표면 (예를 들어, 입자, 예컨대 비드)은 변할 수 있다. 특정 측면에서, 세포 및 비드의 최대 접촉을 보장하기 위해 비드 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는 (예를 들어, 세포의 농도를 증가시키는) 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 한 측면에서, 20억개/ml의 농도가 사용된다. 한 측면에서, 10억개 세포/ml의 농도가 사용된다. 추가 측면에서, 1억개 초과/ml가 사용된다. 추가 측면에서, 1천만, 1천5백만, 2천만, 2천5백만, 3천만, 3천5백만, 4천만, 4천5백만, 또는 5천만개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 한 측면에서, 7천5백만, 8천만, 8천5백만, 9천만, 9천5백만, 또는 1억개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가 측면에서, 1억2천5백만 또는 1억3천만개 세포/ml의 농도가 사용될 수 있다.
- [0745] 높은 농도의 사용은 증가된 세포 수율, 세포 활성화, 및 세포 확장을 발생시킬 수 있다. 또한, 높은 세포 농도의 사용은 관심 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포, 예컨대 CD28-음성 T 세포의, 또는 많은 종양 세포가 존재하는 샘플 (예를 들어, 백혈병성 혈액, 종양 조직 등)로부터의 보다 효율적인 포획을 가능하게 한다. 이러한 세포의 집단은 치료 가치를 가질 수 있고, 수득하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들어 높은 농도의 세포를 사용하는 것은, 정상적으로는 보다 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포의 보다 효율적인 선택을 가능하게 한다.
- [0746] 관련 측면에서, 보다 낮은 농도의 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. T 세포 및 표면 (예를 들어, 입자, 예컨대 비드)의 혼합물을 유의하게 희석시킴으로써, 입자와 세포 사이에 상호작용이 최소화된다. 이것은 입자에 결합되는 다량의 목적하는 항원을 발현하는 세포를 선택한다. 예를 들어, CD4+ T 세포는 보다 높은 수준의 CD28을 발현하고, 희석 농도에서 CD8+ T 세포보다 더 효율적으로 포획된다. 한 측면에서, 사용된 세포의 농도는 5×10^6 개/ml이다. 다른 측면에서, 사용된 농도는 약 1×10^5 개/ml 내지 1×10^6 개/ml, 및 그 사이의 임의의 정수 값일 수 있다.
- [0747] 다른 측면에서, 세포를 2-10°C 또는 실온에서 상이한 속도로 상이한 시간 길이 동안 회전장치 상에서 인큐베이션할 수 있다.

- [0748] 자극을 위한 T 세포는 또한 세척 단계 후에 동결될 수 있다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 동결 및 후속 해동 단계는 세포 집단에서 과립구 및 어느 정도의 단핵구를 제거함으로써 보다 균일한 생성물을 제공한다. 혈장 및 혈소판을 제거하는 세척 단계 후에, 세포는 동결 용액 중에 현탁될 수 있다. 많은 동결 용액 및 파라미터가 관련 기술분야에 공지되어 있고 이러한 맥락에서 유용할 것이지만, 한 방법은 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민을 함유하는 PBS, 또는 10% 텍스트란 40 및 5% 텍스트로스, 20% 인간 혈청 알부민 및 7.5% DMSO, 또는 31.25% 플라스마라이트-A, 31.25% 텍스트로스 5%, 0.45% NaCl, 10% 텍스트란 40 및 5% 텍스트로스, 20% 인간 혈청 알부민, 및 7.5% DMSO, 또는 예를 들어, 헤스판(Hespan) 및 플라스마라이트 A를 함유하는 다른 적합한 세포 동결 매질을 함유하는 배양 배지를 사용하는 것을 수반하고, 세포는 이어서 1분에 1℃의 속도로 -80℃로 동결되고, 액체 질소 저장 탱크의 증기 상에 저장된다. 다른 제어 동결 방법 뿐만 아니라 -20℃에서의 또는 액체 질소 내의 즉각적인 비제어 동결이 사용될 수 있다.
- [0749] 특정 측면에서, 동결보존된 세포는 본원에 기재된 바와 같이 해동 및 세척되고, 1시간 동안 실온에서 휴지되도록 한 후, 본 발명의 방법을 사용하여 활성화된다.
- [0750] 또한, 본 발명과 관련하여 본원에 기재된 바와 같은 확장된 세포가 필요할 수 있을 때 그 전의 일정 기간에 대상체로부터 혈액 샘플 또는 분리반출술 생성물을 수집하는 것이 고려된다. 따라서, 확장시킬 세포의 공급원은 필요한 임의의 시점에 수집될 수 있고, 목적하는 세포, 예컨대 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포가 분리되고, 세포 요법, 예를 들어 T 세포 요법으로부터 이익을 얻을 임의의 수많은 질환 또는 상태, 예컨대 본원에 기재된 것에 대한 세포 요법, 예를 들어 T 세포 요법에 추후 사용하기 위해 동결될 수 있다. 한 측면에서, 혈액 샘플 또는 분리반출술은 일반적으로 건강한 대상체로부터 채취된다. 특정 측면에서, 혈액 샘플 또는 분리반출술은 질환이 발생할 위험이 있지만 아직 질환이 발생하지 않은 일반적으로 건강한 대상체로부터 채취되고, 관심 세포가 분리되고, 추후 사용을 위해 동결된다. 특정 측면에서, 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포는 확장, 동결되고, 나중에 사용될 수 있다. 특정 측면에서, 샘플은 본원에 기재된 바와 같은 특정한 질환의 진단 직후에, 그러나 임의의 치료 전에 환자로부터 수집된다. 추가 측면에서, 세포는 나탈리주맵, 에팔리주맵, 항바이러스제, 화학요법, 방사선, 면역억제제, 예컨대 시클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 미코페놀레이트, 및 FK506, 항체, 또는 다른 면역절제제, 예컨대 캄파트, 항-CD3 항체, 시톡산, 플루다라빈, 시클로스포린, FK506, 라파마이신, 미코페놀산, 스테로이드, FR901228과 같은 작용제, 및 방사선조사를 사용하는 치료를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 수많은 관련 치료 양식 전에 대상체로부터의 혈액 샘플 또는 분리반출술로부터 분리된다.
- [0751] 본 발명의 추가 측면에서, T 세포는 기능적 T 세포를 사용한 대상체의 치료 후에 환자로부터 직접 수득된다. 이와 관련하여, 특정 암 치료, 특히 면역계를 손상시키는 약물을 사용한 치료 후, 환자가 치료로부터 정상적으로 회복되는 기간 동안의 치료 직후에, 수득된 T 세포의 품질은 생체외에서 확장되는 그의 능력이 최적화되거나 개선될 수 있는 것으로 관찰되었다. 마찬가지로, 본원에 기재된 방법을 사용한 생체의 조작 후에, 이들 세포는 증진된 생착 및 생체내 확장을 위한 바람직한 상태로 존재할 수 있다. 따라서, 이러한 회복기 동안 T 세포, 수지상 세포, 또는 조혈 계열의 다른 세포를 포함하는 혈액 세포를 수집하는 것이 본 발명의 문맥 내에서 고려된다. 추가로, 특정 측면에서, 특히 요법 후의 규정된 시간 윈도우 동안 특정한 세포 유형의 재증식, 재순환, 재생, 및/또는 확장이 유리한 조건을 대상체에서 생성하기 위해 가동화 (예를 들어, GM-CSF를 사용한 가동화) 및 조건화 요법이 사용될 수 있다. 예시적인 세포 유형은 T 세포, B 세포, 수지상 세포, 및 면역계의 다른 세포를 포함한다.
- [0752] 한 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 면역 이펙터 세포는 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제를 제공받은 대상체로부터 수득된다. 한 실시양태에서, CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포의 집단, 예를 들어 T 세포는 대상체 내의 또는 대상체로부터 수거된 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수준, 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/ PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비가 적어도 일시적으로 증가되도록 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 충분한 시간 후에 또는 충분한 투여 후에 수거된다.
- [0753] 다른 실시양태에서, CAR을 발현하도록 조작되었거나 또는 조작된 면역 이펙터 세포의 집단, 예를 들어 T 세포는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수를 증가시키거나 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/ PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비를 증가시키는 mTOR 억제제의 양과의 접촉에 의해 생체외에서 처리될 수 있다.
- [0754] 한 실시양태에서, T 세포 집단은 디아글리세롤 키나제 (DGK)-결핍이다. DGK-결핍 세포는 DGK RNA 또는 단백질

을 발현하지 않거나 또는 감소 또는 억제된 DGK 활성을 갖는 세포를 포함한다. DGK-결핍 세포는 유전적 접근법에 의해, 예를 들어 RNA-간섭제, 예를 들어 siRNA, shRNA, miRNA를 투여하여 DGK 발현을 감소 또는 방지하는 것에 의해 생성될 수 있다. 대안적으로, DGK-결핍 세포는 본원에 기재된 DGK 억제제를 사용한 처리에 의해 생성될 수 있다.

[0755] 한 실시양태에서, T 세포 집단은 이카로스(Ikaros)-결핍이다. 이카로스-결핍 세포는 이카로스 RNA 또는 단백질을 발현하지 않거나 또는 감소 또는 억제된 이카로스 활성을 갖는 세포를 포함하고, 이카로스-결핍 세포는 유전적 접근법에 의해, 예를 들어 RNA-간섭제, 예를 들어 siRNA, shRNA, miRNA를 투여하여 이카로스 발현을 감소 또는 방지하는 것에 의해 생성될 수 있다. 대안적으로, 이카로스-결핍 세포는 이카로스 억제제, 예를 들어 레날리도미드를 사용한 처리에 의해 생성될 수 있다.

[0756] 실시양태에서, T 세포 집단은 DGK-결핍 및 이카로스-결핍이고, 예를 들어 DGK 및 이카로스를 발현하지 않거나 또는 감소 또는 억제된 DGK 및 이카로스 활성을 갖는다. 이러한 DGK 및 이카로스-결핍 세포는 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 생성될 수 있다.

[0757] 한 실시양태에서, NK 세포는 대상체로부터 획득된다. 또 다른 실시양태에서, NK 세포는 NK 세포주, 예를 들어 NK-92 세포주 (콘퀘스트(Conkwest))이다.

[0758] 동종 CAR

[0759] 본원에 기재된 실시양태에서, 면역 이펙터 세포는 동종 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포일 수 있다. 예를 들어, 세포는 동종 T 세포, 예를 들어 기능적 T 세포 수용체 (TCR) 및/또는 인간 백혈구 항원 (HLA), 예를 들어, HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II의 발현이 결여된 동종 T 세포일 수 있다.

[0760] 기능적 TCR이 결여된 T 세포는 예를 들어 그의 표면 상에 임의의 기능적 TCR을 발현하지 않도록 조작되거나, 기능적 TCR을 포함하는 1개 이상의 서브유닛을 발현하지 않도록 조작되거나 (예를 들어, TCR 알파, TCR 베타, TCR 감마, TCR 델타, TCR 엡실론, 또는 TCR 제타를 발현하지 않도록 (또는 감소된 발현을 나타내도록) 조작되거나), 또는 그의 표면 상에 매우 적은 기능적 TCR을 생산하도록 조작될 수 있다. 대안적으로, T 세포는 예를 들어 TCR의 서브유닛 중 1개 이상의 돌연변이된 또는 말단절단된 형태의 발현에 의해 실질적으로 손상된 TCR을 발현할 수 있다. 용어 "실질적으로 손상된 TCR"은 이러한 TCR이 숙주에서 유해한 면역 반응을 도출하지 않을 것임을 의미한다.

[0761] 본원에 기재된 T 세포는 예를 들어 그의 표면 상에 기능적 HLA를 발현하지 않도록 조작될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 T 세포는 세포 표면 발현 HLA, 예를 들어, HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II가 하향조절되도록 조작될 수 있다. 일부 측면에서, HLA의 하향조절은 베타-2 마이크로글로불린 (B2M)의 발현을 감소시키거나 제거하는 것에 의해 달성될 수 있다.

[0762] 일부 실시양태에서, T 세포는 기능적 TCR 및 기능적 HLA, 예를 들어 HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II가 결여될 수 있다.

[0763] 기능적 TCR 및/또는 HLA의 발현이 결여된 변형된 T 세포는 TCR 또는 HLA의 1개 이상의 서브유닛의 녹아웃 또는 녹다운을 비롯한 임의의 적합한 수단에 의해 획득될 수 있다. 예를 들어, T 세포는 siRNA, shRNA, 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부 (CRISPR) 전사-활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제 (TALEN), 또는 아연 핑거 엔도뉴클레아제 (ZFN)를 사용한 TCR 및/또는 HLA의 녹다운을 포함할 수 있다.

[0764] 일부 실시양태에서, 동종 세포는 억제 분자를 발현하지 않거나 낮은 수준으로 발현하는 세포, 예를 들어 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 조작된 세포일 수 있다. 예를 들어, 세포는 예를 들어 면역 이펙터 반응을 일으키는 CAR-발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있는 억제 분자를 발현하지 않거나 낮은 수준으로 발현하는 세포일 수 있다. 억제 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 예를 들어, DNA, RNA 또는 단백질 수준에서의 억제에 의한 억제 분자의 억제는 CAR-발현 세포 성능을 최적화할 수 있다. 실시양태에서, 억제 핵산, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 예를 들어 억제 핵산, 예를 들어 dsRNA, 예를 들어 siRNA 또는 shRNA, 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부 (CRISPR), 전사-활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제 (TALEN), 또는 아연 핑거 엔도뉴클레아제 (ZFN)가 사용될 수 있다.

[0765] TCR 또는 HLA를 억제하는 siRNA 및 shRNA

- [0766] 일부 실시양태에서, TCR 발현 및/또는 HLA 발현은 세포에서 TCR 및/또는 HLA, 및/또는 본원에 기재된 억제 분자 (예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아테노신, 및 TGFR 베타)를 코딩하는 핵산을 표적화하는 siRNA 또는 shRNA를 사용하여 억제될 수 있다.
- [0767] T 세포에서 siRNA 및 shRNA의 발현은 임의의 통상적인 발현 시스템, 예를 들어 렌티바이러스 발현 시스템을 사용하여 달성될 수 있다.
- [0768] TCR의 성분의 발현을 하향조절하는 예시적인 shRNA는 예를 들어 미국 공개 번호 2012/0321667에 기재되어 있다. HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II 유전자의 발현을 하향조절하는 예시적인 siRNA 및 shRNA는 예를 들어 미국 공개 번호 US 2007/0036773에 기재되어 있다.
- [0769] TCR 또는 HLA를 억제하는 CRISPR
- [0770] 본원에 사용된 "CRISPR" 또는 "TCR 및/또는 HLA에 대한 CRISPR" 또는 "TCR 및/또는 HLA를 억제하는 CRISPR"은 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부의 세트, 또는 이러한 반복부의 세트를 포함하는 시스템을 지칭한다. 본원에 사용된 "Cas"는 CRISPR-연관 단백질을 지칭한다. "CRISPR/Cas" 시스템은 TCR 및/또는 HLA 유전자, 및/또는 본원에 기재된 억제 분자 (예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아테노신, 및 TGFR 베타)를 침묵 또는 돌연변이시키기 위해 사용될 수 있는, CRISPR 및 Cas로부터 유래된 시스템을 지칭한다.
- [0771] 자연-발생 CRISPR/Cas 시스템은 서열분석된 유박테리움 게놈의 대략 40% 및 서열분석된 고세균의 90%에서 발견된다. 문헌 [Grissa et al. (2007) BMC Bioinformatics 8: 172]. 이러한 시스템은 외래 유전 요소, 예컨대 플라스미드 및 파지에 저항성을 부여하는 원핵 면역계의 유형이고, 후천성 면역 형태를 제공한다. 문헌 [Barrangou et al. (2007) Science 315: 1709-1712; Marragini et al. (2008) Science 322: 1843-1845].
- [0772] CRISPR/Cas 시스템은 진핵생물, 예컨대 마우스 또는 영장류에서의 유전자 편집 (특정 유전자를 침묵, 증진 또는 변화시키는 것)에 사용하기 위해 변형된 바 있다. 문헌 [Wiedenheft et al. (2012) Nature 482: 331-8]. 이는 특이적으로 설계된 CRISPR 및 1개 이상의 적절한 Cas를 함유하는 플라스미드를 진핵 세포 내로 도입함으로써 달성된다.
- [0773] 때때로 CRISPR 유전자좌로 불리는 CRISPR 서열은 교대 반복부 및 스페이서를 포함한다. 자연-발생 CRISPR에서, 스페이서는 통상적으로 박테리아에 외래인 서열, 예컨대 플라스미드 또는 파지 서열을 포함하고; TCR 및/또는 HLA CRISPR/Cas 시스템에서 스페이서는 TCR 또는 HLA 유전자 서열로부터 유래된다.
- [0774] CRISPR 유전자좌로부터의 RNA는 구성적으로 발현되고, Cas 단백질에 의해 작은 RNA로 프로세싱된다. 이들은 반복부 서열과 플랭킹된 스페이서를 포함한다. RNA는 RNA 또는 DNA 수준에서 외인성 유전 요소를 침묵시키기 위해 다른 Cas 단백질을 안내한다. 문헌 [Horvath et al. (2010) Science 327: 167-170; Makarova et al. (2006) Biology Direct 1: 7]. 스페이서는 따라서 siRNA와 유사하게 RNA 분자에 대한 주형으로서 역할을 한다. 문헌 [Pennisi (2013) Science 341: 833-836].
- [0775] 이들은 많은 상이한 유형의 박테리아에서 자연 발생하기 때문에, CRISPR의 정확한 배열 및 Cas 유전자의 구조, 기능, 및 수, 및 그의 산물은 종별로 다소 상이하다. 문헌 [Haft et al. (2005) PLoS Comput. Biol. 1: e60; Kunin et al. (2007) Genome Biol. 8: R61; Mojica et al. (2005) J. Mol. Evol. 60: 174-182; Bolotin et al. (2005) Microbiol. 151: 2551-2561; Pourcel et al. (2005) Microbiol. 151: 653-663; 및 Stern et al. (2010) Trends. Genet. 28: 335-340]. 예를 들어, Cse (Cas 하위유형, 이. 콜라이) 단백질 (예를 들어, CasA)은 CRISPR RNA 전사체를 기능적 복합체인 캐스케이드를 보유하는 스페이서-반복부 단위로 프로세싱하는 캐스케이드를 형성한다. 문헌 [Brouns et al. (2008) Science 321: 960-964]. 다른 원핵생물에서, Cas6은 CRISPR 전사체를 프로세싱한다. 이. 콜라이에서의 CRISPR-기반 파지 불활성화는 캐스케이드 및 Cas3을 필요로 하지만, Cas1 또는 Cas2는 필요로 하지 않는다. 피로코쿠스 푸리오수스(Pyrococcus furiosus) 및 다른 원핵생물에서 Cmr (Cas RAMP 모듈) 단백질은 상보성 표적 RNA를 인식하고 절단하는 작은 CRISPR RNA와 기능적 복합체를 형성한다. 보다 단순한 CRISPR 시스템은 이중 나선의 각각의 나선에 대해 1개씩, 2개의 활성 절단 부위를 갖는 뉴클레아제인 단백질 Cas9에 의존한다. Cas9 및 변형된 CRISPR 유전자좌 RNA의 조합이 유전자 편집을 위

해 시스템에서 사용될 수 있다. 문헌 [Pennisi (2013) Science 341: 833-836].

- [0776] CRISPR/Cas 시스템은 따라서 TCR 및/또는 HLA 유전자의 편집 (염기쌍의 부가 또는 결실), 또는 TCR 및/또는 HLA의 발현을 감소시키는 조기 정지의 도입을 위해 사용될 수 있다. CRISPR/Cas 시스템은 대안적으로 RNA 간섭처럼 사용되고, TCR 및/또는 HLA 유전자를 가역적인 방식으로 턴 오프할 수 있다. 포유동물 세포에서, 예를 들어 RNA는 Cas 단백질을 TCR 및/또는 HLA 프로모터로 안내하여, RNA 폴리머라제를 입체적으로 차단할 수 있다.
- [0777] 관련 기술분야에 공지된, 예를 들어 미국 공개 번호 20140068797, 및 문헌 [Cong (2013) Science 339: 819-823]에 기재된 기술을 사용하여 TCR 및/또는 HLA를 억제하는 인공 CRISPR/Cas 시스템이 생성될 수 있다. 또한 TCR 및/또는 HLA를 억제하는 관련 기술분야에 공지된, 예를 들어 문헌 [Tsai (2014) Nature Biotechnol., 32:6569-576], 미국 특허 번호 8,871,445; 8,865,406; 8,795,965; 8,771,945; 및 8,697,359에 기재된 다른 인공 CRISPR/Cas 시스템이 또한 생성될 수 있다.
- [0778] TCR 및/또는 HLA를 억제하는 TALEN
- [0779] "TALEN" 또는 "HLA 및/또는 TCR에 대한 TALEN" 또는 "HLA 및/또는 TCR을 억제하는 TALEN"은 HLA 및/또는 TCR 유전자, 및/또는 본원에 기재된 억제 분자 (예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아테노신, 및 TGFR 베타)를 편집하기 위해 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제인 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제를 지칭한다.
- [0780] TALEN은 TAL 이펙터 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합시킴으로써 인공적으로 생산된다. 전사 활성화제-유사 이펙터 (TALE)는 HLA 또는 TCR 유전자의 부분을 포함하는 임의의 목적하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다. 조작된 TALE를 DNA 절단 도메인과 조합함으로써, HLA 또는 TCR 서열을 포함하는 임의의 목적하는 DNA 서열에 특이적인 제한 효소가 생산될 수 있다. 이어서, 이들은 세포 내로 도입될 수 있고, 여기서 이들은 게놈 편집을 위해 사용될 수 있다. 문헌 [Boch (2011) Nature Biotech. 29: 135-6; 및 Boch et al. (2009) Science 326: 1509-12; Moscou et al. (2009) Science 326: 3501].
- [0781] TALE는 크산토모나스(Xanthomonas) 박테리아에 의해 분비되는 단백질이다. DNA 결합 도메인은 제12 및 제13 아미노산을 제외하고, 반복된, 고도로 보존된 33-34개 아미노산 서열을 함유한다. 이들 2개의 위치는 매우 가변적이고, 이것은 특정 뉴클레오티드 인식과의 강한 상관관계를 보여준다. 따라서, 이들은 목적하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다.
- [0782] TALEN을 생산하기 위해, TALE 단백질은 야생형 또는 돌연변이된 FokI 엔도뉴클레아제인 뉴클레아제 (N)에 융합된다. TALEN에서의 사용을 위해 FokI에 대한 여러 돌연변이가 이루어진 바 있고; 이들은 예를 들어 절단 특이성 또는 활성을 개선시킨다. 문헌 [Cermak et al. (2011) Nucl. Acids Res. 39: e82; Miller et al. (2011) Nature Biotech. 29: 143-8; Hockemeyer et al. (2011) Nature Biotech. 29: 731-734; Wood et al. (2011) Science 333: 307; Doyon et al. (2010) Nature Methods 8: 74-79; Szczeppek et al. (2007) Nature Biotech. 25: 786-793; 및 Guo et al. (2010) J. Mol. Biol. 200: 96].
- [0783] FokI 도메인은 이량체로서 기능하고, 적절한 배향 및 간격으로 표적 게놈 내의 부위에 대해 특유한 DNA 결합 도메인을 갖는 2개의 구축물을 필요로 한다. TALE DNA 결합 도메인과 FokI 절단 도메인 사이의 아미노산 잔기의 수 및 2개의 개별 TALEN 결합 부위 사이의 염기의 수 둘 다는 높은 활성 수준의 달성을 위해 중요한 파라미터인 것으로 보인다. 문헌 [Miller et al. (2011) Nature Biotech. 29: 143-8].
- [0784] HLA 또는 TCR TALEN은 이중-가닥 파괴 (DSB)를 생성하기 위해 세포 내에서 사용될 수 있다. 돌연변이는 복구 메커니즘이 비-상동 말단 연결을 통해 파괴를 부적절하게 복구하는 경우에 파괴 부위에 도입될 수 있다. 예를 들어, 부적절한 복구는 프레임 시프트 돌연변이를 도입할 수 있다. 대안적으로, 외래 DNA가 TALEN과 함께 세포 내로 도입될 수 있고; 외래 DNA의 서열 및 염색체 서열에 따라, 이러한 과정은 HLA 또는 TCR 유전자 내의 결함을 교정하거나 또는 이러한 결함을 wt HLA 또는 TCR 유전자 내에 도입하여 HLA 또는 TCR의 발현을 감소시키기 위해 사용될 수 있다.
- [0785] HLA 또는 TCR 내의 서열에 특이적인 TALEN은 모듈 성분을 사용하는 다양한 방식을 비롯하여 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 구축될 수 있다. 문헌 [Zhang et al. (2011) Nature Biotech. 29: 149-53; Geibler et al. (2011) PLoS ONE 6: e19509].

- [0786] HLA 및/또는 TCR을 억제하는 아연 핑거 뉴클레아제
- [0787] "ZFN" 또는 "아연 핑거 뉴클레아제" 또는 "HLA 및/또는 TCR에 대한 ZFN" 또는 "HLA 및/또는 TCR을 억제하는 ZFN"은 HLA 및/또는 TCR 유전자, 및/또는 본원에 기재된 억제 분자 (예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타)를 편집하기 위해 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제인 아연 핑거 뉴클레아제를 지칭한다.
- [0788] TALEN처럼, ZFN은 DNA-결합 도메인에 융합된 FokI 뉴클레아제 도메인 (또는 그의 유도체)을 포함한다. ZFN의 경우에, DNA-결합 도메인은 1개 이상의 아연 핑거를 포함한다. 문헌 [Carroll et al. (2011) Genetics Society of America 188: 773-782; 및 Kim et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 1156-1160].
- [0789] 아연 핑거는 1개 이상의 아연 이온에 의해 안정화된 작은 단백질 구조 모티프이다. 아연 핑거는 예를 들어 Cys2His2를 포함할 수 있고, 대략 3-bp 서열을 인식할 수 있다. 공지된 특이성의 다양한 아연 핑거를 조합하여 약 6, 9, 12, 15 또는 18-bp 서열을 인식하는 다중-핑거 폴리펩티드를 생산할 수 있다. 파지 디스플레이, 효모 1-하이브리드 시스템, 박테리아 1-하이브리드 및 2-하이브리드 시스템, 및 포유동물 세포를 비롯하여, 특정 서열을 인식하는 아연 핑거 (및 그의 조합)를 생성하기 위한 다양한 선택 및 모듈 어셈블리 기술이 이용가능하다.
- [0790] TALEN처럼, ZFN은 DNA를 절단하기 위해 이량체화되어야 한다. 따라서, 한 쌍의 ZFN이 비-회문식 DNA 부위를 표적화하기 위해 필요하다. 2개의 개별 ZFN은 DNA의 대향하는 가닥에 결합해야 하고, 그의 뉴클레아제는 적절하게 이격된다. 문헌 [Bitinaite et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 10570-5].
- [0791] 또한, TALEN처럼, ZFN은 DNA에 이중-가닥 파괴를 생성할 수 있고, 이것은 부적절하게 복구되는 경우에 프레임-시프트 돌연변이를 생성할 수 있고, 이는 세포 내 HLA 및/또는 TCR의 발현 및 양의 감소로 이어질 수 있다. ZFN은 또한 HLA 또는 TCR 유전자를 돌연변이시키기 위해 상동 재조합과 함께 사용될 수 있다.
- [0792] HLA 및/또는 TCR 내의 서열에 특이적인 ZFN은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 구축될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Provasi (2011) Nature Med. 18: 807-815; Torikai (2013) Blood 122: 1341-1349; Cathomen et al. (2008) Mol. Ther. 16: 1200-7; Guo et al. (2010) J. Mol. Biol. 400: 96]; 미국 특허 공개 2011/0158957; 및 미국 특허 공개 2012/0060230을 참조한다.
- [0793] 텔로머라제 발현
- [0794] 어떠한 특정한 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 일부 실시양태에서, 치료 T 세포는 T 세포의 단축된 텔로미어로 인해 환자에서 단기 지속성을 갖고; 따라서, 텔로머라제 유전자에 의한 형질감염은 T 세포의 텔로미어를 늘리고 환자에서의 T 세포의 지속성을 개선시킬 수 있다. 문헌 [Carl June, "Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic", Journal of Clinical Investigation, 117:1466-1476 (2007)]을 참조한다. 따라서, 한 실시양태에서, 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포는 텔로머라제 서브유닛, 예를 들어 텔로머라제의 촉매 서브유닛, 예를 들어 TERT, 예를 들어 hTERT를 이소적으로 발현한다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포를 텔로머라제 서브유닛, 예를 들어 텔로머라제의 촉매 서브유닛, 예를 들어 TERT, 예를 들어 hTERT를 코딩하는 핵산과 접촉시키는 것을 포함하는, CAR-발현 세포를 생산하는 방법을 제공한다. 세포는 CAR을 코딩하는 구축물과의 접촉 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 핵산과 접촉될 수 있다.
- [0795] 한 측면에서, 본 개시내용은 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)의 집단을 제조하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 방법은 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)의 집단을 제공하는 단계, 면역 이펙터 세포의 집단을 CAR을 코딩하는 핵산과 접촉시키는 단계; 및 CAR 및 텔로머라제 발현을 가능하게 하는 조건 하에, 면역 이펙터 세포의 집단을 텔로머라제 서브유닛, 예를 들어 hTERT를 코딩하는 핵산과 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0796] 한 실시양태에서, 텔로머라제 서브유닛을 코딩하는 핵산은 DNA이다. 한 실시양태에서, 텔로머라제 서브유닛을 코딩하는 핵산은 텔로머라제 서브유닛의 발현을 구동시킬 수 있는 프로모터를 포함한다.
- [0797] 한 실시양태에서, hTERT는 하기와 같은, 진뱅크 단백질 ID AAC51724.1의 아미노산 서열을 갖는다 (Meyerson et al., "hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization" Cell Volume 90, Issue 4, 22 August 1997, Pages 785-795):

MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRRLGPQGWRLVQRGDPAAFRALVA
 QCLVCVPWDARPPPAAPSFQVSCLELVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGARG
 GPPEAFTTSVRSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLARCAFLVLPAPSCA
 YQVCGPPLYQLGAATQARPPPHASGPRRRLGCERAWNHSVREAGVPLGLPAPGARRR
 GGSASRSLPLPKRPRRGAAPEPERTPVGGQSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPARPAEEA
 TSLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPPSTSRPPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQL
 RPSFLLSSLRPSLTGARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNH
 AQCPYGVLLKTHCPLRAAVTPAAGVCAREKPQGSVAAPEEEDTDPRRLVQLLRQHSSP
 WQVYGFVRACLRLRLVPPGLWGSRHNERFLRNTKKFISLGKHAKLSLQELTWKMSVR
 GCAWLRRSPGVGCVPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLRSFFYVTETTFQKNRL
 FFYRKSVMWSKLQSIGIRQHLKRVQLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI
 VNMDYVVGARTFRREKRAERLTSRVKALFVNLNERARRPGLLGASVLGLDDIHRW
 RTFVLRVRAQDPPPELYFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQK
 AAHGHVRKAFKSHVSTLTDLPYMRQFVAHLQETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFD
 VFLRFMCHHAVRIRGKSYVQCQIPQGSILSTLLCSLCYGD MENKLFAGIRRDGLLLRL
 VDDELLVTPHLTHAKTFLRTLVRGVPEYGCVVNLRKTVVNFVEDEALGGTAFVQMP
 AHGLFPWCGLLLDTRTLEVQSDYSSYARTSIRASLTFNRGFKAGRNMRRKLFGLRLK
 CHSLFLDLQVNSLQTVCTNIYKILLQAYRFHACVLQLPFHQVWKNPTFFLRVISDTA
 SLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAGPLPSEAVQWLCHQAFLKLTRHRVTYVPLLGLSLR
 TAQTQLSRKLPGTTLTALEAAANPALPSDFKTILD (SEQ ID NO: 214)

[0798]

[0799]

한 실시양태에서, hTERT는 서열식별번호: 214의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다. 한 실시양태에서, hTERT는 서열식별번호: 214의 서열을 갖는다. 한 실시양태에서, hTERT는 N-말단, C-말단, 또는 둘 다에서 결실 (예를 들어, 5, 10, 15, 20, 또는 30개 이하의 아미노산)을 포함한다. 한 실시양태에서, hTERT는 N-말단, C-말단, 또는 둘 다에서 트랜스제닉 아미노산 서열 (예를 들어, 5, 10, 15, 20, 또는 30개 이하의 아미노산)을 포함한다.

[0800]

한 실시양태에서, hTERT는 진뱅크 수탁 번호 AF018167의 핵산 서열에 의해 코딩된다 (Meyerson et al., "hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization" Cell Volume 90, Issue 4, 22 August 1997, Pages 785-795):

1 caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc
 61 cgcgcgtcc ccgctgccga gccgtgcgt cctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc
 121 tggcgtcggc cagttcgtg cggcgccctgg gggccaggg ctggcgctg gtgcagcgcg
 181 gggaccggc gctttccgc gcgtggtgg ccagtgctt ggtgtgcgtg cctgggacg
 241 caggccgcc ccccgccgc cctccttc gccaggtgtc ctgctgaag gagggtgtg
 301 cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgc gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg
 361 cgctgctgga cggggccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct
 421 acctgcccc caggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttc
 481 gccgctggg cgagacgtg ctggttcacc tgcggcacg ctgcgcgtc ttgtgctgg
 541 tggctccag ctgcctac caggtgtgc gggcccgct gtaccagtc ggcgctgcca
 601 ctacggccc gcccccca cagctagt gacccgaag gcgtctgga tgcgaacggg
 661 cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga
 721 ggaggcggg gggcagtgcc agccgaagtc tggcttgc caagaggccc aggcgtggcg
 781 ctgcccctga gccggagcgg acggcgttg ggcaggggtc ctggggccac ccgggcagga
 841 cgcgtggacc gagtaccgt ggtttctgt tgggtacc tgcagacc gccgaagaag
 901 ccacctttt ggagggtgc ctcttgga cgcgccact ccacctacc gtggcgccc
 961 agcaccacg gggccccc tccatcgc gccaccacg tccctgggac acgcttgc
 1021 cccggtgta cggcgagacc aagcacttc tctactctc aggcgacaag gacagctgc
 1081 gggcctctt cctactcgc tcttgagg ccagcctgac tggcgctcg aggtcgtgg
 1141 agacctttt tctgggttc aggcctgga tgcaggagc tcccccagg ttgccccgc
 1201 tggccagcg ctactggca atgcggccc tttttctga gctgctggg aaccacgcg
 1261 agtgcccta cggggtgct ctcaagacg actgcccgt gcgagctgc gtcacccag
 1321 cagccggtgt ctgtcccg gagaagcccc agggctctgt ggcggcccc gaggaggagg
 1381 acacagacc ccgtgcctg gtgcagctgc tccgccaga cagcagccc tggcaggtgt
 1441 acggcttct gtcggcctgc ctgcggcg tgggtcccc aggcctctg ggtccaggc
 1501 acaacgaac ccgttctc aggaacacca agaagttcat ctccctggg aagcatgcca
 1561 agctctcgt gcaggagctg acgtggaaga tgcgctgcg gggctgcgt tggctgcga
 1621 ggagcccagg ggttggtgt gttccggcg cagagcacc tctcgtgag gagatcctg
 1681 ccaagtctt gcactggctg atgagtggt acgtcgtcga gctgctcagg tctttttt
 1741 atgtcacga gaccagttt caaaagaaca ggtctttt ctaccggaag agtgtctga
 1801 gcaagtga aagcattga atcagacgc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt
 1861 cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggccgc cctgctgac tccagactcc
 1921 gcttcatcc caagcctgac gggctcggc cgattgtga catggactac gtcgtgggag

[0801]

1981 ccagaacgtt ccgcagagaa aagaggccg agcgtctcac ctgagggtg aaggcactgt
 2041 tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctggcgccc tctgtgtgg
 2101 gcctggacga tatccacagg gcctggcgca cttcgtgct gcgtgtcgg gccagagacc
 2161 cggcgctga gctgtacttt gtcaagggtg atgtgacggg cgcgtacgac accatcccc
 2221 aggacaggct caggaggtc atgccagca tcatcaaac ccagaacacg tactgcgtgc
 2281 gtcggtatgc cgtggtccag aaggccccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc
 2341 acgtctctac ctgacagac ctccagcgt acatgcgaca gttcgtgct cacctgcagg
 2401 agaccagccc gctgagggtat gccgtcgtca tcgagcagag ctctccctg aatgaggcca
 2461 gcagtggcct ctgcagcgt ttctacgct tcatgtgcca ccacggcgt cgcatcaggg
 2521 gcaagtcta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggtc catctctcc agcgtgtct
 2581 gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc
 2641 tgctctcgtg ttgtgtgat gatttctgt tggtagacc tcacctacc cagcgaaaa
 2701 cttctcagc gacctgtgc cgagggtgcc ctgagtatgg ctgcgtggt aacttgcgga
 2761 agacagtggg gaactccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct ttgttcaga
 2821 tgccggccca cggcctattc ccctgtgctg gcctgctgct ggataccgg accctggagg
 2881 tgacagcga ctactccagc tatgccgga cctccatcag agccagtct acctcaacc
 2941 gcggtctcaa gctgggagg aacatgcgtc gcaactctt tgggtcttg cggctgaagt
 3001 gtcacagcct gttctggat ttgcaggta acagcctcca gacggtgtg accaacatct
 3061 acaagatcct cctgctgcag gctacagggt ttcacgcatg tgtgctgag ctccatttc
 3121 atcagcaagt ttggaagaac cccacattt tctgcgct catctctgac acggcctccc
 3181 tctgtactc catctgaaa gccaaagacg cagggatgtc gctgggggcc aaggcgccg
 3241 ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcatt ctgctcaagc
 3301 tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tctggggtc actcaggaca gccagacgc
 3361 agctgagtcg gaagctccc gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg
 3421 cactgccctc agactcaag accatcctgg actgatggc acccgccac agccaggccg
 3481 agagcagaca ccagcagccc tgtcacggc ggctctacgt ccaggggagg gagggcgccg
 3541 ccacaccag gcccgaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgttg gccgagcct
 3601 gcatgtccg ctgaaggctg agtgtccgc tgaggcctga gcgagtgtc agccaagggc
 3661 tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttact tccccagc ctggcgctc gctccacccc
 3721 agggccagct ttctctacc aggagcccg cttccactcc ccacatagga atagtccatc
 3781 ccagattcg ccattgtca cccctgccc tgcctcctt tgcctccac cccaccatc
 3841 cagggtggaga ccctgagaag gacctggga gctctggga ttggagtga ccaaagggt

[0802]

3901 gccctgtaca caggcagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg
 3961 ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagttt tcagtttga aaaaaaaaa
 4021 aaaaaaa (SEQ ID NO: 215)

[0803]

[0804] 한 실시양태에서, hTERT는 서열식별번호: 215의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 서열을 갖는 핵산에 의해 코딩된다. 한 실시양태에서, hTERT는 서열식별번호: 215의 핵산에 의해 코딩된다.

[0805]

T 세포의 활성화 및 확장

[0806]

T 세포는 일반적으로 예를 들어 미국 특허 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 6,867,041; 및 미국 특허 출원 공개 번호 20060121005에 기재된 바와 같은 방법을 사용하여 활성화 및 확장될 수 있다.

[0807]

일반적으로, 본 발명의 T 세포는 CD3/TCR 복합체 연관 신호를 자극하는 작용제 및 T 세포의 표면 상의 공동자극

분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 확장될 수 있다. 특히, T 세포 집단은 본원에 기재된 바와 같이, 예컨대 표면에 고정된 항-CD3 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CD2 항체와의 접촉에 의해, 또는 칼슘 이오노포어와 함께 단백질 키나제 C 활성화제 (예를 들어, 브리오스타틴)와의 접촉에 의해 자극될 수 있다. T 세포의 표면 상의 보조 분자의 공동-자극을 위해, 보조 분자에 결합하는 리간드가 사용된다. 예를 들어, T 세포의 집단은 T 세포의 증식을 자극하기에 적절한 조건 하에 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉될 수 있다. CD4+ T 세포 또는 CD8+ T 세포의 증식을 자극하기 위해, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체가 사용될 수 있다. 항-CD28 항체의 예는 9.3, B-T3, XR-CD28 (디아클론(Diaclone), 프랑스 브장송)을 포함하고, 관련 기술 분야에 통상적으로 공지된 다른 방법이 사용될 수 있다 (Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9):1319-1328, 1999; Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999).

[0808] 특정 측면에서, T 세포에 대한 1차 자극 신호 및 공동자극 신호는 상이한 프로토콜에 의해 제공될 수 있다. 예를 들어, 각각의 신호를 제공하는 작용제는 용액 중에 존재하거나 표면에 커플링될 수 있다. 표면에 커플링되는 경우, 작용제는 동일한 표면 (즉, "시스" 형태) 또는 개별 표면 (즉, "트랜스" 형태)에 커플링될 수 있다. 대안적으로, 한 작용제는 표면에 커플링되고 다른 작용제는 용액 중에 존재할 수 있다. 한 측면에서, 공동자극 신호를 제공하는 작용제는 세포 표면에 결합되고, 1차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 용액 중에 존재하거나 표면에 커플링된다. 특정 측면에서, 둘 다의 작용제는 용액 중에 존재할 수 있다. 한 측면에서, 작용제는 가용성 형태로 존재한 후, 표면, 예컨대 Fc 수용체 또는 항체 또는 다른 결합제를 발현하는 세포에 가교될 수 있고, 이것이 작용제에 결합할 것이다. 이와 관련하여, 본 발명에서 T 세포를 활성화 및 확장하는데 사용하기 위해 고려되는 인공 항원 제시 세포 (aAPC)에 대한, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 번호 20040101519 및 20060034810을 참조한다.

[0809] 한 측면에서, 2종의 작용제는 동일한 비드, 즉 "시스" 또는 개별 비드, 즉 "트랜스"의 비드 상에 고정된다. 예로서, 1차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 항-CD3 항체 또는 그의 항원-결합 단편이고, 공동자극 신호를 제공하는 작용제는 항-CD28 항체 또는 그의 항원-결합 단편이며; 둘 다의 작용제는 동일한 비드에 동등한 분자량으로 공동-고정된다. 한 측면에서, CD4+ T 세포 확장 및 T 세포 성장을 위해 1:1 비의 비드에 결합된 각각의 항체가 사용된다. 본 발명의 특정 측면에서, 비드에 결합된 항 CD3:CD28 항체의 비는 1:1의 비를 사용하여 관찰된 확장과 비교하여 T 세포 확장의 증가가 관찰되도록 사용된다. 하나의 특정한 측면에서, 1:1의 비를 사용하여 관찰된 확장과 비교하여 약 1 내지 약 3배의 증가가 관찰된다. 한 측면에서, 비드에 결합된 CD3:CD28 항체의 비는 100:1 내지 1:100 및 그 사이의 모든 정수 값의 범위이다. 본 발명의 한 측면에서, 항-CD3 항체보다 많은 항-CD28 항체가 입자에 결합되고, 즉 CD3:CD28의 비는 1 미만이다. 본 발명의 특정 측면에서, 비드에 결합된 항 CD28 항체 대 항 CD3 항체의 비는 2:1보다 크다. 하나의 특정한 측면에서, 비드에 결합된 항체의 1:100 CD3:CD28 비가 사용된다. 한 측면에서, 비드에 결합된 항체의 1:75 CD3:CD28 비가 사용된다. 추가 측면에서, 비드에 결합된 항체의 1:50 CD3:CD28 비가 사용된다. 한 측면에서, 비드에 결합된 항체의 1:30 CD3:CD28 비가 사용된다. 한 바람직한 측면에서, 비드에 결합된 항체의 1:10 CD3:CD28 비가 사용된다. 한 측면에서, 비드에 결합된 항체의 1:3 CD3:CD28 비가 사용된다. 한 측면에서, 비드에 결합된 항체의 3:1 CD3:CD28 비가 사용된다.

[0810] 1:500 내지 500:1 및 그 사이의 임의의 정수 값의 입자 대 세포의 비가 T 세포 또는 다른 표적 세포를 자극하기 위해 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자가 용이하게 인식할 수 있는 바와 같이, 입자 대 세포의 비는 표적 세포에 대한 입자 크기에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 작은 크기의 비드는 소수의 세포에만 결합할 수 있지만, 보다 큰 비드는 많은 세포에 결합할 수 있다. 특정 측면에서, 세포 대 입자의 비는 1:100 내지 100:1 및 그 사이의 임의의 정수 값의 범위이고, 추가의 측면에서 비는 1:9 내지 9:1 및 그 사이의 임의의 정수 값을 포함하고, 이는 또한 T 세포를 자극하기 위해 사용될 수 있다. T 세포 자극을 발생시키는 항-CD3- 및 항-CD28-커플링된 입자 대 T 세포의 비는 상기 언급된 바와 같이 달라질 수 있지만, 특정한 바람직한 값은 1:100, 1:50, 1:40, 1:30, 1:20, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 및 15:1을 포함하고, 하나의 바람직한 비는 T 세포 당 적어도 1:1 입자이다. 한 측면에서, 1:1 이하의 입자 대 세포의 비가 사용된다. 하나의 특정한 측면에서, 바람직한 입자: 세포 비는 1:5이다. 추가의 측면에서, 입자 대 세포의 비는 자극 일에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 한 측면에서, 입자 대 세포의 비는 제1일에 1:1 내지 10:1이고, 추가의 입자는 이후에 10일까지 매일 또는 격일로, 1:1 내지 1:10의 최종 비 (첨가 일의 세포 수 기준)로 세포에 첨가된다. 하나의 특정한 측면에서, 입자 대 세포의 비는 자극 제1일에 1:1이고, 자극 제3일 및 제5일에 1:5로 조정된다. 한 측면에서, 입자는 매일 또는 격일 기준으로 자극의 제1일에 1:1, 제3일 및 제5일에 1:5의 최종 비로 첨가된다. 한 측면에서, 입자 대 세포의 비는 자극 제1일

에 2:1이고, 자극 제3일 및 제5일에 1:10으로 조정된다. 한 측면에서, 입자는 매일 또는 격일 기준으로 자극의 제1일에 1:1, 제3일 및 제5일에 1:10의 최종 비로 첨가된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 다양한 다른 비가 본 발명에서 사용하기에 적합할 수 있음을 이해할 것이다. 특히, 비는 입자 크기 및 세포 크기 및 종류에 따라 달라질 것이다. 한 측면에서, 사용하기에 가장 일반적인 비는 제1일에 대략 1:1, 2:1 및 3:1이다.

[0811] 본 발명의 추가 측면에서, 세포, 예컨대 T 세포는 작용제-코팅된 비드와 조합되고, 비드 및 세포를 후속적으로 분리한 후, 세포를 배양한다. 다른 측면에서, 배양 전에, 작용제-코팅된 비드 및 세포를 분리하지 않고, 함께 배양한다. 추가의 측면에서, 비드 및 세포는 먼저 힘, 예컨대 자력을 인가하여 농축함으로써, 세포 표면 마커의 라이제이션을 증가시켜 세포 자극을 유도한다.

[0812] 예를 들어, 세포 표면 단백질은 항-CD3 및 항-CD28이 부착되는 상자성 비드 (3x28 비드)가 T 세포에 결합하도록 함으로써 라이제이션될 수 있다. 한 측면에서, 세포 (예를 들어, 10^4 내지 10^9 개 T 세포) 및 비드 (예를 들어, 1:1 비의 디나비즈® M-450 CD3/CD28 T 상자성 비드)를 완충제, 예를 들어 PBS (2가 양이온, 예컨대, 칼슘 및 마그네슘 미함유) 내에 조합한다. 다시, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 임의의 세포 농도가 사용될 수 있음을 쉽게 이해할 수 있다. 예를 들어, 표적 세포는 샘플에 매우 드물 수 있고, 단지 샘플의 0.01%만을 이루거나 또는 전체 샘플 (즉, 100%)이 관심 표적 세포를 포함할 수 있다. 따라서, 임의의 세포 수가 본 발명의 측면에 포함된다. 특정 측면에서, 세포 및 입자의 최대 접촉을 보장하기 위해 입자 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는 (즉, 세포의 농도를 증가시키는) 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 한 측면에서, 약 100억개 세포/ml, 90억개/ml, 80억개/ml, 70억개/ml, 60억개/ml, 50억개/ml, 또는 20억개 세포/ml의 농도가 사용된다. 한 측면에서, 1억개 세포/ml 초과 농도가 사용된다. 추가의 측면에서, 1천만, 1천5백만, 2천만, 2천5백만, 3천만, 3천5백만, 4천만, 4천5백만, 또는 5천만개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가의 한 측면에서 7천5백만, 8천만, 8천5백만, 9천만, 9천5백만, 또는 1억개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가의 측면에서, 1억2천5백만 또는 1억5천만개 세포/ml의 농도가 사용될 수 있다. 높은 농도의 사용은 증가된 세포 수율, 세포 활성화, 및 세포 확장을 발생시킬 수 있다. 또한, 높은 세포 농도의 사용은 관심 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포, 예컨대 CD28-음성 T 세포의 보다 효율적인 포획을 가능하게 한다. 이러한 세포의 집단은 치료 가치를 가질 수 있고, 특정 측면에서 수득하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들어, 높은 농도의 세포를 사용하면, 정상적으로는 보다 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포를 보다 효율적으로 선택하는 것이 가능하다.

[0813] 한 실시양태에서, CAR, 예를 들어, 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산으로 형질도입된 세포는, 예를 들어 본원에 기재된 방법에 의해 확장된다. 한 실시양태에서, 세포는 배양 중 수시간 (예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 18, 21시간) 내지 약 14일 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14 일)의 기간 동안 확장된다. 한 실시양태에서, 세포는 4 내지 9일의 기간 동안 확장된다. 한 실시양태에서, 세포는 8일 이하, 예를 들어 7, 6 또는 5일의 기간 동안 확장된다. 한 실시양태에서, 세포, 예를 들어 본원에 기재된 CLL-1 CAR 세포는 배양 중 5일 동안 확장되고, 생성된 세포는 동일한 배양 조건 하에 배양 중 9일 동안 확장된 동일한 세포보다 더 강력하다. 효력은, 예를 들어 다양한 T 세포 기능, 예를 들어 증식, 표적 세포 사멸, 시토카인 생산, 활성화, 이동, 또는 그의 조합에 의해 규정될 수 있다. 한 실시양태에서, 5일 동안 확장된 세포, 예를 들어 본원에 기재된 CLL-1 CAR 세포는 동일한 배양 조건 하에 배양 중 9일 동안 확장된 동일한 세포와 비교하여 항원 자극 시 세포 배가에서 적어도 1, 2, 3 또는 4배 증가를 보인다. 한 실시양태에서, 세포, 예를 들어 본원에 기재된 CLL-1 CAR을 발현하는 세포는 배양 중 5일 동안 확장되고, 생성된 세포는 동일한 배양 조건 하에 배양 중 9일 동안 확장된 동일한 세포와 비교하여 보다 높은 염증유발 시토카인 생산, 예를 들어 IFN- γ 및/또는 GM-CSF 수준을 나타낸다. 한 실시양태에서, 5일 동안 확장된 세포, 예를 들어 본원에 기재된 CLL-1 CAR 세포는 동일한 배양 조건 하에 배양 중 9일 동안 확장된 동일한 세포와 비교하여 pg/ml 단위의 염증유발 시토카인 생산, 예를 들어 IFN- γ 및/또는 GM-CSF 수준에서 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 10배 또는 그 초과 증가를 보인다.

[0814] 본 발명의 한 측면에서, 혼합물은 수시간 (약 3시간) 내지 약 14일 또는 그 사이의 임의의 시간상 정수 값 동안 배양될 수 있다. 한 측면에서, 혼합물은 21일 동안 배양될 수 있다. 본 발명의 한 측면에서, 비드 및 T 세포는 함께 약 8일 동안 배양된다. 한 측면에서, 비드 및 T 세포는 함께 2-3일 동안 배양된다. 또한, T 세포의 배양 시간이 60일 이상이 될 수 있도록 여러 사이클의 자극이 바람직할 수 있다. T 세포 배양을 위해 적절한 조건은 혈청 (예를 들어, 소 태아 또는 인간 혈청), 인터류킨-2 (IL-2), 인슐린, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β , 및 TNF- α 또는 통상의 기술자에게 공지된 세포의 성장을 위한 임의의 다른 첨가제를 포함하는 증식 및 생존에 필요한 인자를 포함할 수 있는 적절한 배지 (예를 들어, 최소 필수 배지 또는 RPMI 배지 1640 또는, 엑스-비보(X-vivo) 15 (론자(Lonza)))를 포함한다. 세포의 성장을 위한 다른 첨가제는

계면활성제, 플라스마네이트, 및 환원제, 예컨대 N-아세틸-시스테인 및 2-메르캅토에탄올을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 배지는 혈청-비함유 또는 적절한 양의 혈청 (또는 혈장) 또는 규정된 세트의 호르몬으로 보충된 아미노산, 피루브산나트륨, 및 비타민, 및/또는 T 세포의 성장 및 확장을 위해 충분한 양의 시토카인(들)과 함께 RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, 엑스-비보 15, 및 엑스-비보 20, 최적화제를 포함할 수 있다. 항생제, 예를 들어 페니실린 및 스트렙토마이신은 실험적 배양에만 포함되고, 대상체 내에 주입되어야 하는 세포의 배양물에는 포함되지 않는다. 표적 세포는 성장을 지지하기 위해 필요한 조건, 예를 들어 적절한 온도 (예를 들어, 37°C) 및 분위기 (예를 들어, 공기 플러스 5% CO₂) 하에 유지된다.

[0815] 한 실시양태에서, 세포는, 예를 들어 본원에 기재된 방법, 예컨대 유동 세포측정법에 의해 측정 시 14일 확장 기간에 걸쳐 세포의 적어도 200-배 (예를 들어, 200-배, 250-배, 300-배, 350-배) 증가를 발생시키는, 1종 이상의 인터류킨을 포함하는 적절한 배지 (예를 들어, 본원에 기재된 배지 중에서 확장된다. 한 실시양태에서, 세포는 IL-15 및/또는 IL-7 (예를 들어, IL-15 및 IL-7)의 존재 하에 확장된다.

[0816] 실시양태에서, 본원에 기재된 방법, 예를 들어 CAR-발현 세포 제조 방법은, 예를 들어 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드, IL-2를 사용하여 세포 집단으로부터 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포를 제거하는 것을 포함한다. 세포 집단으로부터 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포를 제거하는 방법은 본원에 기재되어 있다. 실시양태에서, 방법, 예를 들어 제조 방법은 세포 집단 (예를 들어, T 조절 세포, 예컨대 CD25+ T 세포가 고갈된 세포 집단; 또는 항-CD25 항체, 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드와 이전에 접촉시킨 세포 집단)을 IL-15 및/또는 IL-7과 접촉시키는 것을 추가로 포함한다. 예를 들어, 세포 집단 (예를 들어, 항-CD25 항체, 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드와 이전에 접촉시킨 것)은 IL-15 및/또는 IL-7의 존재 하에 확장된다.

[0817] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CAR-발현 세포의 제조 동안 인터류킨-15 (IL-15) 폴리펩티드, 인터류킨-15 수용체 알파 (IL-15Ra) 폴리펩티드, 또는 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드, 예를 들어 het IL-15 둘 다의 조합을 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체외에서 접촉된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CAR-발현 세포의 제조 동안 IL-15 폴리펩티드를 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체외에서 접촉된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CAR-발현 세포의 제조 동안 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15 Ra 폴리펩티드 둘 다의 조합을 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체외에서 접촉된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CAR-발현 세포의 제조 동안 het IL-15를 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체외에서 접촉된다.

[0818] 한 실시양태에서 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 생체외 확장 동안 het IL-15를 포함하는 조성물과 접촉된다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 생체외 확장 동안 IL-15 폴리펩티드를 포함하는 조성물과 접촉된다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 생체외 확장 동안 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드 둘 다를 포함하는 조성물과 접촉된다. 한 실시양태에서, 접촉은 림프구 하위집단, 예를 들어 CD8+ T 세포의 생존 및 증식을 발생시킨다.

[0819] 상이한 자극 횟수에 노출된 T 세포는 상이한 특징을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 전형적인 혈액 또는 분리분출술을 거친 말초 혈액 단핵 세포 생성물은 세포독성 또는 억제자 T 세포 집단 (TC, CD8+)보다 큰 헬퍼 T 세포 집단 (TH, CD4+)을 갖는다. CD3 및 CD28 수용체를 자극하는 것에 의한 T 세포의 생체외 확장은 T 세포의 집단을 생산하고, 이는 약 8-9일 전에는 주로 TH 세포로 이루어지는 반면에, 약 8-9일 후 T 세포의 집단은 점점 더 큰 TC 세포의 집단을 포함한다. 따라서, 치료의 목적에 따라, 대상체에게 주로 TH 세포를 포함하는 T 세포 집단을 주입하는 것이 유리할 수 있다. 유사하게, TC 세포의 항원-특이적 하위세트가 단리되면, 이 하위세트를 더 큰 정도로 확장시키는 것이 유익할 수 있다.

[0820] 추가로, CD4 및 CD8 마커에 더하여, 다른 표현형 마커는 세포 확장 과정 동안 유의하게, 그러나 대부분 재현가능하게 상이하다. 따라서, 그러한 재현가능성 때문에, 특정 목적을 위해 활성화된 T 세포 생성물을 적합하게 조정할 수 있다.

[0821] CLL-1 CAR이 구축되면, 다양한 검정을 사용하여 분자의 활성화, 예컨대 비제한적으로 항원 자극 후에 T 세포를 확장시키는 능력, 재자극의 부재 하에 T 세포 확장을 지속시키는 능력, 및 적절한 시험관내 및 동물 모델에서의 항암 활성을 평가할 수 있다. CLL-1 CAR의 효과를 평가하기 위한 검정이 하기에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0822] 1차 T 세포에서 CAR 발현의 웨스턴 블롯 분석은 단량체 및 이량체의 존재를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 아주 간략하게,

CAR을 발현하는 T 세포 ($CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 1:1 혼합물)를 10일 초과 동안 시험관내에서 확장시킨 후, 용해 및 환원 조건 하의 SDS-PAGE를 수행한다. 전장 TCR- ζ 세포질 도메인 및 내인성 TCR- ζ 쇄를 포함하는 CAR은 TCR- ζ 쇄에 대한 항체를 사용한 웨스턴 블롯팅에 의해 검출된다. 동일한 T 세포 하위세트는 공유 이량체 형성의 평가를 허용하는 비-환원 조건 하의 SDS-PAGE 분석을 위해 사용된다.

[0823] 항원 자극 후에 CAR^+ T 세포의 시험관내 확장은 유동 세포측정법에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 혼합물을 $\alpha CD3/\alpha CD28$ aAPC로 자극한 후, 분석할 프로모터의 제어 하에 GFP를 발현하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입한다. 예시적인 프로모터는 CMV IE 유전자, EF-1 α , 유비퀴틴 C, 또는 포스포글리세로 키나제 (PGK) 프로모터를 포함한다. GFP 형광은 유동 세포측정법에 의해 $CD4^+$ 및/또는 $CD8^+$ T 세포 하위세트에서 배양 제6일에 평가된다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 대안적으로, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 혼합물을 제0일에 $\alpha CD3/\alpha CD28$ 코팅된 자기 비드로 자극하고, 2A 리보솜 스킵핑 서열을 사용하여 eGFP와 함께 CAR을 발현하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터를 사용하여 제1일에 CAR로 형질도입한다. 배양물을 CLL-1 발현 세포로 재자극할 수 있다.

[0824] 재자극의 부재 하에 지속되는 CAR^+ T 세포 확장을 또한 측정할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 간략하게, 평균 T 세포 부피 (f1)는 제0일에 $\alpha CD3/\alpha CD28$ 코팅된 자기 비드를 사용한 자극, 및 제1일에 나타난 CAR을 사용한 형질도입 후에 쿨터 멀티사이저 III(Coulter Multisizer III) 입자 계수기, 넥셀롬 셀로미터 비전(Nexcelom Cellometer Vision) 또는 밀리포어 셉터(Millipore Scepter)를 사용하여 배양 제8일에 측정한다.

[0825] CART 활성을 측정하기 위해 동물 모델을 또한 사용할 수 있다. 예를 들어, 면역결핍 마우스에서 원발성 인간 AML을 치료하기 위해 인간 CLL-1-특이적 CAR^+ T 세포를 사용하는 이종이식편 모델이 사용될 수 있다. 매우 간략하게, 종양의 확립 후에, 마우스를 처리 군으로 무작위화한다. CLL-1 CART 세포를 면역결핍 마우스 내로, 예를 들어 정맥내로 주사한다. 동물을 매주 간격으로 암 세포에 대해 평가한다. CLL-1 CART 세포 또는 모의-형질도입된 T 세포가 주사된 마우스에서 말초 혈액 CLL-1-발현 AML 세포 카운트가 측정된다. 군에 대한 생존 곡선은 로그 순위 검정을 사용하여 비교된다.

[0826] 세포독성은 표준 ^{51}Cr -방출 검정에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 간략하게, 표적 세포를 37°C에서 2시간 동안 빈번하게 교반하면서 ^{51}Cr ($NaCrO_4$ 로서, 뉴 잉글랜드 뉴클리어(New England Nuclear), 매사추세츠주 보스턴)을 로딩하고, 완전 RPMI 내에 2회 세척하고, 마이크로타이터 플레이트 내로 플레이팅한다. 이펙터 T 세포를 웰 내에서 완전 RPMI 내에서 표적 세포와, 이펙터 세포:표적 세포 (E:T)의 다양한 비로 혼합한다. 배지만 함유하는 (자발적 방출, SR) 또는 트리톤-X 100 세제의 1% 용액 (총 방출, TR)을 함유하는 추가의 웰을 또한 제조한다. 37°C에서 4시간 인큐베이션한 후, 각각의 웰로부터 상청액을 수거한다. 이어서, 방출된 ^{51}Cr 을 감마 입자 계수기 (팩커드 인스트루먼트 코포레이션(Packard Instrument Co.), 매사추세츠주 윌섬)를 사용하여 측정한다. 각각의 조건은 적어도 삼중으로 수행되고, 용해 백분율은 하기 식을 사용하여 계산된다: % 용해 = $(ER - SR)/(TR - SR)$ (여기서, ER은 각각의 실험 조건의 경우에 방출된 평균 ^{51}Cr 을 나타낸다).

[0827] 영상화 기술이 종양-보유 동물 모델에서 CAR의 특이적 트래킹 및 증식을 평가하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 검정은 예를 들어 문헌 [Barrett et al., Human Gene Therapy 22:1575-1586 (2011)]에 기재되어 있다. 간략하게, NOD/SCID/ $\gamma c^{-/-}$ (NSG) 마우스에게 Nalm-6 세포를 IV 주사하고, 7일 후에 CAR 구축물을 사용한 전기천공 4시간 후에 T 세포를 주사한다. T 세포를 반딧불이 루시페라제를 발현하도록 렌티바이러스 구축물로 안정하게 형질감염시키고, 마우스를 생체발광에 대해 영상화한다. 대안적으로, Nalm-6 이종이식편 모델에서 CAR^+ T 세포의 단일 주사의 치료 효능 및 특이성은 다음과 같이 측정할 수 있다: NSG 마우스에게 반딧불이 루시페라제를 안정하게 발현하도록 형질도입된 Nalm-6을 주사한 후, 7일 후에 CLL-1 CAR로 전기천공된 T 세포를 단일 꼬리-정맥 주사한다. 동물을 주사 후 다양한 시점에서 영상화한다. 예를 들어, 제5일 (치료 2일 전) 및 제8일 (CAR^+ PBL 24시간 후)에 대표적인 마우스에서 반딧불이 루시페라제 양성 백혈병의 광자-밀도 열 지도를 생성할 수 있다.

[0828] 본원의 실시예 섹션에서 기재된 것들 및 관련 기술분야에 공지된 것들 포함하는 다른 검정이 또한 본 발명의

CLL-1 CAR 구축물을 평가하는데 사용될 수 있다.

- [0829] 대안적으로, 또는 본원에 개시된 방법과 조합하여, CAR-발현 세포의 검출 및/또는 정량화 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내 (예를 들어, 임상 모니터링)); 면역 세포 확장 및/또는 활성화; 및/또는 CAR 리간드의 사용을 수반하는 CAR-특이적 선택 중 하나 이상을 위한 방법 및 조성물이 개시된다. 하나의 예시적 실시양태에서, CAR 리간드는 CAR 분자에 결합하는, 예를 들어 CAR의 세포외 항원 결합 도메인에 결합하는 항체 (예를 들어, 항원 결합 도메인에 결합하는 항체, 예를 들어 항-이디오타입 항체; 또는 세포외 결합 도메인의 불변 영역에 결합하는 항체)이다. 다른 실시양태에서, CAR 리간드는 CAR 항원 분자 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CAR 항원 분자)이다.
- [0830] 한 측면에서, CAR-발현 세포를 검출 및/또는 정량화하는 방법이 개시된다. 예를 들어, CAR 리간드는 시험관내 또는 생체내에서 CAR-발현 세포를 검출 및/또는 정량화하는데 사용될 수 있다 (예를 들어, 환자에서 CAR-발현 세포의 임상 모니터링, 또는 환자에서의 투여). 방법은 하기를 포함한다:
- [0831] CAR 리간드 (임의로, 표지화 CAR 리간드, 예를 들어 태그, 비드, 방사성 또는 형광 표지를 포함하는 CAR 리간드)를 제공하는 단계;
- [0832] CAR-발현 세포를 획득하는 단계 (예를 들어, CAR-발현 세포를 함유하는 샘플, 예컨대 체조 샘플 또는 임상 샘플을 획득하는 단계);
- [0833] CAR-발현 세포를 CAR 리간드와 결합이 일어나는 조건 하에 접촉시켜, 존재하는 CAR-발현 세포의 수준 (예를 들어, 양)을 검출하는 단계. CAR-발현 세포와 CAR 리간드의 결합은 FACS, ELISA 등과 같은 표준 기술을 사용하여 검출될 수 있다.
- [0834] 또 다른 측면에서, 세포 (예를 들어, 면역 이펙터 세포)를 확장 및/또는 활성화하는 방법이 개시된다. 방법은 하기를 포함한다:
- [0835] CAR-발현 세포 (예를 들어, 제1 CAR-발현 세포 또는 일시적 발현 CAR 세포)를 제공하는 단계;
- [0836] 상기 CAR-발현 세포를 CAR 리간드, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 CAR 리간드와 면역 세포 확장 및/또는 증식이 일어나는 조건 하에 접촉시켜, 활성화 및/또는 확장된 세포 집단을 생산하는 단계.
- [0837] 특정 실시양태에서, CAR 리간드가 존재한다 (예를 들어, 기질, 예를 들어 비-자연 발생 기질에 고정되거나 부착됨). 일부 실시양태에서, 기질은 비-세포 기질이다. 비-세포 기질은 플레이트 (예를 들어, 마이크로타이터 플레이트), 막 (예를 들어, 니트로셀룰로스 막), 매트릭스, 칩 또는 비드로부터 선택된 고체 지지체일 수 있다. 실시양태에서, CAR 리간드는 기질에 (예를 들어, 기질 표면 상에) 존재한다. CAR 리간드는 기질에 공유 또는 비-공유 고정되거나, 부착되거나, 회합된다 (예를 들어 가교된다). 한 실시양태에서, CAR 리간드는 비드에 부착된다 (예를 들어, 공유 부착된다). 상기 실시양태에서, 면역 세포 집단은 시험관내 또는 생체의 확장될 수 있다. 방법은 CAR 분자의 리간드의 존재 하에, 예를 들어 본원에 기재된 임의의 방법을 사용하여 면역 세포의 집단을 배양하는 것을 추가로 포함할 수 있다.
- [0838] 다른 실시양태에서, 세포를 확장 및/또는 활성화하는 방법은 추가로 제2 자극 분자, 예를 들어 CD28의 첨가를 포함한다. 예를 들어, CAR 리간드 및 제2 자극 분자는 기질, 예를 들어 1개 이상의 비드에 고정되어, 증가된 세포 확장 및/또는 활성화를 제공할 수 있다.
- [0839] 또 다른 측면에서, CAR 발현 세포를 선택 또는 풍부화하는 방법이 제공된다. 방법은 CAR 발현 세포를 본원에 기재된 바와 같은 CAR 리간드와 접촉시키는 단계; 및 CAR 리간드의 결합에 기초하여 세포를 선택하는 단계를 포함한다.
- [0840] 또 다른 실시양태에서, CAR 발현 세포를 고갈, 감소 및/또는 사멸시키는 방법이 제공된다. 방법은 CAR 발현 세포를 본원에 기재된 바와 같은 CAR 리간드와 접촉시키는 단계; 및 CAR 리간드의 결합에 기초하여 세포를 표적화하여, CAR-발현 세포의 수를 감소시키고/거나 그를 사멸시키는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, CAR 리간드는 독성제 (예를 들어, 독소 또는 세포 제거 약물)에 커플링된다. 또 다른 실시양태에서, 항-이디오타입 항체는 이펙터 세포 활성화, 예를 들어 ADCC 또는 ADC 활성을 유발할 수 있다.
- [0841] 본원에 개시된 방법에 사용될 수 있는 예시적인 항-CAR 항체가 예를 들어 WO 2014/190273 및 문헌 [Jena et al., "Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Specific Monoclonal Antibody to Detect CD19-Specific T cells in Clinical Trials", PLOS March 2013 8:3 e57838]에 기재되어 있고, 그의 내용은 본원에 참조로 포함된다. 한

실시양태에서, 항-이디오타입 항체 분자는 항-CD19 항체 분자, 예를 들어 항-CD19 scFv를 인식한다. 예를 들어, 항-이디오타입 항체 분자는 문헌 [Jena et al., PLOS March 2013 8:3 e57838]에 기재된 CD19-특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1과 결합에 대해 경쟁할 수 있거나; CD19-특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1과 동일한 CDR (예를 들어, 카바트 정의, 코티아 정의, 또는 카바트와 코티아 정의의 조합을 사용하여 VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예를 들어 모두)을 가질 수 있거나; CD19-특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1로서 1개 이상 (예를 들어, 2개)의 가변 영역을 가질 수 있거나, 또는 CD19-특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-이디오타입 항체는 문헌 [Jena et al.]에 기재된 방법에 따라 제조되었다. 또 다른 실시양태에서, 항-이디오타입 항체 분자는 WO 2014/190273에 기재된 항-이디오타입 항체 분자이다. 일부 실시양태에서, 항-이디오타입 항체 분자는 WO 2014/190273의 항체 분자, 예컨대 136.20.1과 동일한 CDR (예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예를 들어 모두)을 갖거나; WO 2014/190273의 항체 분자의 1개 이상 (예를 들어, 2개)의 가변 영역을 가질 수 있거나, 또는 WO 2014/190273의 항체 분자, 예컨대 136.20.1을 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 항-CAR 항체는 예를 들어 WO 2014/190273에 기재된 바와 같은 CAR 분자의 세포의 결합 도메인의 불변 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-CAR 항체는 CAR 분자의 세포의 결합 도메인의 불변 영역, 예를 들어 중쇄 불변 영역 (예를 들어, CH2-CH3 힌지 영역) 또는 경쇄 불변 영역에 결합한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서 항-CAR 항체는 WO 2014/190273에 기재된 2D3 모노클로날 항체와 결합에 대해 경쟁하거나, 2D3과 동일한 CDR (예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예를 들어 모두)을 갖거나, 또는 2D3의 1개 이상 (예를 들어, 2개)의 가변 영역을 갖거나, 또는 WO 2014/190273에 기재된 바와 같은 2D3을 포함한다.

- [0842] 일부 측면 및 실시양태에서, 본원의 조성물 및 방법은, 예를 들어 2014년 7월 31일에 출원된 미국 일련 번호 62/031,699에 기재된 바와 같이 T 세포의 특정 하위세트에 대해 최적화되고, 그의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, T 세포의 최적화된 하위세트는 대조군 T 세포, 예를 들어 동일한 구축물을 발현하는 상이한 유형 (예를 들어, $CD8^+$ 또는 $CD4^+$)의 T 세포와 비교하여 증진된 지속성을 나타낸다.
- [0843] 일부 실시양태에서, $CD4^+$ T 세포는 본원에 기재된 CAR을 포함하며, 상기 CAR은 $CD4^+$ T 세포에 적합한 (예를 들어 그에 최적화된, 예를 들어 증진된 지속성으로 이어지는) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 ICOS 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, $CD8^+$ T 세포는 본원에 기재된 CAR을 포함하며, 상기 CAR은 $CD8^+$ T 세포에 적합한 (예를 들어 그에 최적화된, 예를 들어 증진된 지속성으로 이어지는) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 4-1BB 도메인, CD28 도메인, 또는 ICOS 도메인 이외의 또 다른 공동자극 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR은 본원에 기재된 항원 결합 도메인을 포함한다 (예를 들어 CLL-1에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR, 예를 들어 표 2의 CAR).
- [0844] 한 측면에서, 대상체, 예를 들어 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본원에 기재된다. 방법은 상기 대상체에 게 유효량의
- [0845] 1) 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 도메인, 예를 들어 CLL-1에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인, 예를 들어 표 2의 항원-결합 도메인;
- [0846] 막횡단 도메인; 및
- [0847] 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 제1 공동자극 도메인, 예를 들어 ICOS 도메인
- [0848] 을 포함하는 CAR을 포함하는 $CD4^+$ T 세포 (CAR^{CD4+}); 및
- [0849] 2) 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 도메인, 예를 들어 CLL-1에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인, 예를 들어 표 2의 항원-결합 도메인;
- [0850] 막횡단 도메인; 및
- [0851] 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 제2 공동자극 도메인, 예를 들어 4-1BB 도메인, CD28 도메인, 또는 ICOS 도메인 이외의 또 다른 공동자극 도메인
- [0852] 을 포함하는 CAR을 포함하는 $CD8^+$ T 세포 (CAR^{CD8+})
- [0853] 를 투여하는 것을 포함하며;

- [0854] 여기서 CAR^{CD4+} 및 CAR^{CD8+} 는 서로 상이하다.
- [0855] 임의로, 방법은
- [0856] 3) 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 도메인, 예를 들어 CLL-1에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인, 예를 들어 표 2의 항원-결합 도메인;
- [0857] 막횡단 도메인; 및
- [0858] 세포내 신호전달 도메인
- [0859] 을 포함하는 CAR을 포함하는 제2 $CD8^+$ T 세포 (제2 CAR^{CD8+})
- [0860] 를 투여하는 것을 추가로 포함하며, 여기서 제2 CAR^{CD8+} 은 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CAR^{CD8+} 상에 존재하지 않는 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고, 임의로 ICOS 신호전달 도메인은 포함하지 않는다.
- [0861] 치료 용도
- [0862] CLL-1 연관 질환 및/또는 장애
- [0863] 본 발명은 특히, 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 한 측면에서, 암은 백혈병 (예컨대 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 골수 백혈병 (CML), 급성 림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 급성 림프모구성 B-세포 백혈병 (B-세포 급성 림프성 백혈병, BALL), 급성 림프모구성 T-세포 백혈병 (T-세포 급성 림프성 백혈병 (TALL), B-세포 전림프구성 백혈병, 형질 세포 골수종 및 골수이형성 증후군), 및 림프종 (예컨대 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 버킷 림프종 및 소세포- 및 대세포-여포성 림프종)을 비롯한 악성 림프증식성 상태를 포함하나 이에 제한되지는 않는 혈액암이다.
- [0864] 치료 용도
- [0865] 한 측면에서, 본 발명은 CLL-1 발현과 연관된 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 본 발명은 종양의 일부는 CLL-1에 대해 음성이고 종양의 일부는 CLL-1에 대해 양성인 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명의 CAR은 상승된 CLL-1의 발현과 연관된 질환의 치료를 거친 대상체를 치료하는데 유용하고, 여기서 상승된 수준의 CLL-1에 대한 치료를 거친 대상체는 상승된 수준의 CLL-1과 연관된 질환을 나타낸다. 실시양태에서, 본 발명의 CAR은 CLL-1의 발현과 연관된 질환의 치료를 거친 대상체를 치료하는데 유용하고, 여기서 CLL-1의 발현과 관련된 치료를 거친 대상체는 CLL-1의 발현과 연관된 질환을 나타낸다.
- [0866] 한 측면에서, 본 발명은 포유동물 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포에서의 발현을 위해 프로모터에 작동가능하게 연결된 CLL-1 CAR을 포함하는 벡터에 관한 것이다. 한 측면에서, 본 발명은 CLL-1-발현 종양을 치료하는데 사용하기 위한 CLL-1 CAR을 발현하는 재조합 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포를 제공하고, 여기서 CLL-1 CAR을 발현하는 재조합 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포는 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)로 불린다. 한 측면에서, 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)는 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)가 종양 세포를 표적화하고 종양의 성장이 억제되도록 종양 세포를 그의 표면 상에 발현된 적어도 1개의 본 발명의 CLL-1 CAR과 접촉시킬 수 있다.
- [0867] 한 측면에서, 본 발명은 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)가 항원에 반응하여 활성화되고 암 세포를 표적화하도록 종양 세포를 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)와 접촉시키는 것을 포함하는 CLL-1-발현 종양 세포의 성장을 억제하는 방법에 관한 것이며, 여기서 종양의 성장은 억제된다.
- [0868] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 방법은 암이 대상체에서 치료되도록 대상체에게 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)를 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)에 의해 치료될 수 있는 암의 예는 CLL-1의 발현과 연관된 암이다. 한 측면에서, CLL-1의 발현과 연관된 암은 혈액암이다. 한 측면에서, 혈액암은 백혈병 (예컨대 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병 및 골수이형성 증후군), 및 림프종 (예컨대 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 버킷 림프종 및 소세포- 및 대세포-여포성 림프종)을 비롯한 악성 림프증식성 상태를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다른 실시양태에서, 혈액암은 예를 들어 백혈병의, 예를 들어 AML 또는 MDS의 최소 잔류 질환, MRD를 포함할 수

있다.

- [0869] 본 발명은 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포를 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하도록 유전자 변형시키고, CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)를 그를 필요로 하는 수용자에게 주입하는 세포 요법의 유형을 포함한다. 주입된 세포는 수용자 내에서 종양 세포를 사멸시킬 수 있다. 항체 요법과는 달리, CAR-변형된 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 생체내에서 복제할 수 있어서 장기간 존속하고, 이는 지속된 종양 제어에 이어질 수 있다. 다양한 측면에서, 환자에 투여된 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포), 또는 그의 자손은 환자에게 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 투여한 후 환자 내에서 적어도 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 13개월, 14개월, 15개월, 16개월, 17개월, 18개월, 19개월, 20개월, 21개월, 22개월, 23개월, 2년, 3년, 4년, 또는 5년 동안 지속된다.
- [0870] 본 발명은 또한 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 키메라 항원 수용체 (CAR)를 일시적으로 발현하도록 예를 들어 시험관내 전사된 RNA에 의해 변형시키고, CLL-1 CAR 발현 세포 (예를 들어 CLL-1 CAR T 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)를 그를 필요로 하는 수용자에게 주입하는 세포 요법의 유형을 포함한다. 주입된 세포는 수용자 내에서 종양 세포를 사멸시킬 수 있다. 따라서, 다양한 측면에서, 환자에 투여된 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 환자에게 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 투여한 후 1개월 미만, 예를 들어 3주, 2주, 1주 동안 존재한다.
- [0871] 임의의 특정한 이론에 얽매지는 것을 원하지는 않지만, CAR-변형된 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)에 의해 도출된 항종양 면역 반응은 능동 또는 수동 면역 반응일 수 있거나, 또는 대안적으로 직접 대 간접 면역 반응으로 인한 것일 수 있다. 한 측면에서, CAR 형질도입된 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 CLL-1을 발현하는 인간 암 세포에 반응하여 특이적 염증유발 시토카인 분비 및 강력한 세포용해 활성을 나타내고, 가용성 CLL-1 억제에 저항하고, 방관자 사멸을 매개하고, 확립된 인간 종양의 퇴행을 매개한다. 예를 들어, CLL-1-발현 종양의 불균질 영역 내의 항원이-없는 종양 세포는 인접한 항원-양성 암 세포에 대해 이전에 반응한 CLL-1-제지시킨 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)에 의한 간접적인 파괴에 감수성일 수 있다.
- [0872] 한 측면에서, 본 발명의 완전-인간 CAR-변형된 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 포유동물에서 생체의 면역화 및/또는 생체내 요법을 위한 백신의 유형일 수 있다. 한 측면에서, 포유동물은 인간이다.
- [0873] 생체의 면역화와 관련하여, 하기 중 적어도 하나가 세포를 포유동물 내로 투여하기 전 시험관내에서 일어난다: i) 세포의 확장, ii) CAR을 코딩하는 핵산의 세포로의 도입 또는 iii) 세포의 동결보존.
- [0874] 생체의 절차는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 하기에 보다 상세하게 논의된다. 간략하게, 세포는 포유 동물 (예를 들어, 인간)으로부터 단리되고, 본원에 개시된 CAR을 발현하는 벡터에 의해 유전자 변형된다 (즉, 시험관내에서 형질도입 또는 형질감염된다). CAR-변형된 세포는 포유동물 수용자에게 투여되어 치료 이익을 제공할 수 있다. 포유동물 수용자는 인간일 수 있고, CAR-변형된 세포는 수용자에 관하여 자가일 수 있다. 대안적으로, 세포는 수용자에 관하여 동종, 동계 또는 이종일 수 있다.
- [0875] 조혈 줄기 및 전구 세포의 생체의 확장 절차는 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 5,199,942에 기재되어 있고, 이는 본 발명의 세포에 적용될 수 있다. 다른 적합한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있고, 따라서 본 발명은 세포의 생체의 확장의 임의의 특정한 방법으로 제한되지 않는다. 간략하게, T 세포의 생체의 배양 및 확장은: (1) 포유동물로부터 말초 혈액 수거 또는 골수 이식편으로부터 CD34⁺ 조혈 줄기 및 전구 세포를 수집하는 것; 및 (2) 이러한 세포를 생체의 확장시키는 것을 포함한다. 미국 특허 번호 5,199,942에 기재된 세포 성장 인자에 더하여, 다른 인자, 예컨대 flt3-L, IL-1, IL-3 및 c-kit 리간드가 세포의 배양 및 확장을 위해 사용될 수 있다.
- [0876] 생체의 면역화와 관련하여 세포-기반 백신을 사용하는 것에 더하여, 본 발명은 또한 환자에서 항원에 대해 지시된 면역 반응을 도출하는 생체내 면역화를 위한 조성물 및 방법을 제공한다.
- [0877] 일반적으로, 본원에 기재된 바와 같이 활성화되고 확장된 세포는 면역손상된 개체에서 발생하는 질환의 치료 및 예방에 사용될 수 있다. 특히, 본 발명의 CAR-변형된 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 CLL-1의 발현과 연관된 질환, 장애 및 상태의 치료에 사용된다. 특정 측면에서, 본 발명의 세포는 CLL-1의 발현과 연관된 질환, 장애 및 상태의 발생 위험이 있는 환자의 치료에 사용된다. 따라서, 본 발명은 CLL-1의 발현과 연관된 질환, 장애 및 상태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 본 발명의 CAR-변

형된 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 투여하는 것을 포함하는, CLL-1의 발현과 연관된 질환, 장애 및 상태를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

- [0878] 한 측면에서 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 세포의 비정상적 성장을 특징으로 하는 증식성 질환, 예컨대 암 또는 악성종양, 또는 전암성 상태, 예컨대 골수이형성증, 골수이형성 증후군 또는 전백혈병, 과다증식성 장애, 증식증 또는 이형성증을 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0879] 한 측면에서, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 암을 치료하는데 사용되며, 여기서 암은 혈액암이다. 혈액암 상태는 혈액, 골수 및 림프계에 영향을 미치는 암의 유형, 예컨대 백혈병 및 악성 림프증식성 상태이다.
- [0880] 한 측면에서, 본 발명의 조성물 및 CAR-발현 세포 (예를 들어, CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 특히 골수성 백혈병, AML 및 그의 하위유형, 만성 골수성 백혈병 (CML), 및 골수이형성 증후군 (MDS)을 치료하는데 유용하다.
- [0881] 백혈병은 급성 백혈병 및 만성 백혈병으로서 분류될 수 있다. 급성 백혈병은 급성 골수 백혈병 (AML) 및 급성 림프성 백혈병 (ALL)으로서 추가로 분류될 수 있다. 만성 백혈병은 만성 골수 백혈병 (CML) 및 만성 림프성 백혈병 (CLL)을 포함한다. 다른 관련 상태는 골수 혈액 세포의 비유효 생산 (또는 이형성증) 및 AML로의 변환 위험과 연관된 혈액 상태의 다양한 집단인 골수이형성 증후군 (MDS, 이전에 "전백혈병"으로 공지됨)을 포함한다.
- [0882] 림프종은 림프구에서 발생한 혈액 세포 종양의 군이다. 예시적인 림프종은 비-호지킨 림프종 및 호지킨 림프종을 포함한다.
- [0883] AML에서, 비정상적으로 분화된, 장기-생존 골수 전구세포의 악성 형질전환 및 비제어 증식은 미성숙 혈액 형성의 높은 순환 횟수 및 악성 세포에 의한 정상 골수의 대체를 야기한다. 증상은 피로, 창백, 용이한 타박상 및 출혈, 열 및 감염을 포함하고; 백혈병성 침윤의 증상은 단지 환자의 약 5%에서 존재한다 (종종 피부 징후로서). 말초 혈액 도말표본 및 골수의 검사는 진단적이다. 기존 치료는 완화를 달성하기 위한 유도 화학요법 및 재발을 피하기 위한 완화후 화학요법 (줄기 세포 이식의 존재 또는 부재 하)을 포함한다.
- [0884] AML은 형태학, 면역표현형 및 세포화학에 의해 서로 구별되는 수많은 하위유형을 갖는다. 우세한 세포 유형에 기초하여, 골수성, 골수성-단핵구성, 단핵구성, 적혈구성 및 거핵구성을 비롯한 5개의 부류가 기재되어 있다.
- [0885] 완화 유도율은 50 내지 85%의 범위이다. 장기 무질환 생존기간은, 보고된 바로는 환자의 20 내지 40%에서 발생하고, 줄기 세포 이식으로 치료받은 더 어린 환자에서 40 내지 50%로 증가한다.
- [0886] 예후 인자는 치료 프로토콜 및 강도를 결정하는 것을 돕고; 잠재적 이익은 증가된 치료 독성을 정당화하는 것으로 생각되기 때문에, 강력한 음성 예후 특색을 갖는 환자는 통상적으로 보다 강한 형태의 요법이 주어진다. 가장 중요한 예후 인자는 백혈병 세포 핵형이고; 바람직한 핵형은 t(15;17), t(8;21), 및 inv16 (p13;q22)을 포함한다. 음성 인자는 증가하는 나이, 이전 골수이형성 상, 속발성 백혈병, 높은 WBC 카운트, 및 아우어 로드의 부재를 포함한다.
- [0887] 초기 요법은 완화를 유도하고자 시도하고, AML은 보다 적은 약물에 반응한다는 점에서 ALL과 가장 상이하다. 기본 유도 요법은 5 내지 7일 동안의 연속 IV 주입 또는 고용량에 의한 시타라빈을 포함하고; 다우노루비신 또는 이다루비신은 이 시간 동안 3일 동안 IV로 주어진다. 일부 요법은 6-티오구아닌, 에토포시드, 빈크리스틴 및 프레드니손을 포함하지만, 그의 기여는 불분명하다. 치료는 통상적으로 감염 및 출혈과 더불어 유의한 골수 억제를 발생시키고; 골수 회복 전 유의한 잠복기가 존재한다. 이 시간 동안, 세심한 예방적 및 지지적 관리가 중요하다.
- [0888] 만성 골수 (또는 골수성) 백혈병 (CML)은 또한 만성 과립구성 백혈병으로 공지되어 있고, 백혈구의 암으로서 특징화된다. CML을 위한 통상의 치료 요법은 Bcr-Abl 티로신 키나제 억제제, 이마티닙 (글리벡(Gleevec)®), 다사티닙 및 닐로티닙을 포함한다. Bcr-Abl 티로신 키나제 억제제는 필라델피아 염색체 전위를 갖는 CML 환자에 특히 유용하다.
- [0889] 골수이형성 증후군 (MDS)은 무질서하고 비유효한 조혈 또는 혈액 생산을 특징으로 하는 혈액 의학적 상태이다. 따라서, 혈액-형성 세포의 수 및 품질은 비가역적으로 저하된다. MDS를 갖는 일부 환자는 중증 빈혈이 발생할 수 있고, 다른 환자는 무증상이다.
- [0890] MDS에 대한 분류 개요는, 특정한 혈액 세포 유형, 예를 들어 골수모세포, 단핵구 및 적혈구 전구체의 비 또는

빈도를 지정하는 기준과 함께 관련 기술분야에 공지되어 있다. MDS는 불응성 빈혈, 고리 철적모구 동반 불응성 빈혈, 과다 모세포 동반 불응성 빈혈, 변환 중 과다 모세포 동반 불응성 빈혈, 만성 골수단핵구성 백혈병 (CMML)을 포함한다.

[0891] MDS를 위한 치료는 증상의 중증도에 따라 달라진다. 중증 증상을 겪고 있는 환자를 위한 공격적 치료 형태는 골수 이식, 및 혈액 제품 지원 (예를 들어, 수혈) 및 조혈 성장 인자 (예를 들어, 에리트로포이에틴)에 의한 지지적 관리를 포함한다. MDS를 치료하기 위해 다른 작용제: 5-아자시티딘, 데시타빈 및 레날리도미드가 빈번하게 사용된다. 일부 경우에, 철 킬레이트화제 데페록사민 (데스페랄(Desferal)®) 및 데페라시록스 (엑스자이드(Exjade)®)가 또한 투여될 수 있다.

[0892] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 암 또는 백혈병 줄기 세포를 갖는 백혈병을 치료하는데 사용된다. 예를 들어, 백혈병 줄기 세포는 $CD34^{+}/CD38^{-}$ 백혈병 세포이다.

[0893] 본 발명은 특히, 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 한 측면에서, 암은 백혈병 (예컨대 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병 및 골수이형성 증후군)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 혈액암 및 림프종 (예컨대 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 버킷 림프종 및 소세포- 및 대세포-여포성 림프종)을 포함하는 악성 림프증식성 상태이다.

[0894] 한 측면에서, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 다른 암 및 악성종양, 예컨대 비제한적으로 예를 들어, B-세포 급성 림프성 백혈병 ("BALL"), T-세포 급성 림프성 백혈병 ("TALL"), 급성 림프성 백혈병 (ALL)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 급성 백혈병; 예를 들어, 만성 골수 백혈병 (CML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 만성 백혈병; 예를 들어, B 세포 전 림프구성 백혈병, 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 대 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 모발상 세포 백혈병, 소세포- 또는 대세포-여포성 림프종, 악성 림프증식성 상태, MALT 림프종, 외투 세포 림프종, 변연부 림프종, 다발성 골수종, 골수이형성증 및 골수이형성 증후군, 비-호지킨 림프종, 형질모구성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트름 마크로글로불린혈증, 및 골수 혈액 세포의 비유효 생산 (또는 이형성증)과 연관된 혈액 상태의 다양한 집단인 "전백혈병"을 포함하나 이에 제한되지는 않는 추가의 혈액암 또는 혈액 상태 등을 치료하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 CAR-변형된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)는 단독으로, 또는 희석제 및/또는 다른 성분, 예컨대 IL-2 또는 다른 시토카인 또는 세포 집단과 조합되어 제약 조성물로서 투여될 수 있다.

[0895] 본 발명은 또한 CLL-1-발현 세포를 포함하는 세포의 집단을 CLL-1-발현 세포에 결합하는 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)와 접촉시키는 것을 포함하는, CLL-1-발현 세포 집단의 증식을 억제 또는 그를 감소시키는 방법을 제공한다. 구체적 측면에서, 본 발명은 CLL-1-발현 암 세포 집단을 CLL-1-발현 세포에 결합하는 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)와 접촉시키는 것을 포함하는, CLL-1을 발현하는 암 세포의 증식을 억제 또는 그의 집단을 감소시키는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 본 발명은 CLL-1-발현 암 세포 집단을 CLL-1-발현 세포에 결합하는 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)와 접촉시키는 것을 포함하는, CLL-1을 발현하는 암 세포의 증식을 억제 또는 그의 집단을 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 측면에서, 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)는 골수성 백혈병 또는 CLL-1-발현 세포와 연관된 또 다른 암을 갖는 대상체 또는 그에 대한 동물 모델에서 세포 및/또는 암 세포의 수량, 수, 양 또는 백분율을 음성 대조군에 비해 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 65%, 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 감소시킨다. 한 측면에서, 대상체는 인간이다.

[0896] 본 발명은 또한 CLL-1-발현 세포와 연관된 질환 (예를 들어, CLL-1을 발현하는 혈액암 또는 비정형 암)의 예방, 치료 및/또는 관리를 필요로 하는 대상체에게 CLL-1-발현 세포에 결합하는 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)를 투여하는 것을 포함하는, CLL-1-발현 세포와 연관된 질환 (예를 들어, CLL-1을 발현하는 혈액암 또는 비정형 암)을 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 대상체는 인간이다. CLL-1-발현 세포와 연관된 장애의 비제한적 예는 자가면역 장애 (예컨대 루푸스), 염증성 장애 (예컨대 알레르기 및 천식) 및 암 (예컨대 CLL-1을 발현하는 혈액암 또는 비정형 암)을 포함한다.

[0897] 본 발명은 또한 CLL-1-발현 세포와 연관된 질환의 예방, 치료 및/또는 관리를 필요로 하는 대상체에게 CLL-1-발

현 세포에 결합하는 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)를 투여하는 것을 포함하는, CLL-1-발현 세포와 연관된 질환을 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 대상체는 인간이다.

[0898] 본 발명은 CLL-1-발현 세포와 연관된 암의 재발의 예방을 필요로 하는 대상체에게 CLL-1-발현 세포에 결합하는 본 발명의 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)를 투여하는 것을 포함하는, CLL-1-발현 세포와 연관된 암의 재발을 예방하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 방법은 CLL-1-발현 세포에 결합하는 본원에 기재된 CLL-1 CAR-발현 세포 (예를 들어, CLL-1 CART 세포 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포)의 유효량을 또 다른 요법의 유효량과 조합하여 그를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0899] 조합 요법

[0900] 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 다른 공지된 작용제 및 요법과 조합되어 사용될 수 있다. 본원에 사용된 "조합되어" 투여된은, 2종 (또는 그 초과)의 상이한 치료가 대상체가 장애를 앓는 동안 대상체에게 전달됨을 의미하고, 예를 들어 대상체가 장애로 진단된 후 및 장애가 치유 또는 제거되기 전 또는 치료가 다른 이유로 중지되기 전에 2종 이상의 치료가 전달된다. 일부 실시양태에서, 1종의 치료의 전달은 제2 전달이 개시될 때 여전히 발생하여, 투여 관점에서 중첩된다. 이것은 때때로 본원에서 "동시" 또는 "공동 전달"로 지칭된다. 다른 실시양태에서, 1종의 치료의 전달은 다른 치료의 전달이 개시되기 전에 종료된다. 어느 하나의 경우의 일부 실시양태에서, 조합 투여로 인해 치료가 보다 효과적이다. 예를 들어, 제2 치료가 보다 효과적이고, 예를 들어 더 적은 제2 치료에 의해 동등한 효과가 관찰되거나, 또는 제1 치료의 부재 하에 제2 치료가 투여된 경우에 관찰될 것보다 더 큰 정도로 제2 치료가 증상을 감소시키거나, 또는 제1 치료에 의해 유사한 상황이 관찰된다. 일부 실시양태에서, 증상 또는 장애와 관련된 다른 파라미터의 감소가 다른 것의 부재 하에 전달된 1종의 치료에 의해 관찰될 것보다 더 크도록 전달된다. 2종의 치료의 효과는 부분적으로 부가적이거나, 전체적으로 부가적이거나, 또는 부가적인 것보다 클 수 있다. 전달된 제1 치료의 효과가 제2 치료가 전달될 때 여전히 검출가능하도록 전달이 이루어질 수 있다.

[0901] 본원에 기재된 CAR-발현 세포 및 적어도 1종의 추가의 치료제는 동시에, 동일한 조성물 내에 또는 개별 조성물 내에, 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 순차적인 투여를 위해, 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 먼저 투여될 수 있고 추가의 작용제는 두 번째로 투여될 수 있거나, 투여 순서가 역전될 수 있다.

[0902] CAR 요법 및/또는 다른 치료제, 절차 또는 양식은 장애의 활성 기간 동안, 또는 질환의 완화 또는 보다 낮은 활성 기간 동안 투여될 수 있다. CAR 요법은 장애의 다른 치료 전, 치료와 공동으로, 치료-후, 또는 완화 동안 투여될 수 있다.

[0903] 조합되어 사용되는 경우에, CAR 요법 및 추가의 작용제 (예를 들어, 제2 또는 제3 작용제), 또는 모두는 개별적으로, 예를 들어 단독요법으로서 사용되는 각각의 작용제의 양 또는 투여량보다 높거나, 낮거나, 또는 동일한 양 또는 용량으로 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, CAR 요법, 추가의 작용제 (예를 들어, 제2 또는 제3 작용제), 또는 모두의 투여되는 양 또는 투여량은 개별적으로, 예를 들어 단독요법으로서 사용되는 각각의 작용제의 양 또는 투여량보다 낮다 (예를 들어, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 또는 적어도 50%). 다른 실시양태에서, 목적하는 효과 (예를 들어, 암의 치료)를 발생시키는 CAR 요법, 추가의 작용제 (예를 들어, 제2 또는 제3 작용제), 또는 모두의 양 또는 투여량은 동일한 치료 효과를 달성하기 위해 요구되는 개별적으로 예를 들어 단독요법으로서 사용되는 각각의 작용제의 양 또는 투여량보다 낮다 (예를 들어, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 또는 적어도 50% 낮다).

[0904] 추가 측면에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 수술, 화학요법, 방사선, 면역억제제, 예컨대 시클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 미코페놀레이트, 및 FK506, 항체, 또는 다른 면역절제제, 예컨대 캅파트, 항-CD3 항체 또는 다른 항체 치료제, 시토킨, 플루다라빈, 시클로스포린, FK506, 라파마이신, 미코페놀산, 스테로이드, FR901228, 시토킨, 및 방사선조사, 켈트릭스 백신, 예컨대 문헌 [Izumoto et al. 2008 J Neurosurg 108:963-971]에 기재된 것과 조합되어 치료 요법에서 사용될 수 있다.

[0905] 특정 경우에, 본 발명의 화합물은 다른 치료제, 예컨대 다른 항암제, 항알레르기제, 항오심제 (또는 항구토제), 통증 완화제, 세포보호제 및 그의 조합과 조합된다.

[0906] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 화학요법제와 조합되어 사용될 수 있다. 예시적인 화학요법제는 안트라시클린 (예를 들어, 독소루비신 (예를 들어, 리포솜 독소루비신)), 빈카 알칼로이드 (예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈테신, 비노렐빈), 알킬화제 (예를 들어, 시클로포스파미드, 테카르바진, 멜팔란, 이포

스파미드, 테모졸로미드), 면역 세포 항체 (예를 들어, 알렘투주맵, 겐투주맵, 리툽시맵, 오파투무맵, 토시투모맵, 브렌투시맵), 항대사물 (예를 들어, 폴산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제 (예를 들어, 플루다라빈) 포함), mTOR 억제제, TNFR 글루코코르티코이드 유도된 TNFR 관련 단백질 (GITR) 효능제, 프로테아솜 억제제 (예를 들어, 아클라시노마이신 A, 글리오톡신 또는 보르테조밐); 면역조절제, 예컨대 탈리도미드 또는 탈리도미드 유도체 (예를 들어, 레날리도미드)를 포함한다.

[0907] 조합 요법에 사용하기 위해 고려되는 일반적 화학요법제는 아나스트로졸 (아리미덱스(Arimidex)®), 비칼루타미드 (카소덱스(Casodex)®), 블레오마이신 술페이트 (블레녹산(Blenoxane)®), 부숭판 (밀레란®), 부숭판 주사 (부숭펙스®), 카페시타빈 (젤로다(Xeloda)®), N4-펜톡시카르보닐-5-데옥시-5-플루오로시티딘, 카르보플라틴 (파라플라틴(Paraplatin)®), 카르무스틴 (BiCNU®), 클로람부실 (루케란(Leukeran)®), 시스플라틴 (플라티놀(Platinol)®), 클라드리빈 (류스타틴(Leustatin)®), 시클로포스파미드 (시톡산® 또는 네오사르®), 시타라빈, 시토신 아라비노시드 (시토사르-U®), 시타라빈 리포솜 주사 (데포사이트®), 다카르바진 (DTIC-덤)®), 닥티노마이신 (악티노마이신 D(Actinomycin D), 코스메간(Cosmegen)), 다우노루비신 히드로클로라이드 (세루비딘(Cerubidine)®), 다우노루비신 시트레이트 리포솜 주사 (다우녹숨®), 텍사메타손, 도세탁셀 (탁소테레(Taxotere)®), 독소루비신 히드로클로라이드 (아드리아마이신(Adriamycin)®, 루벡스(Rubex)®), 에토포시드 (베페시드(Vepesid)®), 플루다라빈 포스페이트 (플루다라(Fludara)®), 5-플루오로우라실 (아드루실(Adrucil)®), 에푸덱스(Efudex)®, 플루타미드 (유렉신(Eulexin)®), 테자시티빈, 겐시타빈 (디플루오로데옥시시티딘), 히드록시우레아 (히드레아(Hydrea)®), 이다루비신 (이다마이신(Idamycin)®), 이포스파미드 (이펙스(IFEX)®), 이리노테칸 (캄프토사르(Camptosar)®), L-아스파라기나제 (엘스파르(ELSPAR)®), 류코보린 칼슘, 멜팔란 (알케란(Alkeran)®), 6-메르캅토피리딘 (퓨린톨(Purinethol)®), 메토티렉세이트 (폴렉스(Folex)®), 미톡산트론 (노반트론(Novantrone)®), 밀로타르그, 파클리탁셀 (탁솔(Taxol)®), 포에닉스(phoenix) (이트롭90/MX-DTPA), 펜토스타틴, 카르무스틴 이식물을 갖는 폴리페프로산 20 (글리아델(Gliadel)®), 타목시펜 시트레이트 (놀바덱스(Nolvadex)®), 테니포시드 (부몬(Vumon)®), 6-티오구아닌, 티오테파, 티라파자민 (티라존(Tirazone)®), 주사용 토포테칸 히드로클로라이드 (하이캄틴(Hycamptin)®), 빈블라스틴 (벨반(Velban)®), 빈크리스틴 (온코빈(Oncovin)®), 및 비노렐빈 (나벨빈(Navelbine)®)을 포함한다.

[0908] 화학요법제 및 본원에 기재된 CLL-1 CAR 분자를 발현하는 세포의 조합을 사용한 처리는 본원에 기재된 혈액암, 예를 들어 AML을 치료하는데 사용될 수 있다. 실시양태에서, 화학요법제 및 CLL-1 CAR-발현 세포의 조합은 예를 들어 AML을 갖는 대상체에서 암 줄기 세포, 예를 들어 백혈병성 줄기 세포를 표적화, 예를 들어 사멸시키는 데 유용하다. 실시양태에서, 화학요법제 및 CLL-1 CAR-발현 세포의 조합은 최소 잔류 질환 (MRD)을 치료하는데 유용하다. MRD는 치료, 예를 들어 화학요법 동안 또는 치료 후에 대상체에서 잔류하는 적은 수의 암 세포를 지칭한다. MRD는 종종 재발의 주요 원인이다. 본 발명은 화학요법제를, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 CLL-1 CAR-발현 세포와 조합하여 투여하는 것을 포함하는, 암, 예를 들어 MRD를 치료하는 방법을 제공한다.

[0909] 한 실시양태에서, 화학요법제는 CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포의 투여 전에 투여된다. 1회 초과 화학요법제의 투여가 요구되는 화학치료 요법에서, 화학치료 요법은 CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포의 투여 전에 개시 또는 완료된다. 실시양태에서, 화학요법제는 CAR 분자를 발현하는 세포의 투여의 적어도 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 20일, 25일, 또는 30일 전에 투여된다. 실시양태에서, 화학치료 요법은 CAR 분자를 발현하는 세포의 투여의 적어도 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 20일, 25일, 또는 30일 전에 개시 또는 완료된다. 실시양태에서, 화학요법제는 예를 들어 정상 또는 비-암 세포 상에서의 CLL-1 발현과 비교하여, 암 세포, 예를 들어 종양 세포 상에서의 CLL-1 발현을 증가시키는 화학요법제이다. CLL-1 발현은 예를 들어 면역조직화학적 염색 또는 유동 세포측정 분석에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 화학요법제는 시타라빈 (Ara-C)이다.

[0910] 본 발명의 화합물과의 조합을 위한 특정한 관심 항암제는 항대사물; 칼슘 의존성 포스포타제 칼시뉴린 또는 p70S6 키나제 FK506를 억제하거나, p70S6 키나제를 억제하는 약물; 알킬화제; mTOR 억제제; 면역조절제; 안트라시클린; 빈카 알칼로이드; 프로테오솜 억제제; GITR 효능제; 단백질 티로신 포스포타제 억제제; CDK4 키나제 억제제; BTK 키나제 억제제; MKN 키나제 억제제; DGK 키나제 억제제; 또는 종양용해 바이러스를 포함한다.

[0911] 예시적인 항대사물은, 비제한적으로, 폴산 길항제 (본원에서 항폴레이트제로도 지칭됨), 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제, 메토티렉세이트 (류마트렉스(Rheumatrex)®, 트렉살(Trexall)®), 5-플루오로우라실 (아드루실(Adrucil)®, 에푸덱스(Efudex)®, 플루오로플렉스(Fluoroplex)®, 플루수리딘 (FUDF®), 시타라빈 (시토사르-U®, 타라빈 PFS), 6-메르캅토피리딘 (퓨리-네톨(Puri-Nethol)®)), 6-티오구아닌

(티오구아닌 타블로이드(Thioguanine Tabloid)®), 플루다라빈 포스페이트 (플루다라(Fludara)®), 펜토스타틴 (니펜트(Nipent)®), 페메트렉세드 (알림타(Alimta)®), 칼티트렉세드 (토무덱스(Tomudex)®), 클라드리빈 (류스타틴(Leustatin)®), 클로파라빈 (클로파렉스(Clofarex)®), 클로라르(Clolar)®, 메르캅토피린 (퓨리-네톨®), 카페시타빈 (젤로다(Xeloda)®), 벨라라빈 (아라논(Arranon)®), 아자시티딘 (비다자(Vidaza)®) 및 겐시타빈 (겐자르(Gemzar)®)을 포함한다. 바람직한 항대사물은 예를 들어 5-플루오로우라실 (아드루실(Adrucil)®, 에푸덱스(Efudex)®, 플루오로플렉스(Fluoroplex)®, 플록수리딘 (FUDF®), 카페시타빈 (젤로다®), 페메트렉세드 (알림타(Alimta)®), 칼티트렉세드 (토무덱스(Tomudex)®) 및 겐시타빈 (겐자르®)을 포함한다.

[0912] 예시적인 알킬화제는 비제한적으로 질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로소우레아 및 트리아젠): 우라실 머스타드 (아미노우라실 머스타드(Aminouracil Mustard)®, 클로레타미나실 (Chlorethaminacil)®, 데메틸도판(Demethylidopan)®, 데스메틸도판(Desmethylidopan)®, 해만타민 (Haemanthamine)®, 노르도판(Nordopan)®, 우라실 질소 머스타드(Uracil nitrogen mustard)®, 우라실로스트 (Uracillost)®, 우라실모스타자(Uracilmostaza)®, 우라무스틴(Uramustin)®, 우라무스틴(Uramustine)®, 클로르메틴 (머스타르겐(Mustargen)®), 시클로포스파미드 (시톡산®, 네오사르(Neosar)®, 클라펜(Clafen)®, 엔독산(Endoxan)®, 프로시톡스(Procytox)®, 레비문(Revimmune)™), 이포스파미드 (미톡사나(Mitoxana)®), 멜팔란 (알케란®), 클로람부실 (류케란®), 피포브로만 (아메델(Amedel)®, 베르사이트(Vercyte)®), 트리에틸렌멜라민 (헤멜(Hemel)®, 헥살렌(Hexalen)®, 헥사스타트(Hexastat)®), 트리에틸렌티오포스포아민, 테모줄로미드 (테모다르(Temodar)®), 티오테파 (티오플렉스(Thioplex)®), 부솔판 (부실벡스(Busilvex)®, 밀레란®), 카르무스틴 (BiCNU®), 로무스틴 (세뉴(CeeNU)®), 스트렙토조신 (자노사르(Zanosar)®), 및 다카르바진 (DTIC-돔®)을 포함한다. 추가의 예시적인 알킬화제는 비제한적으로 옥살리플라틴 (엘록사틴(Eloxatin)®); 테모줄로미드 (테모다르® 및 테모달®); 닥티노마이신 (악티노마이신-D, 코스메겐(Cosmegen)®으로도 공지됨); 멜팔란 (L-PAM, L-사르코리신, 및 페닐알라닌 머스타드, 알케란®으로도 공지됨); 알트레타민 (헥사메틸멜라민 (HMM), 헥살렌®으로도 공지됨); 카르무스틴 (BiCNU®); 벤다무스틴 (트레안다(Treanda)®); 부솔판 (부솔팩스® 및 밀레란®); 카르보플라틴 (파라플라틴®); 로무스틴 (CCNU, 세뉴®로도 공지됨); 시스플라틴 (CDDP, 플라티놀® 및 플라티놀-AQ®로도 공지됨); 클로람부실 (류케란®); 시클로포스파미드 (시톡산® 및 네오사르®); 다카르바진 (DTIC, DIC 및 이미다졸 카르복사아미드, DTIC-돔®으로도 공지됨); 알트레타민 (헥사메틸멜라민 (HMM), 헥살렌®으로도 공지됨); 이포스파미드 (이팩스®); 프레드누무스틴; 프로카르바진 (마툴란(Matulane)®); 메클로레타민 (질소 머스타드, 무스틴 및 메클로로에타민 히드로클로라이드, 머스타르겐®으로도 공지됨); 스트렙토조신 (자노사르®); 티오테파 (티오포스포아미드, TESPА 및 TSPA, 티오플렉스®로도 공지됨); 시클로포스파미드 (엔독산®, 시톡산®, 네오사르®, 프로시톡스®, 레비문®); 및 벤다무스틴 HCl (트레안다®)을 포함한다.

[0913] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 플루다라빈, 시클로포스파미드 및/또는 리톡시맵과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 플루다라빈, 시클로포스파미드, 및 리톡시맵 (FCR)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 예를 들어, 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실 (del(17p), 예를 들어 백혈병성 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함하지 않는다. 실시양태에서, 플루다라빈은 약 10-50 mg/m² (예를 들어, 약 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45, 또는 45-50 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 시클로포스파미드는 약 200-300 mg/m² (예를 들어, 약 200-225, 225-250, 250-275, 또는 275-300 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 리톡시맵은 약 400-600 mg/m² (예를 들어, 400-450, 450-500, 500-550, 또는 550-600 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다.

[0914] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 벤다무스틴 및 리톡시맵과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 예를 들어, 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실 (del(17p), 예를 들어 백혈병성 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포

함하지 않는다. 실시양태에서, 벤다무스틴은 약 70-110 mg/m² (예를 들어, 70-80, 80-90, 90-100, 또는 100-110 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 리툭시맵은 약 400-600 mg/m² (예를 들어, 400-450, 450-500, 500-550, 또는 550-600 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다.

[0915] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맵, 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및/또는 코르티코스테로이드 (예를 들어, 프레드니손)와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맵, 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니손 (R-CHOP)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL)을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 비벌키 제한-병기 DLBCL을 갖는다 (예를 들어, 7 cm 미만의 크기/직경을 갖는 종양을 포함함). 실시양태에서, 대상체는 방사선으로 R-CHOP과 조합되어 치료된다. 예를 들어, 대상체에게 R-CHOP (예를 들어 1-6사이클, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6사이클의 R-CHOP)이 투여된 다음, 방사선이 투여된다. 일부 경우에, 대상체에게 방사선 후에 R-CHOP (예를 들어 1-6사이클, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6사이클의 R-CHOP)이 투여된다.

[0916] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 에토포시드, 프레드니손, 빈크리스틴, 시클로포스파미드, 독소루비신 및/또는 리툭시맵과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 에토포시드, 프레드니손, 빈크리스틴, 시클로포스파미드, 독소루비신 및 리툭시맵 (EPOCH-R)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 용량-조정된 EPOCH-R (DA-EPOCH-R)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 B 세포 림프종, 예를 들어 Myc-재배열 공격성 B 세포 림프종을 갖는다.

[0917] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맵 및/또는 레날리도미드와 조합되어 대상체에게 투여된다. 레날리도미드 ((RS)-3-(4-아미노-1-옥소 1,3-디히드로-2H-이소인돌-2-일)피페리딘-2,6-디온)는 면역조절제이다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맵 및 레날리도미드와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 여포성 림프종 (FL) 또는 외투 세포 림프종 (MCL)을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 FL을 갖고, 이전에 암 요법으로 치료받은 바 없다. 실시양태에서, 레날리도미드는 약 10-20 mg (예를 들어, 10-15 또는 15-20 mg)의 투여량으로, 예를 들어 매일 투여된다. 실시양태에서, 리툭시맵은 약 350-550 mg/m² (예를 들어, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475, 또는 475-500 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다.

[0918] 예시적인 mTOR 억제제는, 예를 들어 템시롤리무스; 리다포롤리무스 (공식적으로 테포롤리무스로서 공지됨, (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-디히드록시-19,30-디메톡시-15,17,21,23,29,35-헥사메틸-2,3,10,14,20-펜타옥소-11,36-디옥사-4-아자트리시클로[30.3.1.0^{4,9}]헥사트리아콘타-16,24,26,28-테트라엔-12-일]프로필]-2-메톡시시클로헥실 디메틸포스피네이트, 또한 AP23573 및 MK8669로도 공지되고 PCT 공개 번호 WO 03/064383에 기재됨); 에베롤리무스 (아피니토르(Afinitor)® 또는 RAD001); 라파마이신 (AY22989, 시롤리무스(Sirolimus)®); 시마피모드 (CAS 164301-51-3); 엠시롤리무스, (5-{2,4-비스[(3S)-3-메틸모르폴린-4-일]피리도[2,3-d]피리미딘-7-일}-2-메톡시페닐)메탄올 (AZD8055); 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-히드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온 (PF04691502, CAS 1013101-36-4); 및 N²-[1,4-디옥소-4-[[4-(4-옥소-8-페닐-4H-1-벤조피란-2-일)모르폴리늄-4-일]메톡시]부틸-L-아르기닐글리실-L-α-아스파르트릴-L-세린- (서열식별번호: 378), 내부 염 (SF1126, CAS 936487-67-1) 및 XL765를 포함한다.

[0919] 예시적인 면역조절제는 예를 들어 아푸투주맵 (로슈(Roche)®로부터 이용가능함); 페그필그라스탐 (뉴라스타(Neulasta)®); 레날리도미드 (CC-5013, 레블리미드(Revlimid)®); 탈리도미드 (탈로미드(Thalomid)®), 악티미드 (CC4047); 및 IRX-2 (인터류킨 1, 인터류킨 2, 및 인터페론 γ를 비롯한 인간 시토카인의 혼합물, CAS 951209-71-5, IRX 테라퓨틱스(IRX Therapeutics)로부터 이용가능함)를 포함한다.

[0920] 예시적인 안트라시클린은 예를 들어 독소루비신 (아드리아마이신® 및 루벡스®); 블레오마이신 (블레녹산®); 다우노루비신 (다우노루비신 히드로클로라이드, 다우노마이신, 및 루비도마이신 히드로클로라이드, 세루비딘®); 다우노루비신 리포솜 (다우노루비신 시트레이트 리포솜, 다우녹숨®); 미톡산트론 (DHAD, 노반트론®); 에피루비신 (엘렌스(Ellence)™); 이다루비신 (이다마이신®, 이다마이신 PFS®); 미토마이신 C (뮤타마이신

(Mutamycin®); 겔다나마이신; 헤르비마이신; 라비도마이신; 및 데스아세틸라비도마이신을 포함한다.

- [0921] 예시적인 빈카 알칼로이드는 예를 들어 비노렐빈 타르트레이트 (나벨빈®), 빈크리스틴 (온코빈®), 및 빈데신 (엘디신(Elidisin)®); 빈블라스틴 (빈블라스틴 술페이트, 빈카류코블라스틴 및 VLB, 알카반(Alkaban)-AQ® 및 벨반®으로도 공지됨); 및 비노렐빈 (나벨빈®)을 포함한다.
- [0922] 예시적인 프로테오솜 억제제는 보르테조미 (벨케이드(Velcade)®); 카르필조미 (PX-171-007, (S)-4-메틸-N-((S)-1-(((S)-4-메틸-1-((R)-2-메틸옥시란-2-일)-1-옥소펜탄-2-일)아미노)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)-2-((S)-2-(2-모르폴리노아세트아미도)-4-페닐부탄아미도)-펜탄아미드); 마리조미 (NPI-0052); 익사조미 시트레이트 (MLN-9708); 텔란조미 (CEP-18770); 및 0-메틸-N-[(2-메틸-5-티아졸릴)카르보닐]-L-세틸-0-메틸-N-[(1S)-2-[(2R)-2-메틸-2-옥시라닐]-2-옥소-1-(페닐메틸)에틸]-L-세린아미드 (ONX-0912)를 포함한다.
- [0923] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 브렌톡시맵과 조합되어 대상체에게 투여된다. 브렌톡시맵은 항-CD30 항체 및 모노클로날 아우리스타틴 E의 항체-약물 접합체이다. 실시양태에서, 대상체는 호지킨 림프종 (HL), 예를 들어 재발성 또는 불응성 HL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 CD30+ HL을 포함한다. 실시양태에서, 대상체는 자가 줄기 세포 이식 (ASCT)을 겪은 바 있다. 실시양태에서, 대상체는 ASCT를 겪은 바 없다. 실시양태에서, 브렌톡시맵은 약 1-3 mg/kg (예를 들어, 약 1-1.5, 1.5-2, 2-2.5, 또는 2.5-3 mg/kg)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로, 예를 들어 3주마다 투여된다.
- [0924] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 브렌톡시맵 및 다카르바진과 조합되어 또는 브렌톡시맵 및 벤다무스틴과 조합되어 대상체에게 투여된다. 다카르바진은 5-(3,3-디메틸-1-트리아제닐)이미다졸-4-카르복시아미드의 화학 명칭을 갖는 알킬화제이다. 벤다무스틴은 4-[5-[비스(2-클로로에틸)아미노]-1-메틸벤즈이미다졸-2-일]부탄산의 화학 명칭을 갖는 알킬화제이다. 실시양태에서, 대상체는 호지킨 림프종 (HL)을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 이전에 암 요법으로 치료받은 바 없다. 실시양태에서, 대상체는 적어도 60세, 예를 들어 60, 65, 70, 75, 80, 85세 또는 그 초과이다. 실시양태에서, 다카르바진은 약 300-450 mg/m² (예를 들어, 약 300-325, 325-350, 350-375, 375-400, 400-425, 또는 425-450 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 벤다무스틴은 약 75-125 mg/m² (예를 들어 75-100 또는 100-125 mg/m², 예를 들어 약 90 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 브렌톡시맵은 약 1-3 mg/kg (예를 들어, 약 1-1.5, 1.5-2, 2-2.5, 또는 2.5-3 mg/kg)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로, 예를 들어 3주마다 투여된다.
- [0925] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CD20 억제제, 예를 들어 항-CD20 항체 (예를 들어, 항-CD20 단일- 또는 이중특이적 항체) 또는 그의 단편과 조합되어 대상체에게 투여된다. 예시적인 항-CD20 항체는 리툭시맵, 오파투무맵, 오크렐리주맵, 벨투주맵, 오비누투주맵, TRU-015 (트루비온 파마슈티칼스(Trubion Pharmaceuticals)), 오키라투주맵, 및 프로131921 (제넨테크(Genentech))를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 문헌 [Lim et al. Haematologica. 95.1(2010):135-43]을 참조한다.
- [0926] 일부 실시양태에서, 항-CD20 항체는 리툭시맵을 포함한다. 리툭시맵은 예를 들어 www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/103705s53111b1.pdf에 기재된 바와 같은, CD20에 결합하고 CD20 과다발현 세포의 세포용해를 유발하는 키메라 마우스/인간 모노클로날 항체 IgG1 카파이다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맵과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 CLL 또는 SLL을 갖는다.
- [0927] 일부 실시양태에서, 리툭시맵은 정맥내로, 예를 들어 정맥내 주입으로서 투여된다. 예를 들어, 각각의 주입은 약 500-2000 mg (예를 들어, 약 500-550, 550-600, 600-650, 650-700, 700-750, 750-800, 800-850, 850-900, 900-950, 950-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400, 1400-1500, 1500-1600, 1600-1700, 1700-1800, 1800-1900, 또는 1900-2000 mg)의 리툭시맵을 제공한다. 일부 실시양태에서, 리툭시맵은 150 mg/m² 내지 750 mg/m², 예를 들어 약 150-175 mg/m², 175-200 mg/m², 200-225 mg/m², 225-250 mg/m², 250-300 mg/m², 300-325 mg/m², 325-350 mg/m², 350-375 mg/m², 375-400 mg/m², 400-425 mg/m², 425-450 mg/m², 450-475 mg/m², 475-500 mg/m², 500-525 mg/m², 525-550 mg/m², 550-575 mg/m², 575-600 mg/m², 600-625 mg/m², 625-650 mg/m², 650-675 mg/m², 또는 675-700 mg/m²의 용량으로 투여되며, 여기서 m²는 대상체의 체표면적을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 리툭시맵은 적어도 4일, 예를 들어 4, 7, 14, 21, 28, 35일, 또는 그 초과에 투여 간격으로 투여된다. 예를 들어, 리툭시맵은 적어도 0.5주, 예를 들어 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 또는 그 초과에 투여 간격으로

투여된다. 일부 실시양태에서, 리툭시맙은, 예를 들어 적어도 2주, 예를 들어 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20주 또는 그 초과와 일정 기간 동안 본원에 기재된 용량 및 투여 간격으로 투여된다. 예를 들어, 리툭시맙은 치료 사이클당 총 적어도 4용량 (예를 들어, 치료 사이클당 적어도 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 또는 그 초과와 용량) 동안 본원에 기재된 용량 및 투여 간격으로 투여된다.

[0928] 일부 실시양태에서, 항-CD20 항체는 오파투무맙을 포함한다. 오파투무맙은 대략 149 kDa의 분자량을 갖는 항-CD20 IgG1 κ 인간 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 오파투무맙은 트랜스제닉 마우스 및 하이브리도마 기술을 사용하여 생성되고, 재조합 무린 세포주 (NS0)로부터 발현 및 정제된다. 예를 들어, www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/1253261b1.pdf; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT01363128, NCT01515176, NCT01626352, 및 NCT01397591을 참조한다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 오파투무맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 CLL 또는 SLL을 갖는다.

[0929] 일부 실시양태에서, 오파투무맙은 정맥내 주입으로 투여된다. 예를 들어, 각각의 주입은 약 150-3000 mg (예를 들어, 약 150-200, 200-250, 250-300, 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550, 550-600, 600-650, 650-700, 700-750, 750-800, 800-850, 850-900, 900-950, 950-1000, 1000-1200, 1200-1400, 1400-1600, 1600-1800, 1800-2000, 2000-2200, 2200-2400, 2400-2600, 2600-2800, 또는 2800-3000 mg)의 오파투무맙을 제공한다. 실시양태에서, 오파투무맙은, 예를 들어 약 11 용량 동안, 예를 들어 24주 동안 약 300 mg의 출발 투여량에 이어서 2000 mg으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 오파투무맙은 적어도 4일, 예를 들어 4, 7, 14, 21, 28, 35일 또는 그 초과와 투여 간격으로 투여된다. 예를 들어, 오파투무맙은 적어도 1주, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60주 또는 그 초과와 투여 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 오파투무맙은 일정 기간, 예를 들어 적어도 1주, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 40, 50, 60주 또는 그 초과, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 그 초과, 또는 1, 2, 3, 4, 5년 또는 그 초과 동안 본원에 기재된 용량 및 투여 간격으로 투여된다. 예를 들어, 오파투무맙은 치료 사이클당 총 적어도 2 용량 (예를 들어, 치료 사이클당 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20 또는 그 초과와 용량) 동안 본원에 기재된 용량 및 투여 간격으로 투여된다.

[0930] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 오크렐리주맙을 포함한다. 오크렐리주맙은, 예를 들어 임상 시험 식별자 번호 NCT00077870, NCT01412333, NCT00779220, NCT00673920, NCT01194570, 및 문헌 [Kappos et al. Lancet. 19.378(2011):1779-87]에 기재된 바와 같은 인간화 항-CD20 모노클로날 항체이다.

[0931] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 벨투주맙을 포함한다. 벨투주맙은 CD20에 대한 인간화 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT00547066, NCT00546793, NCT01101581, 및 문헌 [Goldenberg et al. Leuk Lymphoma. 51(5)(2010):747-55]을 참조한다.

[0932] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 GA101을 포함한다. GA101 (오비누투주맙 또는 R05072759로도 불림)은 인간화 및 글리코-조작된 항-CD20 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Robak. Curr. Opin. Investig. Drugs. 10.6(2009):588-96]; 임상 시험 식별자 번호: NCT01995669, NCT01889797, NCT02229422, 및 NCT01414205; 및 www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/125486s0001b1.pdf를 참조한다.

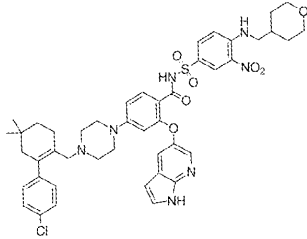
[0933] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 AME-133v를 포함한다. AME-133v (LY2469298 또는 오카라투주맙으로도 불림)는 리툭시맙과 비교하여 Fc γ RIIIa 수용체에 대해 증가된 친화도 및 증진된 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 활성을 갖는 CD20에 대한 인간화 IgG1 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25; 및 Forero-Torres et al. Clin Cancer Res. 18.5(2012):1395-403]을 참조한다.

[0934] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 PRO131921을 포함한다. PRO131921은 리툭시맙과 비교하여 Fc γ RIIIa에 대한 보나온 결합 및 증진된 ADCC를 갖도록 조작된 인간화 항-CD20 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25; 및 Casulo et al. Clin Immunol. 154.1(2014):37-46]; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT00452127을 참조한다.

[0935] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 TRU-015를 포함한다. TRU-015는 CD20에 대한 항체의 도메인으로부터 유래된 항-CD20 융합 단백질이다. TRU-015는 모노클로날 항체보다 작지만, Fc-매개 이펙터 기능을 보유한다. 예를 들어, 문헌 [Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25]을 참조한다. TRU-015는 인간 IgG1 힌지, CH2, 및 CH3 도메인에 연결된 항-CD20 단일-쇄 가변 단편 (scFv)을 함유하지만, CH1 및 CL 도메인은 결여되어 있다.

[0936] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-CD20 항체는 치료제, 예를 들어 본원에 기재된 화학요법제 (예를 들어, 시토크산, 플루다라빈, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 탈메틸화제, 펩티드 백신, 항종양 항생제, 티로신 키나제 억제제, 알킬화제, 항미세관제 또는 항유사분열제), 항알레르기제, 항오심제 (또는 항구토제), 통증 완화제 또는 세포보호제에 접합되거나 달리 결합된다.

[0937] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 B-세포 림프종 2 (BCL-2) 억제제 (예를 들어, 베네토클락스, ABT-199 또는 GDC-0199로도 불림) 및/또는 리툽시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 베네토클락스 및 리툽시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 베네토클락스는 항아포토시스 단백질, BCL-2를 억제하는 소분자이다. 베네토클락스 (4-(4-([2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸시클로헥스-1-엔-1-일]메틸)피페라진-1-일)-N-({3-니트로-4-[(테트라히드로-2H-피란-4-일메틸)아미노]페닐}술포닐)-2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)벤즈아미드)의 구조가 하기 제시된다.



[0938]

[0939] 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 재발성 CLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다. 실시양태에서, 베네토클락스는 약 15-600 mg (예를 들어, 15-20, 20-50, 50-75, 75-100, 100-200, 200-300, 300-400, 400-500, 또는 500-600 mg)의 투여량으로, 예를 들어 매일 투여된다. 실시양태에서, 리툽시맙은 약 350-550 mg/m² (예를 들어, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475, 또는 475-500 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로, 예를 들어 매일 투여된다.

[0940]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 종양용해 바이러스와 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 종양용해 바이러스는 암 세포 내에서 선택적으로 복제될 수 있고, 그의 사멸을 촉발하거나 성장을 늦출 수 있다. 일부 경우에, 종양용해 바이러스는 비-암 세포에 대해서는 전혀 효과를 갖지 않거나 최소 효과를 갖는다. 종양용해 바이러스는 종양용해 아데노바이러스, 종양용해 단순 포진 바이러스, 종양용해 레트로바이러스, 종양용해 파르보바이러스, 종양용해 백시니아 바이러스, 종양용해 신드비스 바이러스, 종양용해 인플루엔자 바이러스 또는 종양용해 RNA 바이러스 (예를 들어, 종양용해 레오바이러스, 종양용해 뉴캐슬병 바이러스 (NDV), 종양용해 홍역 바이러스 또는 종양용해 수포성 구내염 바이러스 (VSV))를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0941]

일부 실시양태에서, 종양용해 바이러스는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 US2010/0178684 A1에 기재된 바이러스, 예를 들어 재조합 종양용해 바이러스이다. 일부 실시양태에서, 재조합 종양용해 바이러스는, 예를 들어 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 US2010/0178684 A1에 기재된 바와 같은, 면역 또는 염증 반응의 억제제를 코딩하는 핵산 서열 (예를 들어, 이중 핵산 서열)을 포함한다. 실시양태에서, 재조합 종양용해 바이러스, 예를 들어 종양용해 NDV는 아포토시스촉진 단백질 (예를 들어, 아포틴), 시토키인 (예를 들어, GM-CSF, 인터페론-감마, 인터류킨-2 (IL-2), 종양 괴사 인자-알파), 이류노글로불린 (예를 들어, ED-B 피브로넥틴에 대한 항체), 종양 연관 항원, 이중특이적 어댑터 단백질 (예를 들어, NDV HN 단백질 및 T 세포 공동-자극 수용체, 예컨대 CD3 또는 CD28에 대해 지시된 이중특이적 항체 또는 항체 단편; 또는 NDV HN 단백질에 대해 지시된 인간 IL-2와 단일쇄 항체 사이의 융합 단백질)을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Zamarin et al. Future Microbiol. 7.3(2012):347-67]을 참조하고, 그의 전문은 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, 종양용해 바이러스는 US 8591881 B2, US 2012/0122185 A1, 또는 US 2014/0271677 A1에 기재된 키메라 종양용해 NDV이고, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0942]

일부 실시양태에서, 종양용해 바이러스는 암 세포에서만 독점적으로 복제하도록 설계된 조건부 복제 아데노바이러스 (CRAd)를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Alemany et al. Nature Biotechnol. 18(2000):723-27]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 종양용해 아데노바이러스는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 문헌 [Alemany et al.]의 페이지 725의 표 1에 기재된 것을 포함한다.

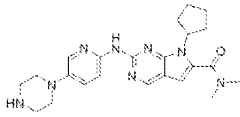
[0943]

예시적인 종양용해 바이러스는 하기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:

- [0944] 군 B 종양용해 아데노바이러스 (ColoAd1) (사이옥수스 테라퓨틱스 리미티드(PsiOxus Therapeutics Ltd.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02053220 참조);
- [0945] ONCOS-102 (이전에 CGTG-102로 불림), 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자 (GM-CSF)를 포함하는 아데노바이러스 임 (온코스 테라퓨틱스(Oncos Therapeutics)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01598129 참조);
- [0946] VCN-01, 인간 PH20 히알루로니다제를 코딩하는 유전자 변형된 종양용해 인간 아데노바이러스 (브이씨엔 바이오 사이언시스, 에스.엘.(VCN Biosciences, S.L.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02045602 및 NCT02045589 참조);
- [0947] 조건부 복제 아데노바이러스 ICOVIR-5, 탈조절된 망막모세포종/E2F 경로를 갖는 암 세포에서 선택적으로 복제하도록 변형된 야생형 인간 아데노바이러스 혈청형 5 (Had5)로부터 유래된 바이러스임 (인스티튜트 카탈라 드옹콜로지아(Institut Catala d'Oncologia)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01864759 참조);
- [0948] 셀리비르(Celyvir), ICOVIR5, 종양용해 아데노바이러스로 감염된 골수-유래 자가 중간엽 줄기 세포 (MSC)를 포함함 (호스피탈 인판틸 유니베르시타리오 니노 예수스(Hospital Infantil Universitario Nino Jesus), 스페인 마드리드/ 라몬 알레마니(Ramon Alemany) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01844661 참조);
- [0949] CG0070, 인간 E2F-1 프로모터가 본질적 E1a 바이러스 유전자의 발현을 구동하여 바이러스 복제 및 세포독성을 Rb 경로-결손 종양 세포로 제한한 조건부 복제 종양용해 혈청형 5 아데노바이러스 (Ad5)임 (콜드 제네시스, 인크.(Cold Genesys, Inc.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02143804 참조); 또는
- [0950] DNX-2401 (이전에 텔타-24-RGD로 명명됨), 망막모세포종 (Rb)-경로 결손 세포에서 선택적으로 복제되고 특정 RGD-결합 인테그린을 보다 효율적으로 발현하는 세포를 감염시키도록 조작된 아데노바이러스임 (클리니카 유니 베르시다드 드 나바라(Clinica Universidad de Navarra), 나바라 대학교/ 디엔에이트릭스, 인크.(DNatrix, Inc.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01956734 참조).
- [0951] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 종양용해 바이러스는 주사, 예를 들어 피하, 동맥내, 정맥내, 근육내, 척수강내, 또는 복강내 주사에 의해 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 종양용해 바이러스는 종양내로, 경피로, 경점막으로, 경구로, 비강내로, 또는 폐 투여를 통해 투여된다.
- [0952] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 Treg 세포 집단을 감소시키는 분자와 조합되어 대상체에게 투여된다. Treg 세포의 수를 감소시키는 (예를 들어, 고갈시키는) 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 CD25 고갈, 시클로포스파미드 투여, G1TR 기능 조절을 포함한다. 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 분리반출술 전 또는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 전에 대상체에서 Treg 세포의 수를 감소시키는 것은 종양 미세환경에서 원치않는 면역 세포 (예를 들어, Treg)의 수를 감소시키고 대상체의 재발 위험을 감소시키는 것으로 여겨진다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 G1TR 표적화하고/거나 G1TR 기능을 조절하는 분자, 예컨대 조절 T 세포 (Treg)를 고갈시키는 G1TR 효능제 및/또는 G1TR 항체와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 시클로포스파미드와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, G1TR 결합 분자 및/또는 G1TR 기능을 조절하는 분자 (예를 들어, G1TR 효능제 및/또는 Treg 고갈 G1TR 항체)는 CAR-발현 세포의 투여 전에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, G1TR 효능제는 세포의 분리반출술 전에 투여될 수 있다. 실시양태에서, 시클로포스파미드는 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입 또는 재-주입) 전 또는 세포의 분리반출술 전에 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 대상체는 암 (예를 들어, 고형 암 또는 혈액암, 예컨대 ALL 또는 CLL)을 갖는다. 한 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 ALL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 고형 암, 예를 들어 본원에 기재된 고형 암을 갖는다. 예시적인 G1TR 효능제는, 예를 들어 G1TR 융합 단백질 및 항-G1TR 항체 (예를 들어, 2가 항-G1TR 항체), 예컨대 예를 들어, 미국 특허 번호 6,111,090, 유럽 특허 번호 090505B1, 미국 특허 번호 8,586,023, PCT 공개 번호 WO 2010/003118 및 2011/090754에 기재된 G1TR 융합 단백질, 또는 예를 들어 미국 특허 번호 7,025,962, 유럽 특허 번호 1947183B1, 미국 특허 번호 7,812,135, 미국 특허 번호 8,388,967, 미국 특허 번호 8,591,886, 유럽 특허 번호 EP 1866339, PCT 공개 번호 WO 2011/028683, PCT 공개 번호 WO 2013/039954, PCT 공개 번호 WO2005/007190, PCT 공개 번호 WO 2007/133822, PCT 공개 번호 WO2005/055808, PCT 공개 번호 WO 99/40196, PCT 공개 번호 WO 2001/03720, PCT 공개 번호 WO99/20758, PCT 공개 번호 WO2006/083289, PCT 공개 번호 WO 2005/115451, 미국 특허 번호 7,618,632, 및 PCT 공개 번호 WO 2011/051726에 기재된 항-G1TR 항체를 포함한다.

- [0953] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 mTOR 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 mTOR 억제제, 예를 들어 라파로그, 예컨대 에베롤리무스와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 CAR-발현 세포 전에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 세포의 분리반출술 전에 투여될 수 있다.
- [0954] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 G1TR 효능제, 예를 들어 본원에 기재된 G1TR 효능제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, G1TR 효능제는 CAR-발현 세포 전에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, G1TR 효능제는 세포의 분리반출술 전에 투여될 수 있다.
- [0955] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 단백질 티로신 포스파타제 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 단백질 티로신 포스파타제 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 단백질 티로신 포스파타제 억제제는 SHP-1 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 SHP-1 억제제, 예컨대 예를 들어 소듐 스티보글루코네이트이다. 한 실시양태에서, 단백질 티로신 포스파타제 억제제는 SHP-2 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 SHP-2 억제제이다.
- [0956] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 키나제 억제제와 조합되어 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 CDK4 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 CDK4 억제제, 예를 들어 CDK4/6 억제제, 예컨대 예를 들어, 6-아세틸-8-시클로헥실-5-메틸-2-(5-피페라진-1-일-피리딘-2-일아미노)-8H-피리도[2,3-d]피리미딘-7-온, 히드로클로라이드 (팔보시클립 또는 PD0332991로도 지칭됨)이다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 BTK 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 BTK 억제제, 예컨대 예를 들어, 이브루티닙이다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 mTOR 억제제, 예컨대 예를 들어, 라파마이신, 라파마이신 유사체, OSI-027이다. mTOR 억제제는, 예를 들어 mTORC1 억제제 및/또는 mTORC2 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 mTORC1 억제제 및/또는 mTORC2 억제제일 수 있다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 MNK 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 MNK 억제제, 예컨대 예를 들어, 4-아미노-5-(4-플루오로아닐리노)-피라졸로[3,4-d] 피리미딘이다. MNK 억제제는, 예를 들어 MNK1a, MNK1b, MNK2a 및/또는 MNK2b 억제제일 수 있다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 본원에 기재된 이중 PI3K/mTOR 억제제, 예컨대 예를 들어 PF-04695102이다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 DGK 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 DGK 억제제, 예컨대 예를 들어, DGKinh1 (D5919) 또는 DGKinh2 (D5794)이다.
- [0957] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 알로이신 A; 플라보피리돌 또는 HMR-1275, 2-(2-클로로페닐)-5,7-디히드록시-8-[(3S,4R)-3-히드록시-1-메틸-4-피페리딘일]-4-크로메논; 크리조티닙 (PF-02341066); 2-(2-클로로페닐)-5,7-디히드록시-8-[[2-(2R,3S)-2-(히드록시메틸)-1-메틸-3-피롤리딘일]-4H-1-벤조피란-4-온, 히드로클로라이드 (P276-00); 1-메틸-5-[[2-[5-(트리플루오로메틸)-1H-이미다졸-2-일]-4-피리딘일]옥시]-N-[4-(트리플루오로메틸)페닐]-1H-벤즈이미다졸-2-아민 (RAF265); 인디솔람 (E7070); 로스코비틴 (CYC202); 팔보시클립 (PD0332991); 디나시클립 (SCH727965); N-[5-[[5-(tert-부틸옥사졸-2-일)메틸]티오]티아졸-2-일]피페리딘-4-카르복스아미드 (BMS 387032); 4-[[9-클로로-7-(2,6-디플루오로페닐)-5H-피리미도[5,4-d][2]벤즈아제핀-2-일]아미노]-벤조산 (MLN8054); 5-[3-(4,6-디플루오로-1H-벤즈이미다졸-2-일)-1H-인다졸-5-일]-N-에틸-4-메틸-3-피리딘메탄아민 (AG-024322); 4-(2,6-디클로로벤조일아미노)-1H-피라졸-3-카르복실산 N-(피페리딘-4-일)아미드 (AT7519); 4-[2-메틸-1-(1-메틸에틸)-1H-이미다졸-5-일]-N-[4-(메틸술포닐)페닐]-2-피리미딘아민 (AZD5438); 및 XL281 (BMS908662)로부터 선택된 CDK4 억제제이다.
- [0958] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 CDK4 억제제, 예를 들어 팔보시클립 (PD0332991)이고, 팔보시클립은 일정 기간 동안 매일, 예를 들어 28일 사이클의 14-21일 동안 매일 또는 21일 사이클의 7-12일 동안 매일 약 50 mg, 60 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg (예를 들어, 75 mg, 100 mg 또는 125 mg)의 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12회 또는 그 초과와 사이클의 팔보시클립이 투여된다.
- [0959] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 시클린-의존성 키나제 (CDK) 4 또는 6 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 CDK4 억제제 또는 CDK6 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CDK4/6 억제제 (예를 들어, CDK4 및 CDK6 둘 다를 표적화하는 억제제), 예를 들어 본원에 기재된 CDK4/6 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 대상체는 MCL을 갖는다. MCL은 현행 이용 가능한 요법에 대해 불량한 반응성의, 즉 본질적으로 치유불가능한 공격성 암이다. MCL의 많은 경우에, 시클린 D1 (CDK4/6의 조절제)이 MCL 세포에서 발현된다 (예를 들어, 이뮤노글로불린 및 시클린 D1 유전자를 수반하는 염색체 전위로 인함). 따라서, 이론에 얽매이지는 않지만, MCL 세포는 CDK4/6 억제에 대해 높은 특이성으로 고도로 감수성인 것으로 생각된다 (즉, 정상 면역 세포에 대해서는 최소 효과). CDK4/6 억제제 단독은 MCL을 치

료하는데 있어서 일부 효능을 갖지만, 높은 재발률을 갖는 부분적 완화만이 달성된다. 예시적인 CDK4/6 억제제는 LEE011 (리보시클립으로도 불림)로, 그의 구조가 하기 제시된다.



[0960]

[0961]

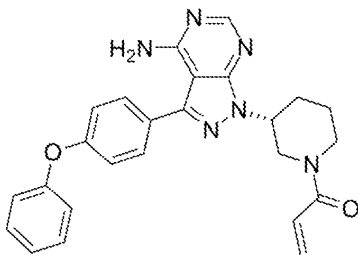
이론에 얽매이지는 않지만, CDK4/6 억제제 (예를 들어, LEE011 또는 본원에 기재된 다른 CDK4/6 억제제)와 함께 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여는, 예를 들어 CDK4/6 억제제 단독과 비교하여, 예를 들어 더 높은 완화율 및/또는 더 낮은 재발률을 갖는 더 높은 반응성을 달성할 수 있는 것으로 여겨진다.

[0962]

한 실시양태에서, 키나제 억제제는 이브루티닙 (PCI-32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; 및 LFM-A13으로부터 선택된 BTK 억제제이다. 바람직한 실시양태에서, BTK 억제제는 인터류킨-2-유도성 키나제 (ITK)의 키나제 활성을 감소시키거나 억제하지 않고, GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; 및 LFM-A13으로부터 선택된다.

[0963]

한 실시양태에서, 키나제 억제제는 BTK 억제제, 예를 들어 이브루티닙 (PCI-32765)이다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 BTK 억제제 (예를 들어, 이브루티닙)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 이브루티닙 (PCI-32765로도 불림)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 이브루티닙 (1-[(3R)-3-[4-아미노-3-(4-페녹시페닐)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일]피페리딘-1-일]프로프-2-엔-1-온)의 구조가 하기 제시된다.



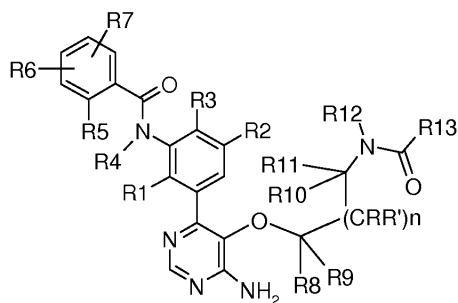
[0964]

[0965]

실시양태에서, 대상체는 CLL, 외투 세포 림프종 (MCL), 또는 소림프구성 림프종 (SLL)을 갖는다. 예를 들어, 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실 (del(17p), 예를 들어 백혈병성 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 재발성 CLL 또는 SLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다 (예를 들어, 이전에 1, 2, 3, 또는 4종의 선행 암 요법을 투여받은 바 있음). 실시양태에서, 대상체는 불응성 CLL 또는 SLL을 갖는다. 다른 실시양태에서, 대상체는 여포성 림프종, 예를 들어 재발 또는 불응성 여포성 림프종을 갖는다. 일부 실시양태에서, 이브루티닙은 약 300-600 mg/일 (예를 들어, 약 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550, 또는 550-600 mg/일, 예를 들어, 약 420 mg/일 또는 약 560 mg/일)의 투여량으로, 예를 들어 경구로 투여된다. 실시양태에서, 이브루티닙은 약 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 560 mg, 580 mg, 600 mg (예를 들어, 250 mg, 420 mg 또는 560 mg)의 용량으로 소정의 기간 동안 매일, 예를 들어 21일 사이클 동안 매일, 또는 28일 사이클 동안 매일 투여된다. 한 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12사이클 또는 그 초과 사이클의 이브루티닙이 투여된다. 일부 실시양태에서, 이브루티닙은 리툭시맙과 조합되어 투여된다. 예를 들어, 문헌 [Burger et al. (2013) Ibrutinib In Combination With Rituximab (iR) Is Well Tolerated and Induces a High Rate Of Durable Remissions In Patients With High-Risk Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): New, Updated Results Of a Phase II Trial In 40 Patients, Abstract 675 presented at 55th ASH Annual Meeting and Exposition, New Orleans, LA 7-10 Dec]을 참조한다. 이론에 얽매이지는 않지만, 이브루티닙의 첨가는 T 세포 증식 반응을 증진시키고, T 세포를 T-헬퍼-2 (Th2)에서 T-헬퍼-1 (Th1) 표현형으로 이동시킬 수 있는 것으로 생각된다. Th1 및 Th2는 헬퍼 T 세포의 표현형으로, Th1 대 Th2는 상이한 면역 반응 경로를 지시한다. Th1 표현형은 예를 들어 세포, 예컨대 세포내 병원체/바이러스 또는 암성 세포를 사멸시키거나 자가면역 반응을 영속시키는 염증유발 반응과 연관된다. Th2 표현형은 호산구 축적 및 항-염증 반응과 연관된다.

[0966] 본원의 방법, 용도 및 조성물의 일부 실시양태에서, BTK 억제제는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 국제 출원 WO/2015/079417에 기재된 BTK 억제제이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, BTK 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다.

[0967] <화학식 I>



[0968]

[0969] 여기서,

[0970] R1은 수소, 또는 히드록시에 의해 임의로 치환된 C1-C6 알킬이고;

[0971] R2는 수소 또는 할로젠이고;

[0972] R3은 수소 또는 할로젠이고;

[0973] R4는 수소이고;

[0974] R5는 수소 또는 할로젠이거나;

[0975] 또는 R4 및 R5는 서로 부착되고, 결합, -CH2-, -CH2-CH2-, -CH=CH-, -CH=CH-CH2-, -CH2-CH=CH-, 또는 -CH2-CH2-CH2-를 나타내고;

[0976] R6 및 R7은 서로 독립적으로 H, 히드록실에 의해 임의로 치환된 C1-C6 알킬, 할로젠 또는 히드록시에 의해 임의로 치환된 C3-C6 시클로알킬, 또는 할로젠을 나타내고;

[0977] R8, R9, R, R', R10 및 R11은 서로 독립적으로 H, 또는 C1-C6 알콕시에 의해 임의로 치환된 C1-C6 알킬을 나타내거나; 또는 R8, R9, R, R', R10 및 R11 중 임의의 2개는 이들이 결합되어 있는 탄소 원자와 함께 3 - 6원 포화 카르보시클릭 고리를 형성할 수 있고;

[0978] R12는 수소, 또는 할로젠 또는 C1-C6 알콕시에 의해 임의로 치환된 C1-C6 알킬이거나;

[0979] 또는 R12 및 R8, R9, R, R', R10 또는 R11 중 어느 하나는 이들이 결합되어 있는 원자와 함께, 할로젠, 시아노, 히드록실, C1-C6 알킬 또는 C1-C6 알콕시에 의해 임의로 치환될 수 있는 4, 5, 6 또는 7원 아자시클릭 고리를 형성할 수 있고;

[0980] n은 0 또는 1이고;

[0981] R13은 C1-C6 알킬, C1-C6 알콕시 또는 N,N-디-C1-C6 알킬 아미노에 의해 임의로 치환된 C2-C6 알케닐; C1-C6 알킬 또는 C1-C6 알콕시에 의해 임의로 치환된 C2-C6 알키닐; 또는 C1-C6 알킬에 의해 임의로 치환된 C2-C6 알킬레닐 옥시이다.

[0982] 일부 실시양태에서, 화학식 I의 BTK 억제제는 하기로부터 선택된다:
N-(3-(5-((1-아크틸로일아제티딘-3-일)옥시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-에노일)아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-((1-프로피올로일아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-이노일)아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-((1-아크틸로일피페리딘-4-일)옥시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸아크틸아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-엔아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸프로피올아

미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(4-메톡시-N-메틸부트-2-엔아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-인아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(2-((4-아미노-6-(3-(4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미도)-5-플루오로-2-메틸페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸옥시란-2-카르복스아미드; N-(2-((4-아미노-6-(3-(6-시클로프로필-8-플루오로-1-옥소이소퀴놀린-2(1H)-일)페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸아크릴아미드; N-(3-(5-(2-아크릴아미도에톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸아크릴아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-(2-플루오로에틸)아크릴아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-((1-아크릴아미도시클로프로필)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-(2-아크릴아미도프로폭시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(부트-2-인아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸아크릴아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-인아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(3-(N-메틸아크릴아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-((1-아크릴로일피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-이노일)피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-2-(3-(5-((1-아크릴로일피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-(히드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; N-(2-((4-아미노-6-(3-(6-시클로프로필-1-옥소-3,4-디히드로이소퀴놀린-2(1H)-일)-5-플루오로-2-(히드록시메틸)페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸아크릴아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4R)-1-(부트-2-이노일)-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; 2-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-(히드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; N-(3-(5-(((2S,4S)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4S)-1-(부트-2-이노일)-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-플루오로피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4R)-1-(부트-2-이노일)-4-플루오로피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-((1-프로피올로일아제티딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-2-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-(히드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; (R)-N-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (R)-N-(3-(5-((1-아크릴로일피롤리딘-3-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2R,3S)-1-아크릴로일-3-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-시아노피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; 또는 N-(3-(5-(((2S,4S)-1-아크릴로일-4-시아노피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드.

[0983] 달리 제공되지 않는 한, 화학식 I의 BTK 억제제를 기재하는데 상기 사용된 화학 용어는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 국제 출원 WO/2015/079417에 제시된 바와 같은 그의 의미에 따라 사용된다.

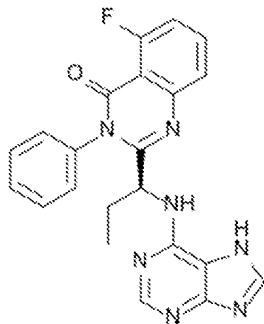
[0984] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 하기로부터 선택된 mTOR 억제제이다: 템시롤리무스; 리다포롤리무스 (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-디히드록시-19,30-디메톡시-15,17,21,23,29,35-헥사메틸-2,3,10,14,20-펜타옥소-11,36-디옥사-4-아자트리시클로[30.3.1.0⁴

⁹] 헥사트리아콘타-16,24,26,28-테트라엔-12-일]프로필]-2-메톡시시클로헥실 디메틸포스포네이트, AP23573 및 MK8669로도 공지됨; 에베롤리무스 (RAD001); 라파마이신 (AY22989); 세마피모드; (5-{2,4-비스[(3S)-3-메틸모르폴린-4-일]피리도[2,3-d]피리미딘-7-일}-2-메톡시페닐)메탄올 (AZD8055); 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-히드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온 (PF04691502); 및 N²-[1,4-디옥소-4-[[4-(4-옥소-8-페닐-4H-1-벤조피란-2-일)모르폴리늄-4-일]메톡시]부틸]-L-아르기닐글리실-L-α-아스파르트릴-L-세린- (서열식별번호: 313), 내부 염 (SF1126); 및 XL765.

[0985] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 라파마이신이고, 라파마이신은 약 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg (예를 들어, 6 mg)의 용량으로 소정의 기간 동안 매일, 예를 들어 21일 사이클 동안 매일, 또는 28일 사이클 동안 매일 투여된다. 한 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12사이클 또는 그 초과 사이클의 라파마이신이 투여된다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 에베롤리무스이고, 에베롤리무스는 약 2 mg, 2.5 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg (예를 들어, 10 mg)의 용량으로 소정의 기간 동안 매일, 예를 들어 28일 사이클 동안 매일 투여된다. 한 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12사이클 또는 그 초과 사이클의 에베롤리무스가 투여된다.

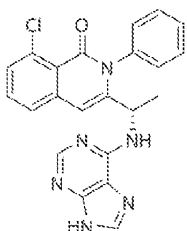
[0986] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 CGP052088; 4-아미노-3-(p-플루오로페닐아미노)-피라졸로[3,4-d] 피리미딘 (CGP57380); 세르코스포라미드; ETC-1780445-2; 및 4-아미노-5-(4-플루오로아닐리노)-피라졸로[3,4-d] 피리미딘으로부터 선택된 MNK 억제제이다.

[0987] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 포스포이노시티드 3-키나제 (PI3K) 억제제 (예를 들어, 본원에 기재된 PI3K 억제제, 예를 들어 이텔라리십 또는 두벨리십) 및/또는 리톡시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 이텔라리십 및 리톡시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 두벨리십 및 리톡시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 이텔라리십 (GS-1101 또는 CAL-101로도 불림; 길리아드(Gilead))은 PI3K의 델타 이소형을 차단하는 소분자이다. 이텔라리십 (5-플루오로-3-페닐-2-[(1S)-1-(7H-퓨린-6-일아미노)프로필]-4(3H)-퀴나졸리논)의 구조가 하기 제시된다.



[0988]

[0989] 두벨리십 (IPI-145로도 불림; 인피니티 파마슈티칼스(Infinity Pharmaceuticals) 및 아브비(Abbvie))은 PI3K-δ, γ를 차단하는 소분자이다. 두벨리십 (8-클로로-2-페닐-3-[(1S)-1-(9H-퓨린-6-일아미노)에틸]-1(2H)-이소퀴놀리논)의 구조가 하기 제시된다.



[0990]

[0991] 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 재발성 CLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다 (예를 들어, 이전에 항-CD20 항체를 투여받은 바 있거나, 또는 이전에 이브루티닙을 투여받은 바 있음). 예를 들어, 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실 (del(17p), 예를 들어 백혈병성 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로

불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함하지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 긴 아암의 염색체 11에서 결실 (del(11q))을 갖는다. 다른 실시양태에서, 대상체는 del(11q)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 이텔라리십은 약 100-400 mg (예를 들어, 100-125, 125-150, 150-175, 175-200, 200-225, 225-250, 250-275, 275-300, 325-350, 350-375, 또는 375-400 mg)의 투여량으로, 예를 들어 BID 투여된다. 실시양태에서, 두벨리십은 약 15-100 mg (예를 들어, 약 15-25, 25-50, 50-75, 또는 75-100 mg)의 투여량으로, 예를 들어 1일 2회 투여된다. 실시양태에서, 리툽시맵은 약 350-550 mg/m² (예를 들어, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475, 또는 475-500 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다.

[0092] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-히드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온 (PF-04691502); N-[4-[[4-(디메틸아미노)-1-피페리디닐]카르보닐]페닐]-N'-[4-(4,6-디-4-모르폴리닐-1,3,5-트리아진-2-일)페닐]우레아 (PF-05212384, PKI-587); 2-메틸-2-{4-[3-메틸-2-옥소-8-(퀴놀린-3-일)-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]페닐}프로판니트릴 (BEZ-235); 아피롤리십 (GDC-0980, RG7422); 2,4-디플루오로-N-{2-(메틸옥시)-5-[4-(4-피리다지닐)-6-퀴놀리닐]-3-피리디닐}벤젠술폰아미드 (GSK2126458); 8-(6-메톡시피리딘-3-일)-3-메틸-1-(4-(피페라진-1-일)-3-(트리플루오로메틸)페닐)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-2(3H)-온 말레산 (NVP-BGT226); 3-[4-(4-모르폴리닐피리도[3',2':4,5]푸로[3,2-d]피리미딘-2-일)페놀 (PI-103); 5-(9-이소프로필-8-메틸-2-모르폴리노-9H-퓨린-6-일)피리미딘-2-아민 (VS-5584, SB2343); 및 N-[2-[(3,5-디메톡시페닐)아미노]퀴놀살린-3-일]-4-[(4-메틸-3-메톡시페닐)카르보닐]아미노페닐술폰아미드 (XL765)로부터 선택된 이중 포스포티딜이노시톨 3-키나제 (PI3K) 및 mTOR 억제제이다.

[0093] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 역형성 림프종 키나제 (ALK) 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 예시적인 ALK 키나제는 크리조티닙 (화이자(Pfizer)), 세리티닙 (노바르티스(Novartis)), 알렉티닙 (췌가이(Chugai)), 브리가티닙 (AP26113으로도 불림; 아리아드(Ariad)), 엔트렉티닙 (이그니타(Ignyta)), PF-06463922 (화이자), TSR-011 (테사로(Tesaro)) (예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT02048488 참조), CEP-37440 (테바(Teva)), 및 X-396 (엑스커버리(Xcovery))을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 고형 암, 예를 들어 본원에 기재된 고형 암, 예를 들어 폐암을 갖는다.

[0094] 크리조티닙의 화학 명칭은 3-[(1R)-1-(2,6-디클로로-3-플루오로페닐)에톡시]-5-(1-피페리딘-4-일피라졸-4-일)피리딘-2-아민이다. 세리티닙의 화학 명칭은 5-클로로-N²-[2-이소프로폭시-5-메틸-4-(4-피페리디닐)페닐]-N⁴-[2-(이소프로필술포닐)페닐]-2,4-피리미딘디아민이다. 알렉티닙의 화학 명칭은 9-에틸-6,6-디메틸-8-(4-모르폴리노피페리딘-1-일)-11-옥소-6,11-디히드로-5H-벤조[b]카르바졸-3-카르보니트릴이다. 브리가티닙의 화학 명칭은 5-클로로-N²-[4-[4-(디메틸아미노)-1-피페리디닐]-2-메톡시페닐]-N⁴-[2-(디메틸포스포닐)페닐]-2,4-피리미딘디아민이다. 엔트렉티닙의 화학 명칭은 N-(5-(3,5-디플루오로벤질)-1H-인다졸-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)-2-((테트라히드로-2H-피란-4-일)아미노)벤즈아미드이다. PF-06463922의 화학 명칭은 (10R)-7-아미노-12-플루오로-2,10,16-트리메틸-15-옥소-10,15,16,17-테트라히드로-2H-8,4-(메테노)피라졸로[4,3-h][2,5,11]-벤조사디아자시클로테트라데신-3-카르보니트릴이다. CEP-37440의 화학 구조는 (S)-2-((5-클로로-2-((6-(4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일)-1-메톡시-6,7,8,9-테트라히드로-5H-벤조[7]아놀렌-2-일)아미노)피리미딘-4-일)아미노)-N-메틸벤즈아미드이다. X-396의 화학 명칭은 (R)-6-아미노-5-(1-(2,6-디클로로-3-플루오로페닐)에톡시)-N-(4-(4-메틸피페라진-1-카르보닐)페닐)피리다진-3-카르복사미드이다.

[0095] 칼슘 의존성 포스포타제 칼시뉴린 (시클로스포린 및 FK506)을 억제하거나 또는 성장 인자 유도 신호전달에 중요한 p70S6 키나제를 억제하는 약물 (라파마이신) (Liu et al., Cell 66:807-815, 1991; Henderson et al., Immun. 73:316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993)이 또한 사용될 수 있다. 추가 측면에서, 본 발명의 세포 조성물은 골수 이식, 플루다라빈과 같은 화학요법제를 사용하는 T 세포 절제요법, 외부-빔 방사선 요법 (XRT), 시클로포스파미드, 및/또는 항체, 예컨대 OKT3 또는 캄파트와 공동으로 (예를 들어, 그 전에, 동시에 또는 그 후에) 환자에게 투여될 수 있다. 한 측면에서, 본 발명의 세포 조성물은 B-세포 절제요법, 예컨대 CD20과 반응하는 작용제, 예를 들어 리툽산(Rituxan) 후에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 대상체는 고용량 화학요법에 이어 말초 혈액 줄기 세포 이식을 사용하는 표준 치료를 받을 수 있다. 특정 실시양태에서, 이식 후에, 대상체는 본 발명의 확장된 면역 세포의 주입을 받는다. 추가의 실시양태

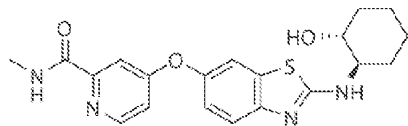
에서, 확장된 세포는 수술 전 또는 후에 투여된다.

[0996]

실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 인돌아민 2,3-디옥시게나제 (IDO) 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. IDO는 아미노산, L-트립토판의 키누레닌으로의 분해를 촉매하는 효소이다. 많은 암, 예를 들어 전립선, 결장직장, 췌장, 자궁경부, 위, 난소, 두부 및 폐암이 IDO를 과다발현한다. pDC, 대식세포 및 수지상 세포 (DC)는 IDO를 발현할 수 있다. 이론에 얽매이지는 않지만, L-트립토판의 감소 (예를 들어, IDO에 의해 촉매됨)는 T-세포 무반응 및 아폽토시스를 유도함으로써 면역억제 환경을 발생시키는 것으로 생각된다. 따라서, 이론에 얽매이지는 않지만, IDO 억제제는 예를 들어 CAR-발현 면역 세포의 억제 또는 사멸을 감소시킴으로써 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 효능을 증진시킬 수 있는 것으로 생각된다. 실시양태에서, 대상체는 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 전립선, 결장직장, 췌장, 자궁경부, 위, 난소, 두부 또는 폐암을 갖는다. IDO의 예시적인 억제제는 1-메틸-트립토판, 인독시모드 (뉴링크 제네틱스(NewLink Genetics)) (예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT01191216; NCT01792050 참조), 및 INCB024360 (인사이트 코퍼레이션(Incyte Corp.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT01604889; NCT01685255 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0997]

실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 골수-유래 억제 세포 (MDSC)의 조정제와 조합되어 대상체에게 투여된다. MDSC는 많은 고형 종양의 주변 및 종양 부위에 축적된다. 이들 세포는 T 세포 반응을 억제함으로써 CAR-발현 세포 요법의 효능을 방해한다. 이론에 얽매이지는 않지만, MDSC 조정제의 투여는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 효능을 증진시키는 것으로 생각된다. 한 실시양태에서, 대상체는 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 교모세포종을 갖는다. MDSC의 예시적인 조정제는 MCS110 및 BLZ945를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. MCS110은 대식세포 콜로니-자극 인자 (M-CSF)에 대한 모노클로날 항체 (mAb)이다. 예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT00757757을 참조한다. BLZ945는 콜로니 자극 인자 1 수용체 (CSF1R)의 소분자 억제제이다. 예를 들어 문헌 [Pyonteck et al. Nat. Med. 19(2013):1264-72]을 참조한다. BLZ945의 구조가 하기 제시된다.



[0998]

[0999]

실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CD19 CART 세포 (예를 들어 CTL019, 예를 들어 본원에 참조로 포함되는 WO2012/079000에 기재된 바와 같음)와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 급성 골수성 백혈병 (AML), 예를 들어 CD19 양성 AML 또는 CD19 음성 AML을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 CD19+ 림프종, 예를 들어 CD19+ 비-호지킨 림프종 (NHL), CD19+ FL, 또는 CD19+ DLBCL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 재발성 또는 불응성 CD19+ 림프종을 갖는다. 실시양태에서, 림프구고갈 화학요법은 CD19 CART 세포의 투여 (예를 들어, 주입) 전, 그와 공동으로, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다. 한 예에서, 림프구고갈 화학요법은 CD19 CART 세포의 투여 전에 대상체에게 투여된다. 예를 들어, 림프구고갈 화학요법은 CD19 CART 세포 주입 1-4일 (예를 들어, 1, 2, 3, 또는 4일) 전에 종료된다. 실시양태에서, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 다중 용량의 CD19 CART 세포가 투여된다. 예를 들어, 단일 용량은 약 5×10^8 개의 CD19 CART 세포를 포함한다. 실시양태에서, 림프구고갈 화학요법은 본원에 기재된 CAR-발현 세포, 예를 들어 비-CD19 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입) 전, 그와 공동으로, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, CD19 CART는 비-CD19 CAR-발현 세포, 예를 들어 본원에 기재된 비-CD19 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입) 전, 그와 공동으로, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다.

[1000]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CLL-1의 발현과 연관된 질환, 예를 들어 본원에 기재된 암의 치료를 위해 CD19 CAR-발현 세포, 예를 들어 본원에 참조로 포함되는 WO2012/079000에 기재된 바와 같은, 예를 들어 CTL019와 조합되어 대상체에게 투여된다. 이론에 얽매이지는 않지만, CAR-발현 세포와 조합된 CD19 CAR-발현 세포의 투여는 초기 계열 암 세포, 예를 들어 암 줄기 세포의 표적화, 면역 반응의 조정, 조절 B 세포의 고갈, 및/또는 종양 미세환경의 개선에 의해 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 효능을 개선시키는 것으로 여겨진다. 예를 들어, CD19 CAR-발현 세포는 초기 계열 마커를 발현하는 암 세포, 예를 들어 암 줄기 세포 및 CD19-발현 세포를 표적화하고, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 보다 후기 계열 마커, 예를 들어 CLL-1을 발현하는 암 세포를 표적화한다. 이러한 사전조건화 접근법은 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 효능을 개선시킬 수 있다. 이러한 실시양태에서, CD19 CAR-발현 세포는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입) 전,

그와 공동으로, 또는 그 후에 투여된다.

- [1001] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또한 CD19를 표적화하는 CAR, 예를 들어 CD19 CAR을 발현한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 및 CD19 CAR을 발현하는 세포는 본원에 기재된 암, 예를 들어 AML의 치료를 위해 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, CAR 분자의 하나 또는 둘 다의 구성은 1차 세포내 신호전달 도메인 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CAR 분자의 하나 또는 둘 다의 구성은 1차 세포내 신호전달 도메인 및 2개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 또는 5개 또는 그 초과와 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자 및 CD19 CAR은 동일하거나 상이한 1차 세포내 신호전달 도메인, 동일하거나 상이한 공동자극 신호전달 도메인, 또는 동일한 수 또는 상이한 수의 공동자극 신호전달 도메인을 가질 수 있다. 대안적으로, 본원에 기재된 CAR 및 CD19 CAR은 스플릿 CAR로서 구성되고, 여기서 CAR 분자 중 1개는 항원 결합 도메인 및 공동자극 도메인 (예를 들어, 4-1BB)을 포함하고, 다른 CAR 분자는 항원 결합 도메인 및 1차 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3 제타)을 포함한다.
- [1002] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 인터류킨-15 (IL-15) 폴리펩티드, 인터류킨-15 수용체 알파 (IL-15Ra) 폴리펩티드, 또는 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드 둘 다의 조합, 예를 들어 hetIL-15 (에드문 테라퓨틱스, 엘엘씨(Admune Therapeutics, LLC))와 조합되어 대상체에게 투여된다. hetIL-15는 IL-15 및 IL-15Ra의 이중이량체 비-공유 복합체이다. hetIL-15는, 예를 들어 본원에 참조로 포함되는 U.S. 8,124,084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413, 및 U.S. 2011/0081311에 기재되어 있다. 실시양태에서, het-IL-15는 피하로 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 암, 예를 들어 고형 암, 예를 들어 흑색종 또는 결장암을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 전이성 암을 갖는다.
- [1003] 실시양태에서, 본원에 기재된 질환, 예를 들어 혈액 장애, 예를 들어 AML 또는 MDS를 갖는 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 작용제, 예를 들어 세포독성 또는 화학요법제, 생물학적 요법 (예를 들어, 항체, 예를 들어 모노클로날 항체 또는 세포 요법), 또는 억제제 (예를 들어, 키나제 억제제)와 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 세포독성제, 예를 들어 CPX-351 (세라토르 파마슈티칼스(Celator Pharmaceuticals)), 시타라빈, 다우노루비신, 보사록신 (수네시스 파마슈티칼스(Sunesis Pharmaceuticals)), 사파시타빈 (시클라셀 파마슈티칼스(Cyclacel Pharmaceuticals)), 이다루비신 또는 미톡산트론과 조합되어 투여된다. CPX-351은 시타라빈 및 다우노루비신을 5:1 몰비로 포함하는 리포솜 제제이다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 저메틸화제, 예를 들어 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제, 예를 들어 아자시딘 또는 데시타빈과 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 생물학적 요법, 예를 들어 항체 또는 세포 요법, 예를 들어 225Ac-린투주맙 (악티맙-A; 악티늄 파마슈티칼스(Actinium Pharmaceuticals)), IPH2102 (이네이트 파마(Innate Pharma)/브리스톨 마이어스 스쿼브(Bristol Myers Squibb)), SGN-CD33A (시애틀 제네틱스(Seattle Genetics)), 또는 겐투주맙 오조가미신 (밀로타르그(Mylotarg); 화이자)와 조합되어 투여된다. SGN-CD33A는 항-CD33 항체에 부착된 피롤로벤조디아제핀 이량체를 포함하는 항체-약물 접합체 (ADC)이다. 악티맙-A는 악티늄으로 표지된 항-CD33 항체 (린투주맙)이다. IPH2102는 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)를 표적화하는 모노클로날 항체이다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 FLT3 억제제, 예를 들어, 소라페닙 (바이엘(Bayer)), 미도스타우린 (노파르티스), 퀴자르티닙 (다이이치 산쿄(Daichi Sankyo)), 크레놀라닙 (아로그 파마슈티칼스(Arog Pharmaceuticals)), PLX3397 (다이이치 산쿄), AKN-028 (아키니온 파마슈티칼스(Akinion Pharmaceuticals)), 또는 ASP2215 (아스텔라스(Astellas))와 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 이소시트레이트 데히드로게나제 (IDH) 억제제, 예를 들어, AG-221 (셀진(Celgene)/아기오스(Agios)) 또는 AG-120 (아기오스/셀진)과 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 세포 주기 조절제, 예를 들어 폴로-유사 키나제 1 (Plk1)의 억제제, 예를 들어 볼라세르티프 (베링거 잉겔하임(Boehringer Ingelheim)); 또는 시클린-의존성 키나제 9 (Cdk9)의 억제제, 예를 들어 알보시딘 (톨레로 파마슈티칼스(Tolero Pharmaceuticals)/사노피 아벤티스(Sanofi Aventis))와 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 B 세포 수용체 신호전달 네트워크 억제제, 예를 들어 B-세포 림프종 2 (Bcl-2)의 억제제, 예를 들어 베네토클락스 (아브비/로슈(Roche)); 또는 브루톤 티로신 키나제 (Btk)의 억제제, 예를 들어 이브루티닙 (파마시클릭스(Pharmacyclics)/존슨 & 존슨 얀센 파마슈티칼(Johnson & Johnson Janssen Pharmaceutical))과 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 M1 아미노펩티다제의 억제제, 예를 들어 토세도스타트 (씨티아이 바이오파마(CTI BioPharma)/베르날리스(Vernalis)); 히스톤 데아세틸라제 (HDAC)의 억제제, 예를 들어 프라시노스타트 (엠이아이 파마(MEI Pharma)); 다중-키나제 억제제, 예를 들어 리고세르티프 (온코노바 테라퓨틱스(Onconova Therapeutics)/백스터(Baxter)/심바이오(SymBio)); 또는 펩티드성 CXCR4 역 효능제, 예를 들어 BL-8040 (바이오라인알렉스(BioLineRx))와 조합되어 투

여된다. 실시양태에서, 대상체에게 CLL-1-표적화 CAR-발현 세포가 CLL-1 이외의 항원, 예를 들어 CLL, BCMA, CD123, CD19, FLT-3, 또는 플레이트 수용체 베타에 특이적으로 결합하는 CAR-발현 세포와 조합되어 투여된다.

- [1004] 또 다른 실시양태에서, 대상체는 이식, 예를 들어 세포의 동종 줄기 세포 이식 전에 본 발명의 CLL-1 발현 세포 조성물의 주입을 받는다. 바람직한 실시양태에서, CLL-1 발현 세포는, 예를 들어 mRNA CLL-1 CAR의 전기천공에 의해 CLL-1 CAR을 일시적으로 발현하고, 이에 의한 CLL-1의 발현은 생착 실패를 피하기 위해 공여자 줄기 세포의 주입 전에 종결된다.
- [1005] 일부 환자는 투여 동안 또는 그 후 본 발명의 화합물 및/또는 다른 항암제(들)에 대해 알레르기 반응을 경험할 수 있고; 따라서, 알레르기 반응의 위험을 최소화하기 위해 항알레르기제가 종종 투여된다. 적합한 항알레르기제는 코르티코스테로이드, 예컨대 덱사메타손 (예를 들어, 데카드론(Decadron)®), 베클로메타손 (예를 들어, 베클로벤트(Beclovent)®), 히드로코르티손 (코르티손, 히드로코르티손 소듐 숙시네이트, 히드로코르티손 인산 나트륨으로도 공지됨, 상표명 알라-코르트(Ala-Cort)®, 히드로코르티손 포스페이트, 솔루-코르테프(Solu-Cortef)®, 히드로코르트 아세테이트(Hydrocort Acetate)® 및 라나코르트(Lanacort)® 하에 판매됨), 프레드니솔론 (상표명 델타-코르텔(Delta-Cortel)®, 오라프레드(Orapred)®, 페디아프레드(Pediapred)® 및 프렐론(Prelone)® 하에 판매됨), 프레드니손 (상표명 델타손(Deltasone)®, 리퀴드 레드(Liquid Red)®, 메티코르텐(Meticorten)® 및 오라손(Orasone)® 하에 판매됨), 메틸프레드니솔론 (6-메틸프레드니솔론, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 메틸프레드니솔론 소듐 숙시네이트로도 공지됨, 상표명 듀랄론(Duralone)®, 메드랄론(Medralone)®, 메드롤(Medrol)®, M-프레드니솔(M-Prednisol)® 및 솔루-메드롤(Solu-Medrol)® 하에 판매됨); 항히스타민제, 예컨대 디펜히드라민 (예를 들어, 베나드릴(Benadryl)®), 히드록시진 및 시프로헵타딘; 및 기관지확장제, 예컨대 베타-아드레날린성 수용체 효능제, 알부테롤 (예를 들어, 프로벤틸(Proventil)®) 및 테르부탈린 (브레틴(Brethine)®)을 포함한다.
- [1006] 일부 환자는 본 발명의 화합물 및/또는 다른 항암제(들)의 투여 동안 및 그 후 오심을 경험할 수 있고; 따라서, 항오심제가 오심 (상부 위) 및 구토를 방지하는데 사용된다. 적합한 항구토제는 아프레피탄트 (에멘드(Emend)®), 온단세트론 (조프란(Zofran)®), 그라니세트론 HCl (키트릴(Kytril)®), 로라제팜 (아티반(Ativan)®), 덱사메타손 (데카드론(Decadron)®), 프로클로르페라진 (콤파진(Compazine)®), 카소피탄트 (레조닉(Rezonic)® 및 준리사(Zunrisa)®) 및 그의 조합을 포함한다.
- [1007] 치료 기간 동안 경험한 통증을 완화하기 위한 의약은 환자를 보다 더 편안하게 하기 위해 종종 처방된다. 통상적인 일반 진통제, 예컨대 타이레놀(Tylenol)®이 종종 사용된다. 그러나, 오피오이드 진통제 약물, 예컨대 히드로코돈/파라세타몰 또는 히드로코돈/아세트아미노펜 (예를 들어, 비코딘(Vicodin)®, 모르핀 (예를 들어, 아스트라모र्फ(Astramorph)® 또는 아빈자(Avinza)®), 옥시코돈 (예를 들어, 옥시콘틴(OxyContin)® 또는 페르코셋(Percocet)®, 옥시모르폰 히드로클로라이드 (오파나(Opana)®) 및 펜타닐 (예를 들어, 두라게식(Duragesic)®)이 또한 중등도 또는 중증 통증에 유용하다.
- [1008] 정상 세포를 치료 독성으로부터 보호하고, 기관 독성을 제한하기 위한 노력에서, 세포보호제 (예컨대 신경보호제, 유리-라디칼 스캐빈저, 심장보호제, 안트라시클린 혈관외유출 중화제, 영양제 등)는 보조 요법으로서 사용될 수 있다. 적합한 세포보호제는 아미포스틴 (에티올(Ethyol)®), 글루타민, 디메스나 (타보셉트(Tavocept)®), 메스나 (메스넥스(Mesnex)®), 텍스라죽산 (지네카드(Zinecard)® 또는 토텍트(Totect)®), 크살리프로텐 (크사프릴라(Xapрила)®) 및 류코보린 (칼슘 류코보린, 시트로보륨 인자 및 폴린산으로도 공지됨)을 포함한다.
- [1009] 코드 번호, 일반명 또는 상표명에 의해 확인되는 활성 화합물의 구조는 표준 일람의 현행판 "The Merck Index" 으로부터 또는 데이터베이스, 예를 들어 페이턴츠 인터내셔널 (예를 들어 IMS 월드 퍼블리케이션즈(IMS World Publications))로부터 입수할 수 있다.
- [1010] 본 발명의 화합물과 조합되어 사용될 수 있는 상기 언급된 화합물은 상기 인용된 문헌에서와 같이 관련 기술분야에 기재되어 있는 대로 제조되고 투여될 수 있다.
- [1011] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 적어도 1종의 화합물 (예를 들어, 본 발명의 화합물) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 인간 또는 동물 대상체에게 투여하는데 적합한 제약상 허용되는 담체와 함께 단독으로 또는 다른 항암제와 함께 포함하는 제약 조성물을 제공한다.
- [1012] 한 실시양태에서, 본 발명은 세포 증식성 질환, 예컨대 암을 앓고 있는 인간 또는 동물 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 이러한 치료를 필요로 하는 인간 또는 동물 대상체에게 치료 유효량의 본 발명의 화합

물 (예를 들어, 본 발명의 화합물) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 단독으로 또는 다른 항암제와 조합하여 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.

- [1013] 특히, 조성물은 조합 치료제로서 함께 제제화되거나 또는 개별적으로 투여될 것이다.
- [1014] 조합 요법에서, 본 발명의 화합물 및 다른 항암제(들)는 동시에, 공동으로 또는 어떠한 구체적 시간 제한 없이 순차적으로 투여될 수 있으며, 여기서 이러한 투여는 환자의 신체 내에서 2종의 화합물의 치료 유효 수준을 제공한다.
- [1015] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 화합물 및 다른 항암제(들)는 일반적으로 주입에 의해 또는 경구로 임의의 순서로 순차적으로 투여된다. 투여 요법은 질환의 병기, 환자의 신체적 적합도, 개별 약물의 안전성 프로파일 및 개별 약물의 내성, 뿐만 아니라 조합물을 투여하는 담당 의사 및 의료 진료의(들)에게 널리 공지된 다른 기준에 따라 달라질 수 있다. 본 발명의 화합물 및 다른 항암제(들)는 치료에 사용되는 특정한 사이클에 따라 서로 수분, 수시간, 수일, 또는 심지어 수주 내로 이격되어 투여될 수 있다. 또한, 사이클은 치료 사이클 동안 하나의 약물을 다른 것보다 더 종종 투여하는 것 및 약물의 투여당 상이한 용량으로의 투여를 포함할 수 있다.
- [1016] 본 발명의 또 다른 측면에서, 본 발명의 1종 이상의 화합물 및 본원에 개시된 바와 같은 조합 파트너를 포함하는 키트가 제공된다. 대표적인 키트는 (a) 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, (b) 예를 들어 상기 나타낸 바와 같은 적어도 1종의 조합 파트너를 포함하며, 이에 의해 이러한 키트는 패키지 삽입물 및 투여 지침서를 비롯한 다른 라벨을 포함할 수 있다.
- [1017] 본 발명의 화합물은 또한 공지된 치료 과정, 예를 들어 호르몬의 투여 또는 특히 방사선과 조합되어 유리하게 사용될 수 있다. 본 발명의 화합물은 특히 방사선증감제로서, 특히 방사선요법에 대해 불량한 감수성을 나타내는 종양의 치료를 위해 사용될 수 있다.
- [1018] 한 실시양태에서, 대상체에게 CAR-발현 세포의 투여와 연관된 부작용을 감소 또는 호전시키는 작용제를 투여할 수 있다. CAR-발현 세포의 투여와 연관된 부작용은 CRS, 및 대식세포 활성화 증후군 (MAS)으로도 불리는 혈구 포식성 림프조직구성숙증 (HLH)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. CRS의 증상은 고열, 오심, 일시적 저혈압, 저산소증 등을 포함한다. CRS는 임상적 체질 징후 및 증상, 예컨대 열, 피로, 식욕부진, 근육통, 관절통, 오심, 구토 및 두통을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 피부 징후 및 증상, 예컨대 발진을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 위장 징후 및 증상, 예컨대 오심, 구토 및 설사를 포함할 수 있다. CRS는 임상적 호흡 징후 및 증상, 예컨대 빈호흡 및 저산소혈증을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 심혈관 징후 및 증상, 예컨대 빈맥, 확대된 맥압, 저혈압, 증가된 심장 박출량 (초기) 및 잠재적으로 감소된 심장 박출량 (후기)을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 응고 징후 및 증상, 예컨대 상승된 d-이량체, 저섬유소원혈증 (출혈의 존재 또는 부재 하)을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 신장 징후 및 증상, 예컨대 질소혈증을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 간 징후 및 증상, 예컨대 트랜스아미나티스 및 고빌리루빈혈증을 포함할 수 있다. CRS는 임상 신경계 징후 및 증상, 예컨대 두통, 정신상태 변화, 혼동, 섬망, 단어 찾기 곤란 또는 명백한 실어증, 환각, 진전, 겨냥이상, 변경된 보행, 및 발작을 포함할 수 있다.
- [1019] 따라서, 본원에 기재된 방법은 본원에 기재된 CAR-발현 세포를 대상체에게 투여하고, CAR-발현 세포를 사용한 치료로부터 생성되는 상승된 수준의 가용성 인자를 관리하기 위해 1종 이상의 작용제를 추가로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 대상체에서 상승되는 가용성 인자는 IFN- γ , TNF α , IL-2 및 IL-6 중 1종 이상이다. 한 실시양태에서, 대상체에서 상승되는 인자는 IL-1, GM-CSF, IL-10, IL-8, IL-5 및 프랙탈카인 중 1종 이상이다. 따라서, 이러한 부작용을 치료하기 위해 투여되는 작용제는 이들 가용성 인자 중 1종 이상을 중화시키는 작용제일 수 있다. 한 실시양태에서, 이들 가용성 형태 중 1종 이상을 중화시키는 작용제는 항체 또는 그의 항체 단편이다. 이러한 작용제의 예는 스테로이드 (예를 들어, 코르티코스테로이드), TNF α 의 억제제, 및 IL-6의 억제제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. TNF α 억제제의 예는 항-TNF α 항체 분자, 예컨대 인플릭시맙, 아달리주맙, 세르톨리주맙 페골 및 골리무맙이다. TNF α 억제제의 또 다른 예는 융합 단백질, 예컨대 에타네르셉트이다. TNF α 의 소분자 억제제는 크산틴 유도체 (예를 들어 펜톡시필린) 및 부프로피온을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. IL-6 억제제의 예는 항-IL-6 항체 분자, 예컨대 토실리주맙 (toc), 사틸루맙, 엘실리모맙, CNTO 328, ALD518/BMS-945429, CNTO 136, CPSI-2364, CDP6038, VX30, ARGX-109, FE301, 및 FM101이다. 한 실시양태에서, 항-IL-6 항체 분자는 토실리주맙이다. IL-1R 기반 억제제의 예는 아나킨라이다.
- [1020] 한 실시양태에서, 대상체에게 CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제가 투여될 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 작용제는 억제 분자를 억제하는 작용제일 수 있고, 예를 들어 작용제는 체크포인트 억제제이다.

억제 분자, 예를 들어 프로그램화된 사멸 1 (PD1)은 일부 실시양태에서 면역 이펙터 반응을 일으키는 CAR-발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있다. 억제 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 예를 들어, DNA, RNA 또는 단백질 수준에서 억제에 의한 억제 분자의 억제는 CAR-발현 세포 성능을 최적화할 수 있다. 실시양태에서, 억제 핵산, 예를 들어 억제 핵산, 예를 들어 dsRNA, 예를 들어 siRNA 또는 shRNA가 CAR-발현 세포에서 억제 분자의 발현을 억제하기 위해 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 억제제는 shRNA이다. 한 실시양태에서, 억제 분자는 CAR-발현 세포 내에서 억제된다. 이들 실시양태에서, 억제 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산에 연결된다.

[1021] 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자가 발현되도록, 예를 들어 CAR-발현 세포 내에서 발현되도록 프로모터, 예를 들어 H1- 또는 U6-유래 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 예를 들어, 문헌 [Tiscornia G., "Development of Lentiviral Vectors Expressing siRNA," Chapter 3, in Gene Transfer: Delivery and Expression of DNA and RNA (eds. Friedmann and Rossi). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 2007; Brummelkamp TR, et al. (2002) Science 296: 550-553; Miyagishi M, et al. (2002) Nat. Biotechnol. 19: 497-500]을 참조한다. 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 동일한 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 존재한다. 이러한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산에 5'- 또는 3'-로 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 위치한다. T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산과 동일하거나 상이한 방향으로 전사될 수 있다. 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터 이외의 벡터 상에 존재한다. 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR-발현 세포 내에서 일시적으로 발현된다. 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR-발현 세포의 게놈 내로 안정적으로 통합된다. 도 29a-29e는 T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 갖는, CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 발현시키기 위한 벡터의 예를 도시한다.

[1022] T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는데 유용한 dsRNA 분자의 예가 하기 제공되고, 여기서 T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자는 PD-1이다.

[1023] PDCD1 (PD1) RNAi 작용제의 명칭 (마우스 PDCD1 유전자 서열 NM_008798.2 내 그의 위치로부터 유래됨)이, DNA 서열을 나타내는 서열식별번호: 216-263과 함께 하기 표 10에 제공된다. 센스 (S) 및 안티센스 (AS) 서열 둘 다는 이러한 표에서 19mer 및 21mer 서열로서 표시된다. 또한, 위치 (PoS, 예를 들어, 176)는 마우스 PDCD1 유전자 서열 NM_008798.2 내 위치 번호로부터 유래된 것임을 주목한다. "sense 19" 서열식별번호: 216-227; "sense 21" 서열식별번호: 228-239; "asense 21" 서열식별번호: 240-251; "asense 19" 서열식별번호: 252-263에 상응하는 12개의 군에 서열식별번호가 표시된다.

[1024] <표 10> 마우스 PDCD1 (PD1) shRNA 서열

NM_008798.2 상에서의 위치	표적 영역	Sense19	Sense21	Asense21	Asense19
176	CDS	GGAGGTCCCT CACCTTCTA (SEQ ID NO: 216)	CTGGAGGTCC CTCACCTTCT A (SEQ ID NO: 228)	TAGAAGGTGA GGGACCTCCA G (SEQ ID NO: 240)	TAGAAGGTGA GGGACCTCC (SEQ ID NO: 252)
260	CDS	CGGAGGATCT TATGCTGAA (SEQ ID NO: 217)	GTCGGAGGAT CTTATGCTGA A (SEQ ID NO: 229)	TTCAGCATAA GATCCTCCGA C (SEQ ID NO: 241)	TTCAGCATAA GATCCTCCG (SEQ ID NO: 253)
359	CDS	CCCGCTTCCA GATCATACA (SEQ ID NO: 218)	TGCCCCGTTC CAGATCATAC A (SEQ ID NO: 230)	TGTATGATCT GGAAGCGGGC A (SEQ ID NO: 242)	TGTATGATCT GGAAGCGGG (SEQ ID NO: 254)

[1025]

		218)	(SEQ ID NO: 230)	(SEQ ID NO: 242)	254)
528	CDS	GGAGACCTCA ACAAGATAT (SEQ ID NO: 219)	CTGGAGACCT CAACAAGATA T (SEQ ID NO: 231)	ATATCTTGTTG AGGTCTCCAG (SEQ ID NO: 243)	ATATCTTGTT GAGGTCTCC (SEQ ID NO: 255)
581	CDS	AAGGCATGGT CATTGGTAT (SEQ ID NO: 220)	TCAAGGCATG GTCATTGGTA T (SEQ ID NO: 232)	ATACCAATGA CCATGCCTTG A (SEQ ID NO: 244)	ATACCAATGA CCATGCCTT (SEQ ID NO: 256)
584	CDS	GCATGGTCAT TGGTATCAT (SEQ ID NO: 221)	AGGCATGGTC ATTGGTATCA T (SEQ ID NO: 233)	ATGATACCAA TGACCATGCC T (SEQ ID NO: 245)	ATGATACCAA TGACCATGC (SEQ ID NO: 257)
588	CDS	GGTCATTGGT ATCATGAGT (SEQ ID NO: 222)	ATGGTCATTG GTATCATGAG T (SEQ ID NO: 234)	ATGGTCATTG GTATCATGAG T (SEQ ID NO: 246)	ATGGTCATTG GTATCATGA (SEQ ID NO: 258)
609	CDS	CCTAGTGGGT ATCCCTGTA (SEQ ID NO: 223)	GCCCTAGTGG GTATCCCTGT A (SEQ ID NO: 235)	GCCCTAGTGG GTATCCCTGT A (SEQ ID NO: 247)	GCCCTAGTGG GTATCCCTG (SEQ ID NO: 259)
919	CDS	GAGGATGGAC ATTGTTCTT (SEQ ID NO: 224)	ATGAGGATGG ACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 236)	ATGAGGATGG ACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 248)	ATGAGGATGG ACATTGTTCT (SEQ ID NO: 260)
1021	3'UTR	GCATGCAGGC TACAGTTCA (SEQ ID NO: 225)	GAGCATGCAG GCTACAGTTC A (SEQ ID NO: 237)	GAGCATGCAG GCTACAGTTC A (SEQ ID NO: 249)	GAGCATGCAG GCTACAGTT (SEQ ID NO: 261)
1097	3'UTR	CCAGCACATG CACTGTTGA (SEQ ID NO: 226)	TTCCAGCACA TGCACTGTTG A (SEQ ID NO: 238)	TTCCAGCACA TGCACTGTTG A (SEQ ID NO: 250)	TTCCAGCACA TGCACTGTT (SEQ ID NO: 262)
1101	3'UTR	CACATGCACT GTTGAGTGA (SEQ ID NO: 227)	AGCACATGCA CTGTTGAGTG A (SEQ ID NO: 239)	AGCACATGCA CTGTTGAGTG A (SEQ ID NO: 251)	AGCACATGCA CTGTTGAGT (SEQ ID NO: 263)

[1026]

[1027]

PDCD1 (PD1) RNAi 작용제의 명칭 (인간 PDCD1 유전자 서열 내 그의 위치로부터 유래됨)이, DNA 서열을 나타내는 서열식별번호: 264-311과 함께 하기 표 11에 제공된다. 센스 (S) 및 안티센스 (AS) 서열 둘 다는 19mer 및 21mer 서열로서 표시된다. "sense 19" 서열식별번호: 264-275; "sense 21" 서열식별번호: 276-287; "asense 21" 서열식별번호: 288-299; "asense 19" 서열식별번호: 300-311에 상응하는 12개의 군에 서열식별번호가 표시

된다.

[1028] <표 11> 인간 PDCD1 (PD1) shRNA 서열

NM_005018.2 상에서의 위치	표적 영역	Sense19	Asense19	Sense21	Asense21
145	CDS	GGCCAGGATG GTTCTTAGA (SEQ ID NO: 264)	TCTAAGAACC ATCCTGGCC (SEQ ID NO: 276)	GCGGCCAGGA TGGTTCCTAG A (SEQ ID NO: 288)	TCTAAGAACC ATCCTGGCCG C (SEQ ID NO: 300)
271	CDS	GCTTCGTGCT AAACTGGTA (SEQ ID NO: 265)	TACCAGTTTA GCACGAAGC (SEQ ID NO: 277)	GAGCTTCGTG CTAAACTGGT A (SEQ ID NO: 289)	TACCAGTTTA GCACGAAGCT C (SEQ ID NO: 301)
393	CDS	GGGCGTGACT TCCACATGA (SEQ ID NO: 266)	TCATGTGGAA GTCACGCC (SEQ ID NO: 278)	ACGGGCGTGA CTTCCACATG A (SEQ ID NO: 290)	TCATGTGGAA GTCACGCCG T (SEQ ID NO: 302)
1497	3'UTR	CAGGCCTAGA GAAGTTTCA (SEQ ID NO: 267)	TGAAACTTCT CTAGGCCTG (SEQ ID NO: 279)	TGCAGGCCTA GAGAAGTTTC A (SEQ ID NO: 291)	TGAAACTTCT CTAGGCCTGC A (SEQ ID NO: 303)
1863	3'UTR	CTTGGAACCC ATTCTGAA (SEQ ID NO: 268)	TTCAGGAATG GGTTCCAAG (SEQ ID NO: 280)	TCCTTGGAAC CCATTCCTGA A (SEQ ID NO: 292)	TTCAGGAATG GGTTCCAAG A (SEQ ID NO: 304)
1866	3'UTR	GGAACCCATT CCTGAAATT (SEQ ID NO: 269)	AATTTTCAGGA ATGGGTTC (SEQ ID NO: 281)	TTGGAACCCA TTCCTGAAAT T (SEQ ID NO: 293)	AATTTTCAGGA ATGGGTTC A (SEQ ID NO: 305)
1867	3'UTR	GAACCCATTC CTGAAATTA (SEQ ID NO: 270)	TAATTTTCAGG AATGGGTTC (SEQ ID NO: 282)	TGGAACCCAT TCCTGAAATT A (SEQ ID NO: 294)	TAATTTTCAGG AATGGGTTC A (SEQ ID NO: 306)
1868	3'UTR	AACCCATTCC TGAAATTAT (SEQ ID NO: 271)	ATAATTTTCAG GAATGGGT (SEQ ID NO: 283)	GGAACCCATT CCTGAAATTA T (SEQ ID NO: 295)	ATAATTTTCAG GAATGGGT C (SEQ ID NO: 307)

		271)	283)	(SEQ ID NO: 295)	(SEQ ID NO: 307)
1869	3'UTR	ACCCATTCCCT GAAATTATT (SEQ ID NO: 272)	AATAATTTCA GGAATGGGT (SEQ ID NO: 284)	GAACCCATTCT CTGAAATTAT T (SEQ ID NO: 296)	AATAATTTCA GGAATGGGT C (SEQ ID NO: 308)
1870	3'UTR	CCCATTCCTG AAATTATTT (SEQ ID NO: 273)	AAATAATTTT AGGAATGGG (SEQ ID NO: 285)	AACCCATTCC TGAAATTATT T (SEQ ID NO: 297)	AAATAATTTT AGGAATGGGT T (SEQ ID NO: 309)
2079	3'UTR	CTGTGGTTCT ATTATATTA (SEQ ID NO: 274)	TAATATAATA GAACACAG (SEQ ID NO: 286)	CCCTGTGGTT CTATTATATT A (SEQ ID NO: 298)	TAATATAATA GAACACAGG G (SEQ ID NO: 310)
2109	3'UTR	AAATATGAGA GCATGCTAA (SEQ ID NO: 275)	TTAGCATGCT CTCATATT (SEQ ID NO: 287)	TTAAATATGA GAGCATGCTA A (SEQ ID NO: 299)	TTAGCATGCT CTCATATTTA A (SEQ ID NO: 311)

한 실시양태에서, 억제 신호의 억제제는, 예를 들어 억제 분자에 결합하는 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 예를 들어, 작용제는 PD1, PD-L1, PD-L2 또는 CTLA4 (예를 들어, 이필리무맙 (MDX-010 및 MDX-101로도 지칭되고,

예르보이(Yervoy)®로서 시판됨; 브리스톨-마이어드 스쿼프(Bristol-Myers Squibb)); 트레멜리무맵 (화이자(Pfizer)로부터 이용가능한 IgG2 모노클로날 항체, 이전에 티실리무맵, CP-675,206으로서 공지됨))에 결합하는 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 한 실시양태에서, 작용제는 TIM3에 결합하는 항체 또는 항체 단편이다. 한 실시양태에서, 작용제는 LAG3에 결합하는 항체 또는 항체 단편이다. 실시양태에서, CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제, 예를 들어 억제 분자의 억제제는 동종 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 동종 CAR (예를 들어, 본원의 동종 CAR 섹션에 기재된)과 조합되어 투여된다.

[1032] PD-1은 CD28, CTLA-4, ICOS, 및 BTLA를 또한 포함하는 CD28 패밀리의 수용체의 억제 구성원이다. PD-1은 활성화된 B 세포, T 세포 및 골수 세포 상에서 발현된다 (Agata et al. 1996 Int. Immunol 8:765-75). PD-1에 대한 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2는 PD-1에 결합 시 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 제시된 바 있다 (Freeman et al. 2000 J Exp Med 192:1027-34; Latchman et al. 2001 Nat Immunol 2:261-8; Carter et al. 2002 Eur J Immunol 32:634-43). PD-L1은 인간 암에서 풍부하다 (Dong et al. 2003 J Mol Med 81:281-7; Blank et al. 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314; Konishi et al. 2004 Clin Cancer Res 10:5094). 면역 억제는 PD-1과 PD-L1의 국부 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있다. PD-1, PD-L1 및 PD-L2의 항체, 항체 단편 및 다른 억제제는 관련 기술분야에서 입수가능하고, 본원에 기재된 본 발명의 CAR과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 니볼루맵 (BMS-936558 또는 MDX1106으로도 지칭됨; 브리스톨-마이어드 스쿼프)은 PD-1을 특이적으로 차단하는 완전 인간 IgG4 모노클로날 항체이다. 니볼루맵 (클론 5C4) 및 PD-1에 특이적으로 결합하는 다른 인간 모노클로날 항체는 US 8,008,449 및 WO2006/121168에 개시되어 있다. 피딜리주맵 (CT-011; 큐어 테크(Cure Tech))은 PD-1에 결합하는 인간화 IgG1k 모노클로날 항체이다. 피딜리주맵 및 다른 인간화 항-PD-1 모노클로날 항체는 WO2009/101611에 개시되어 있다. 램브롤리주맵 (이전에 램브롤리주맵으로 공지됨, MK03475로도 지칭됨; 머크(Merck))은 PD-1에 결합하는 인간화 IgG4 모노클로날 항체이다. 램브롤리주맵 및 다른 인간화 항-PD-1 항체는 US 8,354,509 및 WO2009/114335에 개시되어 있다. MEDI4736 (메드이문(Medimmune))은 PDL1에 결합하는 인간 모노클로날 항체이고, 리간드가 PD1과 상호작용하는 것을 억제한다. MDPL3280A (제넨테크/로슈)는 PD-L1에 결합하는 인간 Fc 최적화된 IgG1 모노클로날 항체이다. MDPL3280A 및 PD-L1에 대한 다른 인간 모노클로날 항체는 미국 특허 7,943,743 및 미국 특허 출원 공개 20120039906에 개시되어 있다. 다른 항-PD-L1 결합제는 YW243.55.S70 (중쇄 및 경쇄 가변 영역이 WO2010/077634의 서열식별번호: 20 및 21에 제시되어 있음) 및 MDX-1 105 (BMS-936559로도 지칭됨, 예를 들어 WO2007/005874에 개시된 항-PD-L1 결합제)를 포함한다. AMP-224 (B7-DCIg; 암플리문 (Amplimmune); 예를 들어 WO2010/027827 및 WO2011/066342에 개시됨)는 PD-1 및 B7-H1 사이의 상호작용을 차단하는 PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체이다. 다른 항-PD-1 항체는 AMP 514 (암플리문), 특히 예를 들어 US 8,609,089, US 2010028330 및/또는 US 20120114649에 개시된 항-PD-1 항체를 포함한다.

[1033] TIM3 (T 세포 이뮤노글로불린-3)은 또한, 특히 IFN- γ -분비 CD4+ T 헬퍼 1 및 CD8+ T 세포독성 1 세포에서 T 세포 기능을 음성적으로 조절하고, T 세포 소진에서 중요한 역할을 한다. TIM3 및 그의 리간드, 예를 들어 갈렉틴-9 (Ga19), 포스포티달세린 (PS), 및 HMGB1 사이의 상호작용의 억제는 면역 반응을 증가시킬 수 있다. TIM3 및 그의 리간드의 항체, 항체 단편, 및 다른 억제제는 관련 기술분야에서 이용가능하고, 본원에 기재된 CD19 CAR과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, TIM3을 표적화하는 항체, 항체 단편, 소분자, 또는 펩티드 억제제는 TIM3의 IgV 도메인에 결합하여, 그의 리간드와의 상호작용을 억제한다. TIM3을 억제하는 항체 및 펩티드는 WO2013/006490 및 US20100247521에 개시되어 있다. 다른 항-TIM3 항체는 인간화 버전의 RMT3-23 (문헌 [Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551]에 개시됨), 및 클론 8B.2C12 (문헌 [Monney et al., 2002, Nature, 415:536-541]에 개시됨)를 포함한다. TIM3 및 PD-1을 억제하는 이중-특이적 항체는 US20130156774에 개시되어 있다.

[1034] 다른 실시양태에서, CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 CEACAM 억제제 (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3, 및/또는 CEACAM-5 억제제)이다. 한 실시양태에서, CEACAM의 억제제는 항-CEACAM 항체 분자이다. 예시적인 항-CEACAM-1 항체, 예를 들어 모노클로날 항체 34B1, 26H7, 및 5F4가 WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 및 WO 2014/022332에 기재되어 있거나; 또는 그의 제조합 형태는 예를 들어 US 2004/0047858, US 7,132,255 및 WO 99/052552에 기재된 바와 같다. 다른 실시양태에서, 항-CEACAM 항체는 예를 들어 문헌 [Zheng et al. PLoS One. 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529 (DOI:10.1371/journal.pone.0021146)]에 기재된 바와 같이 CEACAM-5에 결합하거나, 또는 예를 들어 WO 2013/054331 및 US 2014/0271618에 기재된 바와 같이 CEACAM-1 및 CEACAM-5와 교차반응한다.

[1035] 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 암배아성 항원 세포 부착 분자 (CEACAM), 예컨대 CEACAM-1 및 CEACAM-5

는, 적어도 부분적으로, 항종양 면역 반응의 억제를 매개하는 것으로 여겨진다 (예를 들어, 문헌 [Markel et al. J Immunol. 2002 Mar 15;168(6):2803-10; Markel et al. J Immunol. 2006 Nov 1;177(9):6062-71; Markel et al. Immunology. 2009 Feb;126(2):186-200; Markel et al. Cancer Immunol Immunother. 2010 Feb;59(2):215-30; Ortenberg et al. Mol Cancer Ther. 2012 Jun;11(6):1300-10; Stern et al. J Immunol. 2005 Jun 1;174(11):6692-701; Zheng et al. PLoS One. 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529] 참조). 예를 들어, CEACAM-1은 TIM-3에 대한 이중친화성 리간드로서 및 TIM-3-매개 T 세포 관용 및 소진에서 역할을 하는 것으로서 기재되어 있다 (예를 들어, WO 2014/022332; 문헌 [Huang, et al. (2014) Nature doi:10.1038/nature13848] 참조). 실시양태에서, CEACAM-1 및 TIM-3의 공동-차단은 이중이식편 결장직장암 모델에서 항종양 면역 반응을 증진시키는 것으로 밝혀진 바 있다 (예를 들어, WO 2014/022332; 상기 문헌 [Huang, et al. (2014)] 참조). 다른 실시양태에서, CEACAM-1 및 PD-1의 공동-차단은 예를 들어 WO 2014/059251에 기재된 바와 같이 T 세포 관용을 감소시킨다. 따라서, CEACAM 억제제는 본원에 기재된 다른 면역조절제 (예를 들어, 항-PD-1 및/또는 항-TIM-3 억제제)와 함께 사용되어 암, 예를 들어 흑색종, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암, 결장암, 난소암 및 본원에 기재된 바와 같은 다른 암에 대한 면역 반응을 증진시킬 수 있다.

[1036] LAG3 (림프구 활성화 유전자-3 또는 CD223)은 CD8+ T 세포 소진에서 소정의 역할을 하는 것으로 밝혀진 바 있는, 활성화된 T 세포 및 B 세포 상에서 발현되는 세포 표면 분자이다. LAG3 및 그의 리간드의 항체, 항체 단편, 및 다른 억제제는 관련 기술분야에서 이용가능하고, 본원에 기재된 CD19 CAR과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, BMS-986016 (브리스톨-마이어스 스텝)은 LAG3을 표적화하는 모노클로날 항체이다. IMP701 (이뮤텡 (Immunet))은 길항제 LAG3 항체이고, IMP731 (이뮤텡 및 글락소스미스클라인(GlaxoSmithKline))은 고갈 LAG3 항체이다. 다른 LAG3 억제제는, MHC 부류 II 분자에 결합하고 항원 제시 세포 (APC)를 활성화시키는 LAG3의 가용성 부분 및 Ig의 재조합 융합 단백질인 IMP321 (이뮤텡)을 포함한다. 다른 항체는 예를 들어 WO2010/019570에 개시되어 있다.

[1037] 일부 실시양태에서, CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 예를 들어, 제1 도메인 및 제2 도메인을 포함하는 융합 단백질일 수 있고, 여기서 제1 도메인은 억제 분자 또는 그의 단편이고, 제2 도메인은 양성 신호와 연관된 폴리펩티드, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, 양성 신호와 연관된 폴리펩티드는 CD28, CD27, ICOS의 공동자극 도메인, 예를 들어 CD28, CD27 및/또는 ICOS의 세포내 신호전달 도메인, 및/또는 예를 들어 본원에 기재된, 예를 들어 CD3 제타의 1차 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 융합 단백질은 CAR을 발현하는 동일한 세포에 의해 발현된다. 또 다른 실시양태에서, 융합 단백질은 항-CLL-1 CAR을 발현하지 않는 세포, 예를 들어 T 세포에 의해 발현된다.

[1038] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 miR-17-92이다.

[1039] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR의 활성을 증진시키는 작용제는 시토카인이다. 시토카인은 T 세포 확장, 분화, 생존, 및 항상성과 관련하여 중요한 기능을 갖는다. 본원에 기재된 CAR-발현 세포를 제공받은 대상체에 투여될 수 있는 시토카인은 IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18, 및 IL-21, 또는 그의 조합을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 투여되는 시토카인은 IL-7, IL-15, 또는 IL-21, 또는 그의 조합이다. 시토카인은 1일에 1회, 또는 1일에 1회 초과, 예를 들어 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 1일에 4회 투여될 수 있다. 시토카인은 1일 초과 동안 투여될 수 있고, 예를 들어 시토카인은 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주 또는 4주 동안 투여된다. 예를 들어, 시토카인은 7일 동안 1일에 1회 투여된다.

[1040] 실시양태에서, 시토카인은 CAR-발현 T 세포와 조합되어 투여된다. 시토카인은 CAR-발현 T 세포와 동시에 또는 공동으로 투여, 예를 들어 동일한 날에 투여될 수 있다. 시토카인은 CAR-발현 T 세포와 동일한 제약 조성물 내에 제조될 수 있거나, 또는 개별 제약 조성물로 제조될 수 있다. 대안적으로, 시토카인은 CAR-발현 T 세포의 투여 직후, 예를 들어 CAR-발현 T 세포의 투여 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 또는 7일 후에 투여될 수 있다. 시토카인이 1일 초과에 걸쳐 이루어지는 투여 요법으로 투여되는 실시양태에서, 시토카인 투여 요법의 제1일은 CAR-발현 T 세포에 의한 투여와 동일한 날일 수 있거나, 또는 시토카인 투여 요법의 제1일은 CAR-발현 T 세포의 투여 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 또는 7일 후일 수 있다. 한 실시양태에서, 제1일에 CAR-발현 T 세포가 대상체에 투여되고, 제2일에 시토카인이 다음 7일 동안 1일에 1회 투여된다. 바람직한 실시양태에서, CAR-발현 T 세포와 조합되어 투여되는 시토카인은 IL-7, IL-15, 또는 IL-21이다.

[1041] 다른 실시양태에서, 시토카인은 CAR-발현 세포의 투여의 소정의 기간 후, 예를 들어 CAR-발현 세포의 투여의 적어도 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 10주, 12주, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또

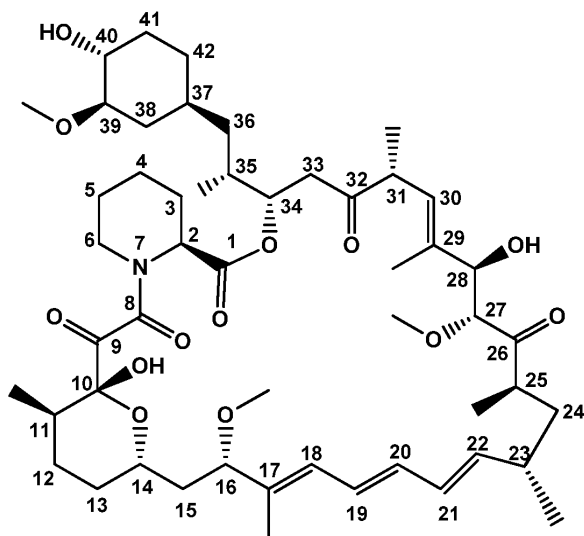
는 1년 또는 그 초과 후에 투여된다. 한 실시양태에서, 시토카인은 CAR-발현 세포에 대한 대상체의 반응의 평가 후에 투여된다. 예를 들어, 본원에 기재된 투여량 및 요법에 따라 대상체에게 CAR-발현 세포가 투여된다. CAR-발현 세포 요법에 대한 대상체의 반응은 종양 성장의 억제, 순환 종양 세포의 감소, 또는 종양 퇴행을 비롯한 본원에 기재된 임의의 방법을 사용하여, CAR-발현 세포의 투여의 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 10주, 12주, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 1년 또는 그 초과 후에 평가된다. CAR-발현 세포 요법에 대해 충분한 반응을 나타내지 않는 대상체에게 시토카인이 투여될 수 있다. CAR-발현 세포 요법에 대해 준-최적 반응을 갖는 대상체에게 시토카인의 투여는 CAR-발현 세포 효능 또는 항암 활성을 개선시킨다. 바람직한 실시양태에서, CAR-발현 세포의 투여 후에 투여되는 시토카인은 IL-7이다.

- [1042] 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제와의 조합
- [1043] 본원에 기재된 방법은 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어 라파로그, 예컨대 RAD001을 비롯한 알로스테릭 mTOR 억제제를 사용한다. 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제 (예를 들어, 면역계를 완전히 억제하기에 불충분하지만 면역 기능을 개선시키기에는 충분한 용량)의 투여는 대상체에서 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 CAR-발현 세포의 성능을 최적화할 수 있다. mTOR 억제를 측정하는 방법, 투여량, 치료 요법, 및 적합한 제약 조성물은 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 번호 2015/01240036에 기재되어 있다.
- [1044] 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는 하기:
- [1045] i) PD-1 양성 면역 이펙터 세포의 수에서의 감소;
- [1046] ii) PD-1 음성 면역 이펙터 세포의 수에서의 증가;
- [1047] iii) PD-1 음성 면역 이펙터 세포 / PD-1 양성 면역 이펙터 세포의 비에서의 증가;
- [1048] iv) 나이브 T 세포의 수에서의 증가;
- [1049] v) 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 하기 마커 중 1종 이상의 발현에서의 증가: CD62L^{hi}, CD127^{hi}, CD27⁺, 및 BCL2;
- [1050] vi) 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 KLRG1의 발현에서의 감소; 또는
- [1051] vii) 기억 T 세포 전구체, 예를 들어 하기 특징 중 어느 하나 또는 그의 조합을 갖는 세포의 수에서의 증가: 증가된 CD62L^{hi}, 증가된 CD127^{hi}, 증가된 CD27⁺, 감소된 KLRG1, 및 증가된 BCL2
- [1052] 중 1종 이상을 발생시킬 수 있고; 여기서 상기 중 임의의 것, 예를 들어 i), ii), iii), iv), v), vi), 또는 vii)은 예를 들어 비-처리 대상체와 비교하여 예를 들어 적어도 일시적으로 발생한다.
- [1053] 또 다른 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는, 예를 들어 배양물 또는 대상체에서, 예를 들어 비-처리 CAR-발현 세포 또는 비-처리 대상체와 비교하여 CAR-발현 세포의 증가 또는 연장된 증식 또는 지속성을 발생시킨다. 실시양태에서, 증가된 증식은 CAR-발현 세포의 수에서의 증가와 연관된다. 증가 또는 연장된 증식을 측정하는 방법은 실시예 8 및 9에 기재되어 있다. 또 다른 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는, 예를 들어 배양물 또는 대상체에서, 예를 들어 비-처리 CAR-발현 세포 또는 비-처리 대상체와 비교하여 CAR-발현 세포에 의한 암 세포의 증가된 사멸을 발생시킨다. 실시양태에서, 암 세포의 증가된 사멸은 종양 부피에서의 감소와 연관된다. 암 세포의 증가된 사멸을 측정하는 방법은 실시예 2에 기재되어 있다.
- [1054] 한 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포는 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어 알로스테릭 mTOR 억제제, 예를 들어 RAD001, 또는 촉매 mTOR 억제제와 조합되어 투여된다. 예를 들어, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 전에 개시되거나; 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 전에 완결되거나; 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여와 동시에 개시되거나; 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여와 중첩되거나; 또는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 후에 계속될 수 있다.
- [1055] 대안적으로 또는 추가로, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하도록 조작하기 위해 면역 이펙터 세포를 최적화할 수 있다. 이러한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어 알로스테릭 억제제, 예를 들어 RAD001, 또는 촉매 억제제의 투여는 대상체로부터 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하도록 조작하기 위해 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 수거 전에 개시

또는 완결된다.

- [1056] 또 다른 실시양태에서, 예를 들어 대상체로부터의 수거 후의 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하도록 조작하기 위한 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포, 또는 예를 들어 대상체에의 투여 전의 CAR-발현 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포는 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 존재 하에 배양될 수 있다.
- [1057] 한 실시양태에서, 대상체에게 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제를 투여하는 것은, 예를 들어 1주에 1회, 예를 들어 즉시 방출 투여 형태로, 0.1 내지 20, 0.5 내지 10, 2.5 내지 7.5, 3 내지 6, 또는 약 5 mg의 RAD001 또는 그의 생물학적 등가 양을 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 대상체에게 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제를 투여하는 것은, 예를 들어 1주에 1회, 예를 들어 지속 방출 투여 형태로, 0.3 내지 60, 1.5 내지 30, 7.5 내지 22.5, 9 내지 18, 또는 약 15 mg의 RAD001, 또는 그의 생물학적 등가 양을 투여하는 것을 포함한다.
- [1058] 한 실시양태에서, mTOR 억제제의 용량은 적어도 5 내지 90% 이하, 적어도 10 내지 90% 이하, 적어도 15 내지 90% 이하, 적어도 20 내지 90% 이하, 적어도 30 내지 90% 이하, 적어도 40 내지 90% 이하, 적어도 50 내지 90% 이하, 적어도 60 내지 90% 이하, 적어도 70 내지 90% 이하, 적어도 5 내지 80% 이하, 적어도 10 내지 80% 이하, 적어도 15 내지 80% 이하, 적어도 20 내지 80% 이하, 적어도 30 내지 80% 이하, 적어도 40 내지 80% 이하, 적어도 50 내지 80% 이하, 적어도 60 내지 80% 이하, 적어도 5 내지 70% 이하, 적어도 10 내지 70% 이하, 적어도 15 내지 70% 이하, 적어도 20 내지 70% 이하, 적어도 30 내지 70% 이하, 적어도 40 내지 70% 이하, 적어도 50 내지 70% 이하, 적어도 5 내지 60% 이하, 적어도 10 내지 60% 이하, 적어도 15 내지 60% 이하, 적어도 20 내지 60% 이하, 적어도 30 내지 60% 이하, 적어도 40 내지 60% 이하, 적어도 5 내지 50% 이하, 적어도 10 내지 50% 이하, 적어도 15 내지 50% 이하, 적어도 20 내지 50% 이하, 적어도 30 내지 50% 이하, 적어도 40 내지 50% 이하, 적어도 5 내지 40% 이하, 적어도 10 내지 40% 이하, 적어도 15 내지 40% 이하, 적어도 20 내지 40% 이하, 적어도 30 내지 40% 이하, 적어도 35 내지 40% 이하, 적어도 5 내지 30% 이하, 적어도 10 내지 30% 이하, 적어도 15 내지 30% 이하, 적어도 20 내지 30% 이하, 또는 적어도 25 내지 30% 이하의 mTOR 억제와 연관되거나 또는 mTOR 억제를 제공한다.
- [1059] mTOR 억제제의 정도는 P70 S6 키나제 억제제의 정도로서 나타내어질 수 있거나 그에 상응하고, 예를 들어 mTOR 억제의 정도는 P70 S6 키나제 활성에서의 감소 수준에 의해, 예를 들어 P70 S6 키나제 기질의 인산화에서의 감소에 의해 결정될 수 있다. mTOR 억제의 수준은 다양한 방법, 예컨대 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 번호 2015/0124003에 기재된 바와 같은, 또는 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 7,727,950에 기재된 바와 같은 블레이 검정에 의해 P70 S6 키나제 활성을 측정하는 것; 웨스턴 블롯에 의해 인산화 S6의 수준을 측정하는 것; 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포 대 PD1 양성 면역 이펙터 세포의 비에서의 변화를 평가하는 것에 의해 평가될 수 있다.
- [1060] 본원에 사용된 용어 "mTOR 억제제"는 세포에서 mTOR 키나제를 억제하는 화합물 또는 리간드, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 지칭한다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 알로스테릭 억제제이다. 알로스테릭 mTOR 억제제는 중성 트리시클릭 화합물 라파마이신 (시롤리무스), 예를 들어 라파마이신 유도체, 라파마이신 유사체 (라파로그로도 지칭됨) 및 mTOR 활성을 억제하는 다른 마크롤리드 화합물을 비롯한 라파마이신과 구조적 및 기능적 유사성을 갖는 화합물인 라파마이신-관련 화합물을 포함한다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 촉매 억제제이다.
- [1061] 라파마이신은 하기 화학식 A에 제시된 구조를 갖는 스트렙토미세스 히그로스코피쿠스(*Streptomyces hygroscopicus*)에 의해 생산된 공지된 마크롤리드 항생제이다.

[1062] <화학식 A>



[1063]

[1064] 예를 들어, 문헌 [McAlpine, J.B., et al., J. Antibiotics (1991) 44: 688; Schreiber, S.L., et al., J. Am. Chem. Soc. (1991) 113: 7433]; 미국 특허 번호 3,929,992를 참조한다. 라파마이신에 대해 제안되는 다양한 넘버링 스킴이 존재한다. 혼동을 피하기 위해, 특정 라파마이신 유사체가 본원에서 명명되는 경우에, 명칭은 화학식 A의 넘버링 스킴을 사용하는 라파마이신과 관련하여 주어진다.

[1065] 본 발명에서 유용한 라파마이신 유사체는, 예를 들어 라파마이신의 시클로헥실 고리 상의 히드록실 기가 OR_1 (여기서 R_1 은 히드록시알킬, 히드록시알콕시알킬, 아실아미노알킬 또는 아미노알킬임)에 의해 대체된 0-치환된 유사체; 예를 들어 그 내용이 참조로 포함되는 US 5,665,772 및 W094/09010에 기재된 바와 같은 에베롤리무스로도 공지된 RAD001이다.

[1066] 다른 적합한 라파마이신 유사체는 26- 또는 28-위치에서 치환된 것을 포함한다. 라파마이신 유사체는 상기 언급된 유사체의 에피머, 특히 위치 40, 28 또는 26에서 치환된 유사체의 에피머일 수 있고, 예를 들어 그 내용이 참조로 포함되는 US 6,015,815, W095/14023 및 W099/15530에 기재된 바와 같이 임의로 추가로 수소화될 수 있다 (예를 들어 그 내용이 참조로 포함되는 US 7,091,213, W098/02441 및 W001/14387에 기재된 조타롤리무스로도 공지된 ABT578 또는 라파마이신 유사체, 예를 들어 리다포롤리무스로도 공지된 AP23573).

[1067] US 5,665,772로부터의 본 발명에서 사용하기에 적합한 라파마이신 유사체의 예는 40-O-벤질-라파마이신, 40-O-(4'-히드록시메틸)벤질-라파마이신, 40-O-[4'-(1,2-디히드록시에틸)]벤질-라파마이신, 40-O-알릴-라파마이신, 40-O-[3'-(2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4(S)-일)-프로프-2'-엔-1'-일]-라파마이신, (2'E,4'S)-40-O-(4',5'-디히드록시헵트-2'-엔-1'-일)-라파마이신, 40-O-(2-히드록시)에톡시카르보닐메틸-라파마이신, 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신, 40-O-(3-히드록시)프로필-라파마이신, 40-O-(6-히드록시)헥실-라파마이신, 40-O-[2-(2-히드록시)에톡시]에틸-라파마이신, 40-O-[(3S)-2,2-디메틸디옥솔란-3-일]메틸-라파마이신, 40-O-[(2S)-2,3-디히드록시프로프-1-일]-라파마이신, 40-O-(2-아세톡시)에틸-라파마이신, 40-O-(2-니코티노일옥시)에틸-라파마이신, 40-O-[2-(N-모르폴리노)아세톡시]에틸-라파마이신, 40-O-(2-N-이미다졸릴아세톡시)에틸-라파마이신, 40-O-[2-(N-메틸-N'-피페라지닐)아세톡시]에틸-라파마이신, 39-O-데스메틸-39,40-O,0-에틸렌-라파마이신, (26R)-26-디히드로-40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신, 40-O-(2-아미노에틸)-라파마이신, 40-O-(2-아세트아미노에틸)-라파마이신, 40-O-(2-니코틴아미도에틸)-라파마이신, 40-O-(2-(N-메틸-이미다조-2'-일카르보에톡사미도)에틸)-라파마이신, 40-O-(2-에톡시카르보닐아미노에틸)-라파마이신, 40-O-(2-톨릴술폰아미도에틸)-라파마이신 및 40-O-[2-(4',5'-디카르보에톡시-1',2',3'-트리아졸-1'-일)-에틸]-라파마이신을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[1068] 본 발명에 유용한 다른 라파마이신 유사체는 라파마이신의 시클로헥실 고리 상의 히드록실 기 및/또는 28 위치의 히드록실 기가 히드록시에스테르 기로 대체된 유사체이고, 예를 들어 US RE44,768에서 확인되는 라파마이신 유사체, 예를 들어 템시롤리무스가 공지되어 있다.

[1069] 본 발명에 유용한 다른 라파마이신 유사체는 16 위치의 메톡시 기가 또 다른 치환기, 바람직하게는 (임의로 히드록시-치환된) 알킬닐옥시, 벤질, 오르토메톡시벤질 또는 클로로벤질에 의해 대체되고/거나 39 위치의 메톡시

기가 39 탄소와 함께 결실되어 라파마이신의 시클로헥실 고리가 39 위치 메톡시 기가 결여된 시클로헥틸 고리로 된 것; 예를 들어 그 내용이 본원에 참조로 포함되는 W095/16691 및 W096/41807에 기재된 바와 같은 것을 포함한다. 유사체는 라파마이신의 40-위치의 히드록시가 알킬화되고/거나 32-카르보닐이 환원되도록 추가로 변형될 수 있다.

[1070] W095/16691로부터의 라파마이신 유사체는 16-데메톡시-16-(펜트-2-이닐)옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-(부트-2-이닐)옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-(프로파르길)옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-(4-히드록시-부트-2-이닐)옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-벤질옥시-40-0-(2-히드록시에틸)-라파마이신, 16-데메톡시-16-벤질옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-오르토-메톡시벤질-라파마이신, 16-데메톡시-40-0-(2-메톡시에틸)-16-펜트-2-이닐)옥시-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-포르밀-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-히드록시메틸-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-카르복시-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-(4-메틸-피페라진-1-일)카르보닐-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-(모르폴린-4-일)카르보닐-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-[N-메틸, N-(2-피리딘-2-일-에틸)]카르바모일-42-노르-라파마이신 및 39-데메톡시-40-데스옥시-39-(p-톨루엔술폰닐히드라조노메틸)-42-노르-라파마이신을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[1071] W096/41807로부터의 라파마이신 유사체는 32-데옥소-라파마이신, 16-0-펜트-2-이닐-32-데옥소-라파마이신, 16-0-펜트-2-이닐-32-데옥소-40-0-(2-히드록시-에틸)-라파마이신, 16-0-펜트-2-이닐-32-(S)-디히드로-40-0-(2-히드록시에틸)-라파마이신, 32(S)-디히드로-40-0-(2-메톡시)에틸-라파마이신 및 32(S)-디히드로-40-0-(2-히드록시에틸)-라파마이신을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[1072] 또 다른 적합한 라파마이신 유사체는 그 내용이 참조로 포함되는 US2005/0101624에 기재된 바와 같은 우미롤리무스이다.

[1073] 달리 에베롤리무스 (아피니토르(Afinitor)®)로도 공지된 RAD001은 각각의 내용이 본원에 참조로 포함되는 US 5,665,772 및 W094/09010에 기재된 바와 같은 화학 명칭 (1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-디히드록시-12-{(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-히드록시에톡시)-3-메톡시시클로헥실]-1-메틸에틸}-19,30-디메톡시-15,17,21,23,29,35-헥사메틸-11,36-디옥사-4-아자-트리시클로[30.3.1.04,9]헥사트리아코타-16,24,26,28-테트라엔-2,3,10,14,20-펜타온을 갖는다.

[1074] 알로스테릭 mTOR 억제제의 추가의 예는 시롤리무스 (라파마이신, AY-22989), 40-[3-히드록시-2-(히드록시메틸)-2-메틸프로파노에이트]-라파마이신 (탐시롤리무스 또는 CCI-779로도 불림) 및 리다포롤리무스 (AP-23573/MK-8669)를 포함한다. 알로스테릭 mTOR 억제제의 다른 예는 조타롤리무스 (ABT578) 및 우미롤리무스를 포함한다.

[1075] 대안적으로 또는 추가로, 촉매 ATP-경쟁적 mTOR 억제제는 mTOR 키나제 도메인을 직접적으로 표적화하고, mTORC1 및 mTORC2 둘 다를 표적화하는 것으로 발견되었다. 이들은 라파마이신-저항성 mTORC1 결과물, 예컨대 4EBP1-T37/46 인산화 및 캡-의존성 번역을 조정하기 때문에, 또한 라파마이신으로서 이러한 알로스테릭 mTOR 억제제보다 mTORC1의 보다 유효한 억제제이다.

[1076] 촉매 억제제는 BEZ235 또는 2-메틸-2-[4-(3-메틸-2-옥소-8-퀴놀린-3-일-2,3-디히드로-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일)-페닐]-프로피오니트릴 또는 모노토실레이트 염 형태 (BEZ235의 합성은 W02006/122806에 기재되어 있음); 화학 명칭 {5-[2,4-비스-((S)-3-메틸-모르폴린-4-일)-피리도[2,3d]피리미딘-7-일]-2-메톡시-페닐}-메탄올을 갖는 CCG168 (달리 AZD-8055로 공지됨, 문헌 [Chresta, C.M., et al., Cancer Res, 2010, 70(1), 288-298]); 3-[2,4-비스[(3S)-3-메틸모르폴린-4-일]피리도[2,3-d]피리미딘-7-일]-N-메틸벤즈아미드 (W009104019); 3-(2-아미노벤조[d]옥사졸-5-일)-1-이소프로필-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-4-아민 (W010051043 및 W02013023184); N-(3-(N-(3-((3,5-디메톡시페닐)아미노)퀴녹살린-2-일)술폰아미드)페닐)-3-메톡시-4-메틸벤즈아미드 (W007044729 및 W012006552); 화학 명칭 1-[4-[4-(디메틸아미노)피페리딘-1-카르보닐]페닐]-3-[4-(4,6-디모르폴리노-1,3,5-트리아진-2-일)페닐]우레아를 갖는 PKI-587 (Venkatesan, A.M., J. Med.Chem., 2010, 53, 2636-2645); 화학 명칭 2,4-디플루오로-N-{2-메톡시-5-[4-(4-피리다지닐)-6-퀴놀리닐]-3-피리디닐}벤젠술폰아미드를 갖는 GSK-2126458 (ACS Med. Chem. Lett., 2010, 1, 39-43); 5-(9-이소프로필-8-메틸-2-모르폴리노-9H-퓨린-6-일)피리미딘-2-아민 (W010114484); (E)-N-(8-(6-아미노-5-(트리플루오로메틸)피리딘-3-일)-1-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-3-일)-3-메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-2(3H)-일리덴)시안아미드 (W012007926)를 포함한다.

[1077] 촉매 mTOR 억제제의 추가의 예는 8-(6-메톡시-피리딘-3-일)-3-메틸-1-(4-피페라진-1-일-3-트리플루오로메틸-페닐)-1,3-디히드로-이미다조[4,5-c]퀴놀린-2-온 (W02006/122806) 및 Ku-0063794 (Garcia-Martinez JM, et

al., Biochem J., 2009, 421(1), 29-42]를 포함한다. Ku-0063794는 라파마이신 (mTOR)의 포유동물 표적의 특이적 억제제이다. WYE-354는 촉매 mTOR 억제제의 또 다른 예이다 (Yu K, et al. (2009). Biochemical, Cellular, and In vivo Activity of Novel ATP-Competitive and Selective Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin. Cancer Res. 69(15): 6232-6240).

- [1078] 본 발명에 따라 유용한 mTOR 억제제는 상기 중 임의의 것의 전구약물, 유도체, 제약상 허용되는 염, 또는 그의 유사체를 또한 포함한다.
- [1079] mTOR 억제제, 예컨대 RAD001은 본원에 기재된 특정한 투여량을 기초로 하여 관련 기술분야에 널리-확립되어 있는 방법을 기초로 전달을 위해 제제화될 수 있다. 특히, 미국 특허 6,004,973 (본원에 참조로 포함됨)은 본원에 기재된 mTOR 억제제와 함께 사용가능한 제제의 예를 제공한다.
- [1080] CAR-유효성 또는 샘플 적합성을 평가하기 위한 방법 및 바이오마커
- [1081] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체 (예를 들어, 암, 예를 들어 혈액암을 갖는 대상체)에서 CAR-발현 세포 요법 (예를 들어, CLL-1 CAR 요법)의 유효성, 또는 CAR 요법 (예를 들어, CLL-1 CAR 요법)을 위한 샘플 (예를 들어, 분리반출술 샘플)의 적합성을 평가 또는 모니터링하는 방법을 특색으로 한다. 방법은 CAR 요법에 대한 유효성 또는 샘플 적합성의 값을 획득하는 것을 포함하며, 여기서 상기 값은 CAR-발현 세포 요법의 유효성 또는 적합성을 나타낸다.
- [1082] 실시양태에서, CAR 요법에 대한 유효성 또는 샘플 적합성의 값은 하기 중 1, 2, 3, 4, 5, 6개 또는 그 초과 (모두)의 측정치를 포함한다:
- [1083] (i) 샘플 (예를 들어, 분리반출술 샘플 또는 제조된 CAR-발현 세포 생성물 샘플) 내 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 더 어린 T 세포 (예를 들어, 더 어린 CD4 또는 CD8 세포, 또는 감마/델타 T 세포), 또는 초기 기억 T 세포 또는 그의 조합 중 1, 2, 3종 또는 그 초과 (예를 들어, 모두)의 수준 또는 활성;
- [1084] (ii) 샘플 (예를 들어, 분리반출술 샘플 또는 제조된 CAR-발현 세포 생성물 샘플) 내 활성화 T_{EFF} 세포, 활성화 T_{REG} 세포, 더 노화된 T 세포 (예를 들어, 더 노화된 CD4 또는 CD8 세포), 또는 후기 기억 T 세포 또는 그의 조합 중 1, 2, 3종 또는 그 초과 (예를 들어, 모두)의 수준 또는 활성;
- [1085] (iii) 샘플 (예를 들어, 분리반출술 샘플 또는 제조된 CAR-발현 세포 생성물 샘플) 내 면역 세포 소진 마커, 예를 들어 1, 2종 또는 그 초과 (예를 들어, PD-1, PD-L1, TIM-3 및/또는 LAG-3)의 수준 또는 활성. 한 실시양태에서, 면역 세포는 소진 표현형을 갖고, 예를 들어 적어도 2종의 소진 마커를 공동-발현하며, 예를 들어 PD-1 및 TIM-3을 공동-발현한다. 다른 실시양태에서, 면역 세포는 소진 표현형을 갖고, 예를 들어 적어도 2종의 소진 마커를 공동-발현하며, 예를 들어 PD-1 및 LAG-3을 공동-발현한다;
- [1086] (iv) 샘플 (예를 들어, 분리반출술 샘플 또는 제조된 CAR-발현 세포 생성물 샘플) 내 예를 들어 CD4+ 또는 CD8+ T 세포 집단에서의 CD27 및/또는 CD45RO- (예를 들어, CD27+ CD45RO-) 면역 이펙터 세포의 수준 또는 활성;
- [1087] (v) CCL20, IL-17a 및/또는 IL-6, PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3, CD57, CD27, CD122, CD62L, KLRG1로부터 선택된 바이오마커 중 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20종 또는 그 초과 (예를 들어, 모두)의 수준 또는 활성;
- [1088] (vi) CAR-발현 세포 생성물 샘플, 예를 들어 CLL-1-발현 세포 생성물 샘플 내 시토카인 수준 또는 활성 (예를 들어, 시토카인 레퍼토리의 품질); 또는
- [1089] (vii) 제조된 CAR-발현 세포 생성물 샘플 내 CAR-발현 세포의 형질도입 효율.
- [1090] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, CAR-발현 세포 요법은 복수 (예를 들어, 집단)의 CAR-발현 면역 이펙터 세포, 예를 들어 복수 (예를 들어, 집단)의 T 세포 또는 NK 세포, 또는 그의 조합을 포함한다. 한 실시양태에서, CAR-발현 세포 요법은 CLL-1 CAR 요법이다.
- [1091] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, (i)-(vii) 중 1개 이상의 측정치는 대상체로부터 획득된 분리반출술 샘플로부터 수득된다. 분리반출술 샘플은 주입 또는 재-주입 전에 평가될 수 있다.
- [1092] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, (i)-(vii) 중 1개 이상의 측정치는 제조된 CAR-발현 세포 생성물 샘플, 예를 들어 CLL-1 CAR-발현 세포 생성물 샘플로부터 수득된다. 제조된 CAR-발현 세포 생성물은 주입 또는 재-주입 전에 평가될 수 있다.

- [1093] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 대상체는 CAR-발현 세포 요법을 제공받기 전, 그 동안, 또는 제공받은 후에 평가된다.
- [1094] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, (i)-(vii) 중 1개 이상의 측정치는 유전자 발현, 유동 세포측정법 또는 단백질 발현 중 1종 이상에 대한 프로파일을 평가한다.
- [1095] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 방법은 (i)-(vii) 중 1개 이상의 측정치에 기초하여 대상체를 반응자, 비-반응자, 재발자 또는 비-재발자로서 확인하는 것을 추가로 포함한다.
- [1096] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 반응자 (예를 들어, 완전 반응자)는 비-반응자와 비교하여 GZMK, PPF1BP2, 또는 나이브 T 세포 중 1, 2종 또는 그 초과 (모두)의 보다 큰 수준 또는 활성을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1097] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 비-반응자는 반응자와 비교하여 IL22, IL-2RA, IL-21, IRF8, IL8, CCL17, CCL22, 이펙터 T 세포, 또는 조절 T 세포 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7종 또는 그 초과 (예를 들어, 모두)의 보다 큰 수준 또는 활성을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1098] 한 실시양태에서, 재발자는 비-재발자와 비교하여 하기 유전자: MIR199A1, MIR1203, uc021ovp, ITM2C, 및 HLA-DQB1 중 1종 이상 (예를 들어, 2, 3, 4종 또는 모두)의 증가된 발현 수준 및/또는 비-재발자와 비교하여 하기 유전자: PPIAL4D, TTTY10, TXLNG2P, MIR4650-1, KDM5D, USP9Y, PRKY, RPS4Y2, RPS4Y1, NCRNA00185, SULT1E1, 및 EIF1AY 중 1종 이상 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11종 또는 모두)의 감소된 발현 수준을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된 환자이다.
- [1099] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 완전 반응자는 참고 값, 예를 들어 CD8+ T 세포의 비-반응자 백분율과 비교하여 CD8+ T 세포의 보다 큰, 예를 들어 통계적으로 유의하게 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1100] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 완전 반응자는, 예를 들어 CD8+ 집단에서 참고 값, 예를 들어 CD27+ CD45RO- 면역 이펙터 세포의 비-반응자 수와 비교하여 CD27+ CD45RO- 면역 이펙터 세포의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1101] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 완전 반응자 또는 부분 반응자는 참고 값, 예를 들어 CD4+ T 세포의 비-반응자 백분율과 비교하여 CD4+ T 세포의 보다 큰, 예를 들어 통계적으로 유의하게 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1102] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 완전 반응자는 참고 값, 예를 들어 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 더 어린 T 세포 (예를 들어, 더 어린 CD4 또는 CD8 세포), 또는 초기 기억 T 세포의 비-반응자 수와 비교하여 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 더 어린 T 세포 (예를 들어, 더 어린 CD4 또는 CD8 세포, 또는 감마/델타 T 세포), 또는 초기 기억 T 세포 또는 그의 조합 중 1, 2, 3종 또는 그 초과 (예를 들어, 모두)의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1103] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 비-반응자는 참고 값, 예를 들어 활성화 T_{EFF} 세포, 활성화 T_{REG} 세포, 더 노화된 T 세포 (예를 들어, 더 노화된 CD4 또는 CD8 세포), 또는 후기 기억 T 세포의 반응자 수와 비교하여 활성화 T_{EFF} 세포, 활성화 T_{REG} 세포, 더 노화된 T 세포 (예를 들어, 더 노화된 CD4 또는 CD8 세포), 또는 후기 기억 T 세포 또는 그의 조합 중 1, 2, 3종 또는 그 초과 (예를 들어, 모두)의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1104] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 비-반응자는 면역 세포 소진 마커, 예를 들어 1, 2종 또는 그 초과 (예를 들어, PD-1, PD-L1, TIM-3 및/또는 LAG-3)의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다. 한 실시양태에서, 비-반응자는 반응자로부터의 PD-1 또는 LAG-3 발현 면역 이펙터 세포의 백분율과 비교하여 PD-1, PD-L1, 또는 LAG-3 발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어, CD4+ T 세포 및/또는 CD8+ T 세포) (예를 들어, CAR-발현 CD4+ 세포 및/또는 CD8+ T 세포)의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1105] 한 실시양태에서, 비-반응자는 소진 표현형을 갖는 면역 세포, 예를 들어 적어도 2종의 소진 마커를 공동-발현하는, 예를 들어 PD-1, PD-L1 및/또는 TIM-3을 공동-발현하는 면역 세포의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

것으로 확인된다. 다른 실시양태에서, 비-반응자는 소진 표현형을 갖는 면역 세포, 예를 들어 적어도 2종의 소진 마커를 공동-발현하는, 예를 들어 PD-1 및 LAG-3를 공동-발현하는 면역 세포의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

- [1106] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 비-반응자는 CAR-발현 세포 요법에 대해 반응자 (예를 들어, 완전 반응자)와 비교하여 CAR-발현 세포 집단 (예를 들어, CLL-1 CAR+ 세포 집단)에서 PD-1/ PD-L1+/LAG-3+ 세포의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1107] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 부분 반응자는 CAR-발현 세포 집단 (예를 들어, CLL-1 CAR+ 세포 집단)에서 반응자보다 PD-1/ PD-L1+/LAG-3+ 세포의 보다 높은 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1108] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 비-반응자는 CAR-발현 세포 집단 (예를 들어, CLL-1 CAR + 세포 집단)에서 PD1/ PD-L1+ CAR+의 소진 표현형 및 LAG3의 공동-발현을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1109] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 비-반응자는 반응자 (예를 들어, 완전 반응자)와 비교하여 CAR-발현 세포 집단 (예를 들어, CLL-1 CAR + 세포 집단)에서 PD-1/ PD-L1+/TIM-3+ 세포의 보다 큰 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1110] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 부분 반응자는 CAR-발현 세포 집단 (예를 들어, CLL-1 CAR + 세포 집단)에서 반응자보다 PD-1/ PD-L1+/TIM-3+ 세포의 보다 높은 백분율을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.
- [1111] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 분리반출물 샘플에서 CD8+ CD27+ CD45RO- T 세포의 존재는 CAR-발현 세포 요법 (예를 들어, CLL-1 CAR 요법)에 대한 대상체 반응의 양성 예측인자이다.
- [1112] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 분리반출물 샘플에서 높은 백분율의 PD1+ CAR+ 및 LAG3+ 또는 TIM3+ T 세포는 CAR-발현 세포 요법 (예를 들어, CLL-1 CAR 요법)에 대한 대상체 반응의 불량한 예후 예측인자이다.
- [1113] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 반응자 (예를 들어, 완전 또는 부분 반응자)는 하기 프로파일 중 1, 2, 3종 또는 그 초과 (또는 모두)를 갖는다:
- [1114] (i) 참고 값, 예를 들어 CD27+ 면역 이펙터 세포의 비-반응자 수와 비교하여 보다 큰 수의 CD27+ 면역 이펙터 세포를 가짐;
- [1115] (ii) 참고 값, 예를 들어 CD8+ T 세포의 비-반응자 수와 비교하여 보다 큰 수의 CD8+ T 세포를 가짐;
- [1116] (iii) 참고 값, 예를 들어 1종 이상의 체크포인트 억제제를 발현하는 세포의 비-반응자 수와 비교하여 1종 이상의 체크포인트 억제제, 예를 들어 PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3, 또는 KLRG-1, 또는 조합으로부터 선택된 체크포인트 억제제를 발현하는 보다 적은 수의 면역 세포를 가짐; 또는
- [1117] (iv) 참고 값, 예를 들어 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 나이브 CD4 세포, 비자극 기억 세포 또는 초기 기억 T 세포의 비-반응자 수와 비교하여 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 나이브 CD4 세포, 비자극 기억 세포 또는 초기 기억 T 세포 또는 그의 조합 중 1, 2, 3, 4종 또는 그 초과 (모두)의 보다 큰 수를 가짐.
- [1118] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, (vi)의 시토카인 수준 또는 활성은 시토카인 CCL20/MIP3a, IL17A, IL6, GM-CSF, IFN γ , IL10, IL13, IL2, IL21, IL4, IL5, IL9 또는 TNF α , 또는 그의 조합 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8종 또는 그 초과 (또는 모두)로부터 선택된다. 시토카인은 IL-17a, CCL20, IL2, IL6, 또는 TNFa 중 1, 2, 3, 4종 또는 그 초과 (모두)로부터 선택될 수 있다. 한 실시양태에서, 시토카인의 증가된 수준 또는 활성은 IL-17a 및 CCL20 중 1종 또는 둘 다로부터 선택되고, 이는 증가된 반응성 또는 감소된 재발을 나타낸다.
- [1119] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, (vii)에서 15% 이상의 형질도입 효율은 증가된 반응성 또는 감소된 재발을 나타낸다.
- [1120] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, (vii)에서 15% 미만의 형질도입 효율은 감소된 반응성 또는 증가된 재발을 나타낸다.
- [1121] 실시양태에서, 본원의 방법에 의해 확인된 반응자, 비-반응자, 재발자 또는 비-재발자는 임상 기준에 따라 추가로 평가될 수 있다. 예를 들어, 완전 반응자는 치료에 대해 완전 반응, 예를 들어 완전 완화를 나타낸 질환,

예를 들어 암을 갖거나, 또는 그를 갖는 대상체로 확인된다. 완전 반응은 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 NCCN 가이드라인®, 또는 문헌 [Cheson et al., J Clin Oncol 17:1244 (1999) 및 Cheson et al., "Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma", J Clin Oncol 25:579-586 (2007)] (이들 둘 다는 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)을 사용하여 확인될 수 있다. 부분 반응자는 치료에 대해 부분 반응, 예를 들어 부분 완화를 나타낸 질환, 예를 들어 암을 갖거나, 또는 그를 갖는 대상체로 확인된다. 부분 반응은, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 NCCN 가이드라인® 또는 체손(Cheson) 기준을 사용하여 확인될 수 있다. 비-반응자는 치료에 대해 반응을 나타내지 않는 질환, 예를 들어 암을 갖거나, 또는 그를 갖는 대상체로 확인되며, 예를 들어 환자는 안정 질환 또는 진행성 질환을 갖는다. 비-반응자는, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 NCCN 가이드라인® 또는 체손 기준을 사용하여 확인될 수 있다.

- [1122] 대안적으로 또는 본원에 개시된 방법과 조합하여, 상기 값에 대해 반응성인 것에 하기 중 1, 2, 3, 4종 또는 그 초과를 수행한다:
- [1123] 예를 들어 반응자 또는 비-재발자에게 CAR-발현 세포 요법의 투여;
- [1124] CAR-발현 세포 요법의 변경된 용량의 투여;
- [1125] CAR-발현 세포 요법의 스케줄 또는 시간 경과의 변경;
- [1126] 예를 들어 비-반응자 또는 부분 반응자에게 CAR-발현 세포 요법과 조합하여 추가의 작용제, 예를 들어 체크포인트 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 체크포인트 억제제의 투여;
- [1127] 비-반응자 또는 부분 반응자에게 CAR-발현 세포 요법을 사용한 처리 전 대상체에서 더 어린 T 세포의 수를 증가시키는 요법의 투여;
- [1128] 예를 들어 비-반응자 또는 부분 반응자로서 확인된 대상체에 대해 CAR-발현 세포 요법의 제조 방법의 변형, 예를 들어 CAR을 코딩하는 핵산을 도입하기 전 더 어린 T 세포의 풍부화, 또는 형질도입 효율의 증가;
- [1129] 예를 들어 비-반응자 또는 부분 반응자 또는 재발자에 대해 대체 요법의 투여; 또는
- [1130] 대상체가 비-반응자 또는 재발자이거나 또는 그러한 것으로 확인된 경우에, 예를 들어 CD25 고갈, 시클로포스파미드, 항-GITR 항체 또는 그의 조합의 투여 중 1종 이상에 의해 T_{REG} 세포 집단 및/또는 T_{REG} 유전자 서명의 감소.
- [1131] 특정 실시양태에서, 대상체는 항-GITR 항체에 의해 사전-처리된다. 특정 실시양태에서, 대상체는 주입 또는 재-주입 전 항-GITR 항체에 의해 처리된다.
- [1132] 생체중합체 전달 방법
- [1133] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 1종 이상의 CAR-발현 세포는 생체중합체 스캐폴드, 예를 들어 생체중합체 이식물을 통해 대상체에게 투여 또는 전달될 수 있다. 생체중합체 스캐폴드는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 전달, 확장, 및/또는 분산을 지지 또는 증진시킬 수 있다. 생체중합체 스캐폴드는 자연 발생적 또는 합성적일 수 있는 생체적합성 (예를 들어, 염증 또는 면역 반응을 실질적으로 유도하지 않음) 및/또는 생분해성 중합체를 포함한다.
- [1134] 적합한 생체중합체의 예는 단독의, 또는 임의의 다른 중합체 조성물과 임의의 농도 및 임의의 비로 조합된 한천, 아가로스, 알기네이트, 알기네이트/칼슘 포스페이트 시멘트 (CPC), 베타-갈락토시다제 (β -GAL), (1,2,3,4,6-펜타아세틸 a-D-갈락토스), 셀룰로스, 키틴, 키토산, 콜라겐, 엘라스틴, 젤라틴, 히알루론산, 콜라겐, 히드록시아파타이트, 폴리(3-히드록시부티레이트-코-3-히드록시-헥사노에이트) (PHBHHx), 폴리(락티드), 폴리(카프로락톤) (PCL), 폴리(락티드-코-글리콜리드) (PLG), 폴리에틸렌 옥사이드 (PEO), 폴리(락트산-코-글리콜산) (PLGA), 폴리프로필렌 옥사이드 (PPO), 폴리비닐 알콜 (PVA), 실크, 대두 단백질, 및 대두 단백질 단리물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 생체중합체는 부착- 또는 이동-촉진 분자, 예를 들어 림프구의 콜라겐 수용체에 결합하는 콜라겐-모방체 펩티드, 및/또는 자극 분자에 의해 증대 또는 변형되어, 전달되는 세포의 전달, 확장, 또는 기능, 예를 들어 항암 활성을 증진시킬 수 있다. 생체중합체 스캐폴드는 주사가능한, 예를 들어 겔 또는 반-고체, 또는 고체 조성물일 수 있다.
- [1135] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 대상체에게의 전달 전에 생체중합체 스캐폴드 상에 시딩될 수 있다. 실시양태에서, 생체중합체 스캐폴드는, 예를 들어 스캐폴드의 생체중합체에 혼입되거나 접합된, CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 본원에 기재된 1종 이상의 추가의 치료제 (예를 들어, 또 다른 CAR-발현 세포,

항체, 또는 소분자) 또는 작용제를 추가로 포함한다. 실시양태에서, 생체중합체 스캐폴드는 예를 들어 종양내로 주사되거나, 또는 종양에 또는 항종양 효과를 매개하기에 충분히 종양에 근접하여 외과적으로 이식된다. 생체중합체 조성물 및 그의 전달 방법의 추가의 예가 문헌 [Stephan et al., Nature Biotechnology, 2015, 33:97-101]; 및 W02014/110591에 기재되어 있다.

[1136] 제약 조성물 및 치료

[1137] 본 발명의 제약 조성물은 본원에 기재된 바와 같은 CAR-발현 세포, 예를 들어 복수의 CAR-발현 세포를 1종 이상의 제약상 또는 생리학상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제와 조합하여 포함할 수 있다. 상기 조성물은 완충제, 예컨대 중성 완충 염수, 포스페이트 완충 염수 등; 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 벡스트란, 만니톨; 단백질; 폴리펩티드 또는 아미노산, 예컨대 글리신; 항산화제; 킬레이팅제, 예컨대 EDTA 또는 글루타티온; 아주반트 (예를 들어, 수산화알루미늄); 및 방부제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 한 측면에서 정맥내 투여를 위해 제제화된다.

[1138] 본 발명의 제약 조성물은 치료할 (또는 예방할) 질환에 적절한 방식으로 투여될 수 있다. 투여의 양 및 빈도는 환자의 상태, 환자의 질환의 종류 및 중증도와 같은 인자에 의해 결정될 것이지만, 적절한 투여량은 임상 시험에 의해 결정될 것이다.

[1139] 한 실시양태에서, 제약 조성물은 예를 들어 내독소, 미코플라스마, 복제 적격 렌티바이러스 (RCL), p24, VSV-G 핵산, HIV gag, 잔류 항-CD3/항-CD28 코팅된 비드, 마우스 항체, 폴링된 인간 혈청, 소 혈청 알부민, 소 혈청, 배양 배지 성분, 박터 패키징 세포 또는 플라스미드 성분, 박테리아 및 진균으로 이루어진 군으로부터 선택된 오염물이 실질적으로 없고, 예를 들어 검출가능한 수준의 오염물이 없다. 한 실시양태에서, 박테리아는 알칼리 게네스 파에칼리스(*Alcaligenes faecalis*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 에스케리키아 콜라이 (*Escherichia coli*), 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenza*), 네이세리아 메닝기티데스(*Neisseria meningitides*), 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 스태필로코쿠스 아우레우스 (*Staphylococcus aureus*), 스트렙토코쿠스 뉴모니아(*Streptococcus pneumonia*), 및 스트렙토코쿠스 피오게네스 (*Streptococcus pyogenes*) 군 A로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종이다.

[1140] "면역학적 유효량", "항종양 유효량", "종양-억제 유효량", 또는 "치료량"이 제시되는 경우에, 투여할 본 발명의 조성물의 정확한 양은 연령, 체중, 종양 크기, 감염 또는 전이의 정도, 및 환자 (대상체)의 상태에서의 개별 차이를 고려하여 의사가 결정할 수 있다. 본원에 기재된 T 세포를 포함하는 제약 조성물은 10^4 내지 10^9 개 세포/kg 체중, 일부 경우에 10^5 내지 10^6 개 세포/kg 체중 (상기 범위 내의 모든 정수 값 포함)의 투여량으로 투여될 수 있는 것으로 일반적으로 언급될 수 있다. T 세포 조성물은 또한 이들 투여량으로 다중 횟수로 투여될 수 있다. 세포는 면역요법에서 통상적으로 공지되어 있는 주입 기술을 사용하여 투여될 수 있다 (예를 들어 [Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988] 참조).

[1141] 특정 측면에서, 활성화된 T 세포를 대상체에게 투여한 후, 후속적으로 혈액을 채취하고 (또는 분리만출술을 수행하고), 본 발명에 따라 그로부터 T 세포를 활성화하고, 환자에게 이들 활성화되고 확장된 T 세포를 재주입하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 과정은 수주마다 다중 횟수로 수행될 수 있다. 특정 측면에서, T 세포는 10cc 내지 400cc의 혈액 채취물로부터 활성화될 수 있다. 특정 측면에서, T 세포는 20cc, 30cc, 40cc, 50cc, 60cc, 70cc, 80cc, 90cc 또는 100cc의 혈액 채취물로부터 활성화된다.

[1142] 대상 조성물의 투여는 에어로졸 흡입, 주사, 섭취, 수혈, 이식(implantation) 또는 이식(transplantation)에 의한 것을 포함하는 임의의 편리한 방식으로 수행될 수 있다. 본원에 기재된 조성물은 경동맥으로, 피하로, 피내로, 종양내로, 결절내로, 수질내로, 근육내로, 정맥내 (i.v.) 주사에 의해, 또는 복강내로 환자에게 투여될 수 있다. 한 측면에서, 본 발명의 T 세포 조성물은 피부내 또는 피하 주사에 의해 환자에게 투여된다. 한 측면에서, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포) 조성물은 i.v. 주사에 의해 투여된다. CAR-발현 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)의 조성물은 종양, 림프절, 또는 감염 부위 내로 직접 주사될 수 있다.

[1143] 특정한 예시적인 측면에서, 대상체는 백혈구분리만출술을 거칠 수 있고, 여기서 백혈구는 수집, 풍부화, 또는 생체의 고갈되어 관심 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)를 선택하고/거나 분리한다. 이들 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포) 분리물은 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 확장되고, 본 발명의 1종 이상의 CAR 구축물이 도입되어, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)를 생성할 수 있도록 처리될 수 있다. 그를 필요로 하는 대상체는 후속적으로 고용

량 화학요법에 이어 말초 혈액 줄기 세포 이식에 의하는 표준 치료를 거칠 수 있다. 특정 측면에서, 이식 이후에 또는 이식과 공동으로, 대상체는 본 발명의 확장된 CAR-발현 세포 (예를 들어, CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 주입을 받는다. 추가의 측면에서, 확장된 세포는 수술 전에 또는 수술 이후에 투여된다.

[1144] 환자에게 투여할 상기 치료의 투여량은 치료되는 상태의 정확한 속성 및 치료의 수용자에 따라 달라질 것이다. 인간 투여를 위한 투여량의 스케일링은 관련 기술분야에서 허용되는 실시예에 따라 수행될 수 있다. 예를 들어, 일반적으로 캄파트에 대한 용량은 통상적으로 1 내지 30일의 기간 동안 매일 투여되는, 성인 환자의 경우에 1 내지 약 100 mg 범위 내일 것이다. 바람직한 1일 용량은 1일에 1 내지 10 mg이지만, 일부 경우에 1일에 40 mg까지의 보다 많은 용량이 사용될 수 있다 (미국 특허 번호 6,120,766에 기재됨).

[1145] 한 실시양태에서, CAR은 예를 들어 시험관내 전사를 사용하여 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포) 내로 도입되고, 대상체 (예를 들어, 인간)는 본 발명의 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포) 세포의 초기 투여 및 본 발명의 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포) 세포의 1회 이상의 후속 투여를 제공받고, 여기서 1회 이상의 후속 투여는 이전 투여 후 15일 미만에, 예를 들어 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2일에 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포)의 1회 초과 투여는 1주에 대상체 (예를 들어, 인간)에게 투여되고, 예를 들어 본 발명의 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포)의 2, 3 또는 4회 투여가 1주에 투여된다. 한 실시양태에서, 대상체 (예를 들어, 인간 대상체)는 1주에 1회 초과의 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포) 세포의 투여 (예를 들어, 1주에 2, 3 또는 4회 투여) (본원에서 사이클로도 지칭됨)를 제공받고, 이어서 어떠한 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포) 투여도 없는 1주에 이어서, CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포)의 1회 이상의 추가 투여 (예를 들어, 1주에 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포)의 1회 초과의 투여)가 대상체에게 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 대상체 (예를 들어, 인간 대상체)는 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포)의 1회 초과의 사이클을 제공받고, 각각의 사이클 사이의 시간은 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 또는 3일 미만이다. 한 실시양태에서, CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포)는 1주에 3회 투여 동안 격일로 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 CAR-발현 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포, NK 세포)는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 또는 그 초과 동안 투여된다.

[1146] 한 측면에서, CLL-1 CAR-발현 세포, 예를 들어, CLL-1 CART 또는 CLL-1 CAR-발현 NK 세포는 렌티바이러스 바이러스 벡터, 예컨대 렌티바이러스를 사용하여 생성된다. 그러한 방식으로 생성된 CAR-발현 세포, 예를 들어 CLL-1 CART 또는 CAR-발현 NK 세포는 안정한 CAR 발현을 가질 것이다.

[1147] 한 측면에서, CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 또는 CAR-발현 NK 세포는 바이러스 벡터, 예컨대 감마레트로바이러스 벡터, 예를 들어 본원에 기재된 감마레트로바이러스 벡터를 사용하여 생성된다. 이들 벡터를 사용하여 생성된 CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 또는 CAR-발현 NK 세포는 안정한 CAR 발현을 갖는다.

[1148] 한 측면에서, CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 또는 CAR-발현 NK 세포는 형질도입 후 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15일 동안 CAR 벡터를 일시적으로 발현한다. CAR의 일시적 발현은 RNA CAR 벡터 전달에 의해 실행될 수 있다. 한 측면에서, CAR RNA는 전기천공에 의해 T 세포 내로 형질도입된다.

[1149] 일시적으로 발현하는 CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 또는 CAR-발현 NK 세포를 사용하여 (특히, 무린 scFv 보유 CART에 의해) 치료받는 환자에서 일어날 수 있는 잠재적인 이슈는 다중 치료 후 아나필락시스이다.

[1150] 이러한 이론에 얽매이지는 않지만, 이러한 아나필락시스 반응은 체액성 항-CAR 반응, 즉, 항-IgE 이소형을 갖는 항-CAR 항체를 발생시키는 환자에 의해 유발될 수 있는 것으로 여겨진다. 환자의 항체 생산 세포는 항원의 노출에서 10 내지 14일 중단이 있을 때 IgG 이소형 (아나필락시스를 유발하지 않음)으로부터 IgE 이소형으로 부류 전환을 거치는 것으로 생각된다.

[1151] 환자가 일시적 CAR 요법 (예컨대, RNA 형질도입에 의해 생성된 것)의 과정 동안 항-CAR 항체 반응을 생성할 위험이 크면, CART 주입 중단은 10 내지 14일 초과로 지속되어서는 안된다.

[1152] 실시예

[1153] 본 발명은 하기 실험 실시예를 참조하여 추가로 상세히 기재된다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로 제공되고, 달리 명시되지 않는 한 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 본 발명은 어떠한 방식으로든 하기 실시예에 제한되는 것으로 해석되어서는 안되고, 대신에 본원에 제공된 교시의 결과로서 분명해지는 임의의 및 모

든 변형을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

- [1154] 추가의 설명 없이, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 선행하는 상세한 설명 및 하기 예시적인 실시예를 사용하여, 본 발명의 화합물을 제조 및 이용하고 청구된 방법을 실시할 수 있는 것으로 여겨진다. 하기 작업 실시예는 본 발명의 다양한 측면을 구체적으로 나타내고, 나머지 개시내용을 어떠한 방식으로든 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.
- [1155] 실시예 1: CAR 구축물의 생성
- [1156] 완전 인간 항-CD33 단일쇄 가변 단편(scFv)을 생성하여 세포내 CD3제타쇄 및 4-1BB의 세포내 공동-자극 도메인을 갖는 렌티바이러스 발현 벡터 내로 클로닝하였고, 표 1에 표시된 명칭이 주어졌다(이는 상세한 설명에 제시됨).
- [1157] VL 및 VH 도메인이 scFv에 출현하는 순서는 다르고(즉, VL-VH, 또는 VH-VL 배향), 각각의 서브유닛이 서열 GGGGS(서열식별번호: 25)(예를 들어, (G4S)₃(서열식별번호: 28) 또는 (G4S)₄(서열식별번호: 27))를 포함하는 것인 3 또는 4개의 카피의 "G4S"(서열식별번호: 25) 서브유닛은 가변 도메인에 연결되어 표 2에 제시된 바와 같은 전체 scFv 도메인을 생성하였다.
- [1158] 인간 scFv 단편의 서열(서열식별번호: 39-51)이 본원의 표 2에 제공된다(상세한 설명에서). 이들 클론은 모두 CD3제타쇄로부터 유래된 공동-자극 도메인의 신호 도메인 내에 Q/K 잔기 변화를 함유하였다. 이어서 CAR scFv 단편을 렌티바이러스 벡터 내로 클로닝하여 단일 코딩 프레임 내에서, 발현을 위한 EF1 알파 프로모터(서열식별번호: 11)를 사용하여 전장 CAR 구축물을 생성하였다.
- [1159] CAR 구축물의 서열 및 그의 도메인 서열은 상세한 설명에 열거되어 있다. 인간 CAR 구축물의 분석을 실시예 2-5에 기재된 바와 같이 수행하였다.
- [1160] 실시예 2: 인간 scFv 보유 CART의 분석 및 시험관내 활성화
- [1161] 항-CLL-1 CAR 구축물을, NFAT 프로모터에 의해 구동되는 루시페라제 리포터를 함유하는 Jurkat 세포주(JNL 세포로 불림)를 사용하여 활성화에 대해 평가하였다. CAR 활성을 이러한 NFAT-구동 리포터의 활성화로서 측정하였다. CART 구축물을 함유하는 렌티바이러스 상청액을 형질도입을 위해 JNL 세포에 첨가하였다. 형질도입 4-6일 후, JNL 세포를 하기 기재된 바와 같이 FACS에 의해 CAR 발현에 대해 평가하거나(도 2a, 2b, 및 2c), 또는 표적-양성(PL21, THP1, HL60, U937) 또는 표적-음성(K562) 세포주와 표시된 이펙터(JNL) 대 표적 세포주(E:T) 비로 혼합하여 활성화를 촉발하였다. 공동-인큐베이션 20시간 후에, 엔비전 기기 상에서 브라이트-글로(Bright-Glo)TM 루시페라제 검정을 사용하여 루시페라제 신호를 측정하였다(도 1a, 1b, 및 2c).
- [1162] CLL-1 발현("CLL-1+") 표적에 대한 반응으로 CLL-1 CAR 형질도입된 T 세포("CART-CLL-1" 또는 "CART-CLL-1 T 세포")의 이펙터 T 세포 반응의 양 및 품질에 기초하여 최적 항-CLL-1 CAR 구축물을 선택하였다. 이펙터 T 세포 반응은 세포 확장, 증식, 배가, 시토카인 생산 및 표적 세포 사멸 또는 세포용해 활성화(탈과립화)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [1163] CART-CLL-1의 생성
- [1164] 인간 scFv 코딩 렌티바이러스 전달 벡터를 사용하여 VSVg 유사형화 렌티바이러스 입자 내로 패키징된 게놈 물질을 생산하였다. 렌티바이러스 전달 벡터 DNA를 리포펙타민 시약과 조합하여 VSVg, gag/pol 및 rev의 3개의 패키징 성분과 혼합하여, 이들을 함께 렌티-X 293T 세포(클론테크(Clontech)) 내로 형질감염시켰다.
- [1165] 30시간 후에, 배지를 수집하고, 여과하고, -80℃에서 저장하였다. 치료적 CART-CLL-1은 정상 분리반출술을 거친 공여자로부터의 혈액으로 시작하여 생성하였고, 그의 나이브 T 세포는 T 세포, CD4+ 및 CD8+ 림프구에 대한 음성 선택에 의해 수득하였다. 이들 세포를 37℃, 5% CO₂에서 RPMI 1640, 10% 열-불활성화 소 태아 혈청(FCS), 2 mM L-글루타민, 1x 페니실린/스트렙토마이신, 100 μM 비-필수 아미노산, 1 mM Na피루베이트, 10 mM HEPES, 및 55 μM 2-메르캅토에탄올 중에서 CD3x28 비드(디나비즈(Dynabeads)[®] 인간 T-확장 CD3/CD28, 인비트로젠(Invitrogen))에 의해 1:3의 비로 활성화시켰다. T 세포를 24-웰 플레이트의 웰당 0.5 mL 배지 중 1x10⁶ 개 T 세포로 배양하였다. 24시간 후에, T 세포는 과열되었고, 0.5 mL의 바이러스 상청액을 첨가하였다. T 세포는 대수 성장 패턴으로 분열하기 시작하였고, 이를 세포 카운트/mL를 측정함으로써 모니터링하고, T 세포를 2 일 마다 신선한 배지 중에 희석하였다. T 세포는 대략 10일 후에 휴지하기 시작했기 때문에, 대수 성장은 줄어들었다. 느린 성장 속도 및 ~300 f1에 달하는 T 세포 크기의 조합은 추후 분석을 위해 동결보존시킬 T 세포에

대한 상태를 결정하였다.

- [1166] 동결보존 전에, 형질도입된 세포 (세포 표면 상에서 항-CLL-1 CAR을 발현함)의 백분율 및 그의 발현의 상대 형광 강도를 단백질 L (도 3a 및 22a) 또는 검출 시약으로서 비오티닐화된 재조합 인간 CLL-1 단백질 (도 3b 및 22b)을 사용하여 BD LSR포르테사(BD LSRFortessa) 또는 BD-FACScan(BD-FACSCanto) 상에서 유동 세포측정 분석에 의해 결정하였다. FACS로부터의 상대 형광 강도의 히스토그램 플롯은 형질도입된 T 세포의 백분율을 제시하였다. 형질도입은 10-50%의 CART 양성 세포 범위를 발생시켰다.
- [1167] CART-CLL-1 재지시된 T 세포의 세포용해 활성 및 시토카인 분비의 평가
- [1168] 사멸시키고 시토카인을 분비하는 CART-CLL-1 T 세포의 기능적 능력을 평가하기 위해, 세포를 해동하고 밤새 회복되게 하였다.
- [1169] T 세포 사멸은 루시페라제를 안정적으로 발현하는 CLL-1-발현 PL21 (도 4a) 및 HL-60 (도 4b) 급성 골수 백혈병 세포주에 대해 지시되었다. 비-CLL-1 발현 U87 세포를 대조군으로서 사용하였고 (도 4c), 비형질도입된 T 세포를 사용하여 비-특이적 배경 사멸 수준을 결정하였다. CART-CLL-1의 세포용해 활성이 10:1의 이펙터:표적 세포 비의 역가로서 측정되었고, 이펙터가 항-CLL-1 키메라 수용체를 발현하는 T 세포로서 정의된 경우에 T 세포를 3-배 하향 희석하였다. 적절한 수의 T 세포를 일정한 수의 표적 세포와 혼합하여 검정을 개시하였다. 20시간 후 엔비전 기기 상에서 브라이트-글로™ 루시페라제 검정을 사용하여 루시페라제 신호를 측정하였다.
- [1170] 이들 사멸 곡선을 비교하여, 이펙터 세포의 양의 적정은 CLL-1을 발현하는 세포가 파괴되었음을 제시하였다. 인간 scFv 보유 CAR-CLL-1 세포로 형질도입된 동일한 공여자로부터의 T 세포는 CLL-1+ 표적을 선택적으로 사멸시킬 수 있었다. 흥미롭게도, 모든 CART-CLL-1 세포가 활성인 것은 아니었다. 클론 13을 함유하는 CART 세포는 표적-발현 세포의 존재 하에서도 본 검정에서 불활성이었다.
- [1171] CART-CLL-1 세포의 시토카인 생산을 측정하기 위해, 세포를 해동하고, 밤새 회복되게 하였다. 비형질도입된 T 세포 (UTD)를 배경 T 세포 효과에 대한 비-특이적 대조군으로서 사용하였다. T 세포는 HL-60, PL21, 또는 U87 세포에 대해 지시되었다. 검정은, 이펙터가 항-CLL-1 CAR을 발현하는 T 세포로서 정의된 경우에 1:1 또는 10:1의 이펙터:표적 비로 시험하였다. 인간 시토카인 검출을 위한 CBA-플렉스 키트를 사용한 시토카인 TNF-알파 (도 5a), IL-2 (도 5b), 및 INF-감마 (도 5c)의 분석을 위해 배지가 제거되었을 때 세포의 혼합 후 24시간 동안 검정을 실행하였다.
- [1172] CART-CLL-1 T 세포를 CLL-1을 내인성으로 발현하는 암 세포와 배양한 경우에, CLL-1-13을 제외하고 모든 CLL-1-CART는 표적-발현 세포에 대한 반응으로 시토카인을 생산하였다. 낮은 CLL-1-발현 표적 세포에 대한 다양한 CLL-1-CART 클론의 반응성에서의 차이는 이들 구축물로 형질도입된 CART 세포의 더 나은 임상 효능으로 해석될 수 있다.
- [1173] CART-CLL-1의 증식 능력 평가
- [1174] CART-CLL1 T 세포를 표적 세포 상의 항원에의 노출에 대한 반응으로 증식하는 그의 능력에 대해 시험하였다. 다중 CLL-1 CAR 구축물, CLL-6, CLL-9, CLL-10, CLL-11, CLL-12, 및 CLL-13을 시험하였다. 표적 세포는 U937, PL-21, HL60, 및 Molm13 세포를 포함하였다. 검정일 (제0일)에, 표적 세포를 카운팅하고, 50ml 튜브로 6 mL의 T 세포 배지 중 3e6개 세포/mL로 옮겼다. 표적 세포를 빙상에서 10,000 rad로 방사선조사하였다. 방사선조사 후, 표적 세포를 T 세포 배지 중에서 2회 세척하고, 카운팅하고, 빙상에서 T 세포 배지 중 5e5개 세포/mL로 재현탁시켰다.
- [1175] 동결된 형질도입된 T 세포를 해동하고, 10mL 완전 T 세포 배지 중에서 세척하고, 300g에서 10분 동안 회전시키고, RT에서 3mL의 완전 T 세포 배지 중에 온화하게 재현탁시켰다. 이어서 T 세포를 셀로미터 내에서 카운팅하고, 10 mL의 배지 중 2.5e6/mL로 재현탁시켰다. 96 웰 U-바닥 플레이트에서, 25,000개의 방사선조사된 표적 세포 및 25,000개의 형질도입된 CAR T 세포 (1:1 비)를 이중 웰로 혼합하였다. 개별 웰에서, 75,000개의 항-CD3/CD28 비드를 100 μ l의 배지 중 25,000개의 형질도입된 T 세포에 첨가하여 양성 대조군으로서 1:3 세포-대-비드 비를 생성하고; 또 다른 웰에서, 100 μ l의 배지를 배지-단독 대조군으로서 25,000개의 형질도입된 T 세포 단독에 첨가하였다. 세포를 4일 동안 37°C, 5% CO₂에서 인큐베이션하였다.
- [1176] 제4일에, 세포를 수거하고, 단백질 L 또는 재조합 인간 CLL1 단백질을 사용한 CD4, CD8, 및 CAR의 FACS를 위한 염색을 위해 U-바닥 플레이트 상의 동일한 웰로의 피펫팅 및 전달에 의해 이중물을 혼합하였다. 염색 후, 세포를 120 μ l MACS+0.5% BSA 완충제 중에 재현탁시키고, 20 μ l/웰 카운트브라이트 비드를 각각의 웰에 첨가하였다.

증식은 2500개의 비드를 카운팅하는데 사용된 시간 내에 검출된 FACS 양성 세포의 수로서 측정하였다.

- [1177] 도 23a 및 23b에 제시된 바와 같이, CLL-1 CAR 구축물 CLL-6, CLL-9, CLL-10, CLL-11, 및 CLL-12를 발현하는 세포는 상이한 표적 세포의 존재 하에 증식되었다.
- [1178] 실시예 3: CLL-1 독성 연구
- [1179] CLL-1을 유동 세포측정법에 의해 상업적으로 입수가 가능한 항체 (클론 HIM3-4, 이바이오사이언스)를 사용하여 측정하였다. 여기서의 결과는 CLL-1이 AML을 갖는 대부분의 원발성 환자 샘플에서 발현된다는 것을 입증하였다 (AML 모세포는 표준 측방 산란 저 CD45dim 특징을 사용하여 게이팅됨) (도 6).
- [1180] 2명의 상이한 공여자로부터의 T 세포를 CLL-1로 형질도입하였고 (도 6), 이는 35-45%의 형질도입 효율을 발생시켰다. T 세포를 CD3/CD28 디나비즈 (인비트로젠)로 먼저 자극하고, IL-2 지원 하에 혈청 무함유 T 세포 배지 중에 유지시켰다. 이어서 다음 날 렌티바이러스 벡터를 사용하여 T 세포를 CLL-1 (도 6) CAR로 형질도입하고, 배지 중에서 약 10일 동안 확장시켰다. 이어서 배지 세포 부피가 300 fl에 달하면 T 세포를 동결시켰다. T 세포 상에서의 CAR 발현을 바이오티닐화 CLL-1 단백질 (시노 바이올로지칼(Sino Biological))을 사용한 유동 세포측정법에 의해 검출하였고, 스트렙타비딘을 사용하여 2차 염색하였다. 여기서 제시된 결과는 CAR로 형질도입된 T 세포의 형질도입 효율을 입증하였다 (도 7a 및 7b).
- [1181] CART123, CLL1-CART 세포 및 비형질도입된 T 세포를 CD123+/CLL1+ 세포주 THP-1, CLL1+/CD123+인 2종의 원발성 AML 샘플, 및 대조군 ALL 세포주 NALM6과 4시간 동안 인큐베이션하였다. CD107a 탈과립화를 유동 세포측정법에 의해 측정하였다 (8a). CLL-1 CART 세포는 THP1 및 원발성 AML 샘플에 대해서는 특이적 탈과립화를 거쳤지만 대조군 세포주에 대해서는 그렇지 않았다 (도 8b). 여기서 제시된 결과는 CLL1-CART 세포가 CLL1+ 세포주 및 원발성 AML 샘플에 대해 특이적 탈과립화를 거친다는 것을 입증하였다.
- [1182] CART123, CLL1-CART 세포 및 비형질도입된 T 세포를 CD123+/CLL1+ 세포주 THP-1, CLL1+/CD123+인 2종의 원발성 AML 샘플, 및 대조군 ALL 세포주 NALM6과 4시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 수거하고, 세포질내 TNF α 를 유동 세포측정법에 의해 측정하였다. 특히 THP1 및 원발성 AML 샘플과의 인큐베이션 후에 더 많은 CLL-1 CART 세포가 TNF- α 를 생산하였지만, 대조군 세포주와의 인큐베이션에 의해서는 그렇지 않았다. 여기서 제시된 결과는 CLL1-CART 세포가 CLL1+ 세포주 및 원발성 AML 샘플과의 인큐베이션 후에 TNF- α 를 생산한다는 것을 입증하였다 (도 9a 및 9b).
- [1183] CART123, CLL1-CART 세포 및 비형질도입된 T 세포를 CD123+/CLL1+ 세포주 THP-1, CLL1+/CD123+인 2종의 원발성 AML 샘플, 및 대조군 ALL 세포주 NALM6과 4시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 수거하고, 세포질내 IL-2를 유동 세포측정법에 의해 측정하였다. 특히 THP1 및 원발성 AML 샘플과의 인큐베이션 후에 더 많은 CLL-1 CART 세포가 IL-2를 생산하였지만, 대조군 세포주와의 인큐베이션에 의해서는 그렇지 않았다. 여기서 제시된 결과는 CLL1-CART 세포가 CLL1+ 세포주 및 원발성 AML 샘플과의 인큐베이션 후에 IL-2를 생산한다는 것을 입증하였다 (도 10a 및 10b).
- [1184] CART123, CLL1-CART 세포 및 비형질도입된 T 세포를 CD123+/CLL1+ 세포주 THP-1 및 MOLM14, CLL1+/CD123+인 원발성 AML 샘플, 및 대조군 외투 세포 림프종 세포주 JEKO와 24시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 수거하고, 7-AAD 및 카운팅 비드를 첨가하였다. 이어서 종양 세포의 CFSE-표지화 후에 유동 세포측정법 기반 검정을 사용하여 (예를 들어, 문헌 [Cao et al, Cytometry Part A 2010;7&A:534-545]), 또는 CART 세포를 루시페라제-발현 표적 세포와 다양한 이펙터-대-표적 비로 최대 20시간 동안 인큐베이션한 다음 표적 세포에 의해 방출되는 광자에 대한 광학 영상화에 의해, 사멸을 측정하였다. 이러한 후자의 검정에서, 살아있는 표적 세포의 수는 방출된 광자의 수와 양의 상관관계가 있다. CLL1-CART 세포는 표시된 E:T 비에서 MOLM14 (도 11d), THP-1 (도 11a) 및 원발성 AML 샘플 (도 11b)의 특이적 용해를 발생시켰지만 대조군 세포주 JEKO (도 11c)는 그렇지 않았다. 여기서 제시된 결과는 CLL1-CART 세포가 CLL-1+ 세포주 MOLM14 및 THP-1 및 원발성 AML 샘플을 특이적으로 사멸시킨다는 것을 입증하였다 (도 11a-11d).
- [1185] MOLM14, THP-1, 및 2종의 원발성 AML 샘플에 대한 반응으로 CART123, CART33 및 CLL1-CART 세포의 증식이 측정되었다. T 세포를 CFSE로 표지하고, 표적과 120시간 동안 1:1의 이펙터:표적 비로 인큐베이션하였다. CLL1-CART 세포는 MOLM14, THP1 및 원발성 AML 샘플에 대한 반응으로 특이적 증식을 거쳤다. 비-증식 T 세포는 단일의 선명한 피크의 CFSE 표현 (FITC 채널에서의 녹색 형광에 의함)을 유지한 반면에, 증식 CART 세포는 기준선보다 낮은 1개 초과 CFSE 피크 및 표현을 가졌다. 여기서 제시된 결과는 CLL1-CART 세포가 MOLM14, THP-1 및 원발성 AML 샘플에 반응하여 증식한다는 것을 입증하였다 (도 12a 및 12b).

- [1186] 도 13은 자가 이종이식편을 사용하여 CLL-1 CART 세포의 조혈 줄기 세포 독성을 검정하는 개략적 다이어그램을 나타낸다. NSGS (IL-3, GM-CSF, 줄기 세포 인자에 대해 트랜스제닉인 NOD-SCID-감마 마우스) 마우스에게 부술관을 i.p. 제공하고, 다음 날 정상 공여자로부터의 T 세포 고갈된 골수를 제공하였다. 4주 후에 말초 혈액의 유동 세포측정 분석에 의해 생착을 확인하였고, 이는 >1%의 순환 CD45 양성 세포로서 정의되었다. 이어서 마우스를 정맥내 꼬리 정맥 주사에 의해 자가 T 세포로 처리하였다. T 세포는 동일한 공여자로부터 유래되었고, CART33, CLL1-CAR 또는 UTD로 형질도입되었다. 제4 군은 어떠한 처리도 제공받지 않았다. 이어서 마우스를 제 7일, 제14일 및 제21일에 안와후 채혈하였다.
- [1187] CLL-1 발현이 인간화 이종이식편으로부터의 상이한 말초 혈액 세포 상에서 측정되었다. 마우스를 마취시킨 후, 표준 기술을 사용하여 안와후 정맥을 통해 채혈하였다. 이어서 표준 부피의 50-60ul 혈액을 1ml의 ACK 용해 완충제 중에 용해시켰다. 이어서 혈액을 형광-표지된 항체를 사용하여 염색하고, 상이한 말초 혈액 세포 상에서의 CLL-1의 발현을 유동 세포측정법을 사용하여 검출하였다. 이러한 분석을 기준선, T 세포 고갈된 정상 공여자 골수와 생착 후, 및 임의의 처리 전에 수행하였다. 1마리의 마우스의 말초 혈액 분석의 대표적인 FACS 플롯을 제시한다 (도 14a). CLL-1은 단핵구 (CD14+ 세포), 골수 세포 (CD33+ 및 CD123+ 세포), B 세포 (CD19+ 세포) 상에서 발현되었지만, 혈소판 (CD41+ 세포) 또는 T 세포 (CD3+ 세포) 상에서는 발현되지 않았다. 대표적인 히스토그램 표현을 제시한다 (도 14b). 24마리의 마우스로부터의 말초 혈액 분석의 개략적 플롯 표현을 제시한다 (도 14c). 여기서 제시된 결과는 CLL-1이 인간화 마우스에서 상이한 골수계 세포 및 B 세포 상에서 발현된다는 것을 입증하였다.
- [1188] CLL1-CART 세포의 조혈 줄기 세포 독성을 자가 모델을 사용하여 결정하였다. 유동 세포측정법에 의한 말초 혈액 분석의 대표적인 플롯. CART33 또는 CLL1-CART 세포를 사용한 처리는 골수 세포 (CD123+, CD33+, CLL1+), 및 CD14+ 단핵구에서 유의한 감소를 발생시켰다. 여기서 제시된 결과는 CLL-1이 인간화 마우스에서 상이한 골수계 세포 및 B 세포 상에서 발현된다는 것을 입증하였다.
- [1189] 인간화 이종이식편으로부터의 상이한 골수 전구 세포 상에서의 CLL-1 발현을 검정하였다. T 세포를 사용한 처리 4주 후에, 마우스를 안락사시키고, 골수를 수거하여 분석하였다. 대퇴골을 플러싱하여 골수를 수거하였다. 대조군 비처리 동물로부터의 골수 샘플 참조로 사용하여 상이한 전구세포 상에서의 CLL-1의 발현을 분석하였다. 이어서 샘플을 형광-표지된 항체를 사용하여 염색하고, 상이한 전구 세포 상에서의 CLL-1의 발현을 유동 세포측정법을 사용하여 검출하였다. CLL-1은 CD34+CD38- 조혈 줄기 세포, CD123 브라이트, CD123 dim 및 CD33 양성 세포 상에서 발현되었다. CD45^{dim}, LIN⁻, 살아있는 세포에 대해 게이팅하였다. 여기서 제시된 결과는 CLL-1이 인간화 마우스에서 상이한 골수 전구세포 및 조혈 줄기 세포 상에서 발현된다는 것을 입증하였다 (도 16a-16d).
- [1190] 도 17은 인간화 면역계 (HIS) 이종이식편을 사용하여 CLL-1 CART 세포의 조혈 줄기 세포 독성을 검정하는 것에 대한 개략적 다이어그램을 예시한다. HIS 마우스를 CD34+ 태아 간의 주사 6-8주 후에 안와후로 채혈하여 인간 세포의 생착을 확인한 다음, CLL1-CART, CART123, CART33-CD8 힌지, CART33-IgG4 힌지, 비형질도입된 T 세포로 처리하거나 또는 처리하지 않았다. 이어서 마우스를 연속적으로 매주 안와후 채혈하였다. 이어서 마우스를 제 28일에 안락사시키고, 기관을 수거하여 분석하였다.
- [1191] T 세포 주입 4주 후에 골수를 분석하였다. CLL1-CART 세포의 조혈 줄기 세포 독성은 HIS 이종이식편을 사용하여 측정하였다. T 세포 주입 4주 후에 마우스를 안락사시키고, 대퇴골을 수거하고, 골수를 위해 플러싱하였다. 이어서 샘플을 형광-표지된 항체를 사용하여 염색하였다. 상이한 CART 세포로 처리된 모든 마우스의 개략적 플롯. CLL1-CART 세포를 사용한 처리는 CD34+CD38- 성분 (조혈 줄기 세포) (도 18a) 및 CD34+CD38+ 성분 (전구 세포) (도 18b)에서 유의한 감소를 발생시켰다. 상이한 CART 세포로 처리된 마우스로부터의 골수의 대표적인 플롯을 제시한다. 살아있는 CD45dim LIN⁻ 세포에 대해 게이팅하였다 (도 19a-19e).
- [1192] HIS 마우스에서 T 세포 주입 4주 후에 골수를 분석하였다. HIS 이종이식편을 사용한 CLL1-CART 세포의 조혈 줄기 세포 독성. T 세포 주입 4주 후에 마우스를 안락사시키고, 대퇴골을 수거하고, 골수를 위해 플러싱하였다. 이어서 샘플을 형광-표지된 항체를 사용하여 염색하였다. 상이한 CART 세포로 처리된 모든 마우스의 개략적 플롯을 제시한다 (도 20). CLL1-CART 세포를 사용한 처리는 CD123 브라이트 집단에서 유의한 감소를 발생시키지 않았다. 이어서 샘플을 형광-표지된 항체를 사용하여 염색하였다. 상이한 CART 세포로 처리된 마우스로부터의 골수의 대표적인 플롯을 제시한다 (도 21).
- [1193] 실시예 4: CLL-1 CART 세포의 생체내 평가
- [1194] PL-21은 불응성 급성 전골수구성 백혈병을 갖는 24세 남성 환자의 말초 혈액으로부터 단리된 인간 급성 골수성

백혈병 세포주이고, 이를 면역 손상된 마우스에서 이종이식편으로서 성장시킬 수 있다. 이종이식편은 인간에서 관찰되는 바와 같은 골수에서의 질환을 모방하여, 골 내 AML에 대한 요법의 효능을 시험하기 위한 모델을 확립한다. 이들 마우스를 사용하여 급성 골수성 (또는 전골수구성) 백혈병 세포 상에서 발견되는 세포 마커, 예컨대 CLL-1 (C-유형 렉틴-유형 분자)에 특이적인 키메라 항원 수용체 (CAR) T 세포의 효능을 시험할 수 있다. PL-21 세포를 반딧불이 루시페라제 리포터 유전자로 태그부착하고, NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) 마우스에서 급성 골수성 백혈병 (AML)의 동소 모델에 사용하여 CLL-1에 특이적인 CAR T 세포의 효능을 시험하였다.

[1195] CLL-1 발현을 PL-21 세포에 대해 시험하고, 이들 세포를 시험관내 검정에 사용하여 CLL-1-특이적 CAR T 세포가 표적을 인식하고 그에 반응하는 능력을 조사하였다. 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 이식된 경우에 생체내 PL-21 세포가 성장하였고, 성장은 주로 골수로 제한되었다. 종양 세포 이식 1주 후, 질환은 완전히 골로 이동하였고, 지수 속도로 성장하기 시작하였다. 비처리로 남긴 마우스는 종양 이식 4-6주 후에 임상 증상 및 뒷다리 마비를 나타내기 시작할 것이다. 본 실시예에 기재된 연구는 시험관내 스크린으로부터의 임의의 CLL-1 특이적 scFv 클론이 이러한 생체내 이종이식편 모델에서 종양에 대해 활성을 제시하는지 여부를 조사하였다.

[1196] 하기 물질 및 방법이 여기서 기재된 실험에 사용되었다.

[1197] 물질 및 방법:

[1198] PL-21 세포주: PL-21 인간 AML 세포주는 급성 전골수구성 백혈병을 갖는 환자의 말초 혈액으로부터 발생하였다. 이어서 세포를 반딧불이 루시페라제로 태그부착하였다. 이들 현탁 세포를 10% 열 불활성화된 태아 소 혈청으로 보충된 RPMI에서 성장시켰다.

[1199] 마우스: 더 잭슨 래보러토리(the Jackson Laboratory)로부터 6주령 NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ) 마우스를 제공받았다 (스톡 번호 005557). 동물을 실험에 앞서 노파르티스(Novartis) NIBRI 동물 시설에서 적어도 3일 동안 순응되도록 하였다. 동물은 노파르티스 ACUC 규정 및 가이드라인에 따라 취급하였다.

[1200] 종양 이식: PL-21-luc 세포를 10% 열 불활성화된 태아 소 혈청으로 보충된 RPMI에서 시험관내 성장 및 확장시켰다. 이어서 세포를 50 ml 원추형 튜브로 옮기고, 차가운 멸균 PBS로 2회 세척하였다. 이어서 PL-21-luc 세포를 카운팅하고, PBS의 밀리리터당 10×10^6 개 세포의 농도로 재현탁시켰다. 세포를 병상에 두고, 즉시 (1시간 내) 마우스에 이식하였다. 마우스당 총 1×10^6 개 세포를 위해 PL-21-luc 세포를 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 100 μ l 부피로 주사하였다.

[1201] CAR T 세포 투여: 마우스에게 종양 이식 8일 후 5×10^6 CAR⁺ T 세포를 투여하였다. 세포를 37°C 수조 내에서 부분적으로 해동한 다음, 세포를 함유하는 튜브에 1 ml의 차가운 멸균 PBS를 첨가하여 완전히 해동하였다. 해동된 세포를 15 ml 팔콘 튜브로 옮기고, PBS를 사용하여 10 ml의 최종 부피로 조정하였다. 세포를 1000rpm에서 각각 10분 동안 2회 세척한 다음, 혈구계 상에서 카운팅하였다. 각각의 군이 동일한 백분율의 CAR⁺ T 세포를 갖도록 CAR T 세포를 CAR 형질도입에 대해 정규화하였다. 이어서, 5×10^6 개 CAR⁺ T 세포를 차가운 PBS ml당 50×10^6 개 CAR⁺ T 세포의 농도로 재현탁시키고, 마우스에게 투여할 때까지 병상에 유지시켰다. 마우스당 5×10^6 개 CAR⁺ T 세포의 용량을 위해 마우스에게 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 100 μ l의 CAR T 세포를 주사하였다.

[1202] 군당 8마리의 마우스를 100 μ l의 PBS 단독 (PBS), CD19 대조군 CAR T 세포 (CD19), CLL-1-6 (클론 6) CAR T 세포, CLL-1-9 (클론 9) CAR T 세포, CLL-1-10 (클론 10) CAR T 세포, CLL-1-11 (클론 11) CAR T 세포, 및 CLL-1-12 (클론 12) CAR T 세포로 처리하였다. T 세포는 모두 동일한 인간 공여자로부터 병행 제조되었다.

[1203] 동물 모니터링: 마우스의 건강 상태를, 매주 2회의 체중 측정을 포함하여 매일 모니터링하였다. 체중에서의 퍼센트 변화를 $(BW_{\text{현재}} - BW_{\text{개시}})/(BW_{\text{개시}}) \times 100\%$ 로 계산하였다. 종양 부담은 생물발광 영상화에 의해 매주 2회 모니터링하였다. 마우스에게 마취 10분 전 D-루시페린을 복강내로 주사하고, 제노젠을 사용하여 마우스를 영상화하였다. 질환 부담은 종양 세포의 생물발광을 계산하는 것에 의해 계산하였다 (광자/초).

[1204] 퍼센트 처리/대조군 (T/C) 값을 하기 식을 사용하여 계산하였다:

[1205] $\% T/C = 100 \times \Delta T / \Delta C$, $\Delta T \geq 0$ 인 경우;

[1206] $\% \text{ 퇴행} = 100 \times \Delta T / T_{\text{초기}}$, $\Delta T < 0$ 인 경우;

- [1207] 여기서 T = 연구 최종일에 약물-처리 군의 평균 생물발광; $T_{\text{초기}}$ = 투여 초기일에 약물-처리 군의 평균 생물발광; ΔT = 연구 최종일에 약물-처리 군의 평균 생물발광 - 투여 초기일에 약물-처리 군의 평균 생물발광; C = 연구 최종일에 대조군의 평균 생물발광; 및 ΔC = 연구 최종일에 대조군의 평균 생물발광 - 투여 초기일에 대조군의 평균 생물발광.
- [1208] 100% 내지 42% 범위 내의 T/C 값은 항종양 활성을 전혀 갖지 않거나 최소 항종양 활성을 갖는 것으로 해석되고; $\leq 42\%$ 및 $> 10\%$ 인 T/C 값은 항종양 활성 또는 종양 성장 억제력을 갖는 것으로 해석되고. T/C 값 $\leq 10\%$ 또는 퇴행 값 $\geq -10\%$ 는 종양 정체인 것으로 해석된다. 퇴행 값 $< -10\%$ 는 퇴행으로서 보고된다.
- [1209] 말초 혈액 FACS 분석: 마우스의 말초 혈액 내 T 세포를 또한 모니터링하였다. 마우스에서 매주 꼬리 정맥을 통해, 병상에 유지된 EDTA 코팅된 튜브 내로 채혈하였다. 튜브로부터 $10\mu\text{l}$ 의 혈액을 병상의 96 웰 플레이트 내로 플레이팅하였다. 적혈구를 ACK 적혈구 용해 완충제 (라이프 테크놀로지스, 카탈로그 번호 A10492-01)로 용해시킨 다음, 차가운 PBS로 2회 세척하였다. 세포를 인간 및 마우스 Fc 차단 (Fc 차단 믹스 (밀테니 바이오텍, 카탈로그 번호 130-059-901 및 130-092-575)와 함께 30분 동안 인큐베이션한 다음, 항-마우스 CD11b, 항-인간 CD45, 항-인간 CD4, 항-인간 CD8, 및 CLL-1-Fc 또는 단백질 L 항체에 이어서 2차와 함께 인큐베이션하였다. 세포를 2% 파라포름알데하이드 용액으로 20분 동안 고정시키고, 세척하고, PBS + 2% FBS 중에서 밤새 저장한 후, BD 포르테사 상에서 분석하고, 이어서 플루오조 FACS 분석 소프트웨어를 사용하여 추가 분석하였다. 세포를 분석하여 PL-21-luc 종양-보유 NSG 마우스에서 혈액 밀리리터당 $\text{CAR}^+ \text{CD4}^+$ 및 CD8^+ T 세포의 수를 결정하였다. 혈액 중 T 세포 수를 평균 $\pm$ 평균의 표준 오차 (SEM)로서 보고하였다.
- [1210] 결과:
- [1211] 인간 AML의 PL-21 모델에서 CLL-1 특이적 CAR T 세포의 패널 (클론 6, 9 10, 11, 및 12)의 항종양 활성을 평가하고 직접 비교하였다. 제0일에 종양 이식 후, 마우스를 처리 군으로 무작위화하고, 제8일에 5×10^6 개 CAR^+ T 세포로 정맥내로 처리하였다. 동물이 종점에 도달할 때까지 AML 질환 부담 및 동물 건강을 모니터링하였다. 영상화를 통해 대조군에서의 질환 부담이 최대 발광에 근접할 때인 CAR T 세포 투여 후 제18일 (종양 이식 26일 후)에 대조군 PBS 및 CD19 군과 함께 CLL-1-11 및 CLL-1-12 군의 마우스를 안락사시켰다. 나머지 CLL-1 CAR T 세포 처리 군 (CLL-1-6, CLL-1-9, 및 CLL-1-10)의 마우스는 모든 군의 최종 샘플의 비교가 가능하도록 CAR T 세포 투여 후 제25일 (종양 이식 33일 후)에 안락사시켰다.
- [1212] 대조군과 CLL-1-6, CLL-1-9, 및 CLL-1-10 처리 군 사이에 질환 진행에서의 지연이 관찰되었고, CLL-1-11 및 CLL-1-12 CAR T 세포 처리 군에 의하면 후기 시점에 종양 성장에서의 감속이 관찰되었다. 후기 시점에 제시된 모든 군을 사용하여 계산하면 (CAR T 세포 투여 후 제18일), 모든 CLL-1 CAR T 세포 군은 대조군과 유의하게 상이하였다. PBS 처리된 마우스와 비교하여, CD19 CAR T 세포 처리 군은 유의성을 입증하지 못했고, P 값은 0.496이었다. PBS와 비교하여 모든 CLL-1 CAR T 세포 처리 군은 $P \leq 0.01$ (클론 6 $P = 0.0008$; 클론 9 $P = 0.0006$; 클론 10 $P = 0.0006$; 클론 11 $P = 0.0013$; 클론 12 $P = 0.0109$)을 가졌다. 종양 진행에서 최초 지연을 제시한 3종의 CLL-1 클론, 클론 6, 9, 및 10은 CAR T 세포 투여 후 제18일에 종양 성장에서 정체를 제시하였다. 다른 2종의 CLL-1 클론, 클론 11 및 12는, 더 이른 시점에서는 질환 진행에서 어떠한 지연도 제시하지 않았지만, 이 시점에 항종양 활성을 제시하였다. T 세포 투여 후 제18일에 계산하면, PBS 대조군과 비교하여 각각의 처리 군에 대한 퍼센트 델타 T/C 값은 하기와 같았다: CD19의 경우에 98.38%, CLL-1-6의 경우에 3.15%, CLL-1-9의 경우에 2.04%, CLL-1-10의 경우에 4.92%, CLL-1-11의 경우에 13.42%, 및 CLL-1-12의 경우에 25.19%. 이들 값에 기초하면, CD19 CAR T 세포 처리 군은 어떠한 활성도 제시하지 않았고, CLL-1-6, -9, 및 -10 CAR T 세포 처리 군은 종양 성장에서의 정체를 제시하였고, CLL-1-11, 및 -12 CAR T 세포 처리 군은 항종양 활성을 입증하였다.
- [1213] 본 연구의 생물발광 영상화 결과를 도 24에 제시한다. 어떠한 T 세포도 제공받지 않은 PBS 처리 군은 정맥내로 이식된 NSG 마우스에서 기준선 PL-21 종양 성장 동역학을 입증하였다. CD19 처리 군은 PL-21 세포에 특이적이지 않은, CAR T 세포와 동일한 시험관내 확장 과정을 거친 대조군 CD19 CAR T 세포를 제공받았다. 이들 세포는 본 종양 모델에서 T 세포의 비-특이적 반응을 제시하기 위한 T 세포 대조군으로서의 역할을 하였다. PBS 및 CD19 CAR T 세포 처리군 둘 다는 실험 내내 계속적인 종양 진행을 입증하였다.
- [1214] 생물발광을 통해 질환 부담을 모니터링하는 것에 더하여, 각각의 군에서의 CAR^+ T 세포 수를 말초 혈액 FACS 분석을 통해 또한 모니터링하였다. 본 연구의 FACS 결과를 도 25a 및 25b에 제시한다. CAR T 세포 처리 후

최대 항종양 활성 및 종양 성장에서의 지연을 제시한 군은 후기 시점에 말초 혈액에서 $CD4^+CAR^+$ (도 25a) 및 $CD8^+CAR^+$ T 세포 (도 25b) 둘 다의 증가를 제시하였다. 초기 시점에는 말초 혈액에서 제한된 수의 세포가 관찰되었다. AML은 주로 골수에 존재하고, CAR T 세포도 또한 이들 시점에 골수 내에 존재할 수 있다. 그러나, 이러한 군은 어떠한 항종양 활성도 제시하지 않았다. 최종 시점에, CLL-1-6, CLL-1-9, 및 CLL-1-10 군의 경우에 말초 혈액에서 CAR T 세포의 확장된 집단이 존재하였다.

[1215] 연구 말미에, 비장 및 골수 세포를 마우스로부터 수거하고, CAR T 세포가 지속되는지 여부를 결정하기 위해 분석하였다. 도 26a-26d에서 관찰되는 바와 같이, $CD4$ 및 $CD8$ CAR^+ T 세포는 CLL-1-9 및 CLL-1-10 처리 군에서 인지가능한 수로 관찰되었다. T 세포의 확장이 또한 일부 다른 군, 특히 CLL-1-12 CAR T 세포 처리 군에서 관찰되었다. 그러나, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 둘 다 많은 수가 이러한 군의 골수에서 관찰되었고, 세포는 CAR^+ 가 아니었고, 이는 이들 마우스에서의 T 세포의 비-특이적 확장을 나타내었다. CLL-1-6, CLL-1-9, 및 CLL-1-10은 종양 성장에서 최대 항종양 효과 및 지연을 제시하였고, 이는 최종 골수 CAR^+ T 세포 수와 상응하였다. 주목할 것은, CLL-1-6 CAR은 잘 검출되지 않았고, 따라서 이러한 군에서의 CAR^+ 수는 과소평가될 수 있다. CLL-1-11 군에서 $CD4$ 및 $CD8$ T 세포 둘 다의 경미한 지속성 및 CLL-1-12 군에서 이들 세포의 보다 많은 수는 종양에 대한 비-특이적 후기 단계 활성화와 상관될 수 있고, 이는 도 24에서 후기 시점에 관찰되는 종양 부담에서의 경미한 감소를 발생시켰다.

[1216] 연구 종결 시, 비장 내 세포의 표현형을 또한 결정하였다. 이들 마우스의 골수 샘플에서 관찰되는 것과 유사하게, 비장에서 인지가능한 수의 $CD4$ 및 $CD8$ CAR^+ T 세포를 갖는 유일한 군은, 도 27a-27d에 제시된 바와 같이 CLL-1-9 및 CLL-1-10 군이었다. 이들은 또한 비장에서 많은 수의 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포를 갖는 유일한 군이었다. CLL-1-11 및 CLL-1-12 군은 골수 샘플에서 관찰된, 비장 내 T 세포의 비-CAR 축적을 제시하지 않았다. CLL-1-10 마우스의 비장 샘플에서 검출된 CAR^+ T 세포에서의 큰 변동으로 인해, 이 군은 대조군과 비교할 경우에 유의하게 상이한 것으로서 상관되지 않았다.

[1217] 논의:

[1218] 신규 CLL-1 CAR 형질도입된 T 세포의 항종양 활성을 인간 AML의 이종이식편 모델을 보유하는 NSG 마우스에서의 효능 연구에서 평가하였다. 이들 연구는 PL-21-luc 모델이 NSG 마우스에서 인간 AML을 재현하고, CLL-1 CAR T 세포에 의해 표적화될 수 있다는 것을 제시한다 (도 24). 이 연구는 CLL-1 CAR 중 3종 (CLL-1-6, CLL-1-9, 및 CLL-1-10)이 AML의 이종이식편 모델에서 항종양 반응을 일으킬 수 있다는 것을 입증하였다 (도 24). 모든 군의 혈액에서 최소 수의 CAR T 세포가 검출되었지만, 후기 시점에, CAR T 세포는 CLL-1-6, CLL-1-9, 및 CLL-1-10 군에서 증가하는 수로 관찰되었다 (도 25a 및 25b). 이들 3종의 CAR T 세포로 처리된 군은 종양 성장에서의 지연을 제시하였고, 특히 CLL-1-9 및 CLL-1-10 군은 연구 말미의 최종 골수 및 비장 샘플에서 유의한 수의 CAR T 세포를 제시하였다 (도 26a-26d 및 27a-27d). CLL-1-6 군은 또한 종양 성장에서 초기 및 지속적인 지연을 제시하였지만, 최종 CAR T 세포 수는 T 세포의 표면 상에서의 scFv의 발현을 검출하는데 있어서의 곤란으로 인해 정확하게 계산될 수 없었다. 종합하면, CLL-1-9 및 CLL-1-10 군은 종양 성장에서의 지연, 말초 혈액 내 $CD4^+CAR^+$ T 세포 및 $CD8^+CAR^+$ T 세포에서의 증가와 함께, 최종 골수 및 비장 샘플에서 유의한 수의 $CD4^+CAR^+$ T 세포 및 $CD8^+CAR^+$ T 세포를 제시하였다. 유일하게 CLL-1-9 군이 골수 및 비장 둘 다에서 대조군과 비교하여 유의하게 상이한 양의 $CD4^+CAR^+$ 및 $CD8^+CAR^+$ T 세포를 가졌다.

[1219] 실시예 5: 화학요법 및 CLL1-CAR 조합 요법

[1220] 화학요법과 조합된 CLL-1 CAR 요법의 효과를 생체내 AML 마우스 모델을 사용하여 검사하였다. 유도 화학요법에 이어 CLL1-CART 세포 (클론 6)를 사용한 처리는 원발성 AML 이종이식편에서 백혈병성 근절을 발생시켰다.

[1221] 줄기 세포 인자, GM-CSF 및 IL-3에 대해 추가로 트랜스제닉인 NSG 마우스 (NSG-S)에게 원발성 AML 모세포를 주사하였다 (3×10^6 개, 꼬리 정맥 주사를 통한, 제0일). 4-6주 후 말초 혈액 (PB)을 수집하여 생착을 확인하였고, 이는 >1% 순환 백혈병성 세포 (살아있는 인간 $CD45^{dim}$ 세포)의 존재로서 정의되었다. 이어서 AML 이종이식편을 시타라빈으로 처리하였다 (Ara-C, 60 mg/kg, 복막내 주사에 의한, 제35일-제39일에 매일). 말초 혈액 카운트를 모니터링한 다음, 이들 이종이식편을 무작위화하여 제55일에 CLL1 지시된 CART 세포 또는 대조군 비형질도입된 T 세포 (1×10^5 I.V.)를 제공하였다. 이어서, 연속 안와후 채혈을 수행하고, 질환 부담의 측정치로서 절대 백혈

병성 모세포 카운트를 계산하고, 이중이식편을 생존에 대해 추적하였다.

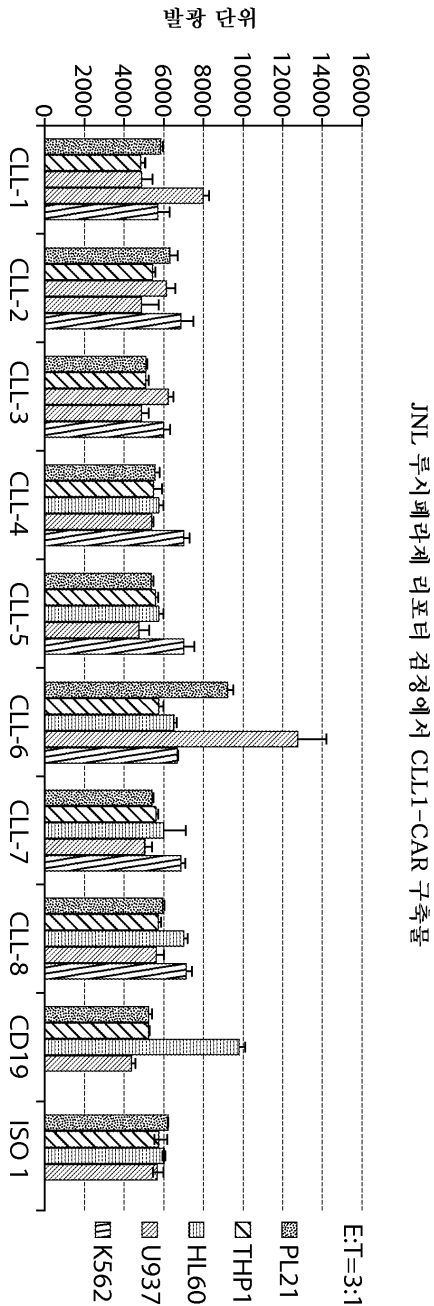
- [1222] 도 33b는 백혈병성 세포 (살아있는 huCD45dim 구획)에서의 CLL1의 평균 형광 강도 (MFI)의 대표적인 플롯을 포함하고, 화학요법에 의한 처리가 잔류 AML에서 CLL-1 항원의 상향조절을 발생시킨다는 것을 입증하였다. 시타라빈 화학요법에 의한 처리 2주 후에 AML 이중이식편에서의 CLL1-MFI에서 유의한 증가가 존재하였다.
- [1223] 유도 화학요법에 이어 비형질도입된 T 세포로 처리된 마우스는 말초 혈액 백혈병성 모세포 카운트의 감소를 제시하지 않았다. 대조적으로, 유도 화학요법에 이어 CLL-1-CART로 처리된 마우스는, 도 33c에 제시된 바와 같이, AML 이중이식편에서 말초 혈액 백혈병성 모세포 카운트의 유의한 감소 및 백혈병의 근절을 발생시켰다. 플롯은 표시된 바와 같은 AML 주사 후 상이한 시점에서의 말초 혈액 1 ul당 말초 혈액 절대 백혈병성 모세포 카운트를 대표한다 (평균 $\pm$ SD). 전체 생존의 분석은 또한 유도 화학요법에 이은 CLL1-CART가 AML 이중이식편에서의 전체 생존에서 유의한 이점을 발생시키지만 비형질도입된 T 세포에 의해서는 그렇지 않다는 것을 제시하였다 (도 33d).
- [1224] 실시예 6: 낮은 용량의 RAD001은 세포 배양 모델에서 CART 증식을 자극한다
- [1225] CART-발현 세포를 표적 세포와 상이한 농도의 RAD001의 존재 하에 공동-배양함으로써 시험관내 CAR T 세포 증식에 대한 낮은 용량의 RAD001의 효과를 평가하였다.
- [1226] 물질 및 방법
- [1227] CAR-형질도입된 T 세포의 생성
- [1228] 인간화, 항-인간 CD19 CAR (huCART19) 렌티바이러스 전달 벡터를 사용하여 VSVg 유사형화 렌티바이러스 입자 내에 패키징된 게놈 물질을 생산하였다. 인간화 항-인간 CD19 CAR (huCART19)의 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열은 2014년 3월 15일에 출원된 PCT 공개 WO2014/153270에 기재된 CAR 1, ID 104875이고, 거기서 서열식별번호: 85 및 31로 지정되어 있다.
- [1229] 렌티바이러스 전달 벡터 DNA를 3종의 패키징 성분 VSVg env, gag/pol 및 rev와, 리포펙타민 시약과 조합하여 혼합하여 렌티-X 293T 세포를 형질감염시켰다. 이후 배지를 24h 및 30h 후에 바꾸고, 바이러스-함유 배지를 수집하고, 여과하고, -80°C 에서 저장하였다. 건강한 공여자 혈액 또는 류코팩(leukopak)의 음성 자기 선택에 의해 수득된 신선한 또는 동결된 나이브 T 세포의 형질도입에 의해 CART를 생성하였다. 항-CD3/항-CD28 비드와 24h 동안 인큐베이션하여 T 세포를 활성화시키고, 그 후 바이러스 상청액 또는 농축된 바이러스 (각각 MOI=2 또는 10)를 배양물에 첨가하였다. 변형된 T 세포가 약 10일 동안 확장되게 하였다. 형질도입된 세포 (세포 표면 상에서 CAR을 발현함)의 백분율 및 CAR 발현의 수준 (상대 형광 강도, 기하 평균)을 제7일 내지 제9일에 유동 세포측정 분석에 의해 결정하였다. 성장 속도의 감소 및 ~ 350 fL에 근접한 T 세포 크기의 조합은 추후 분석을 위해 동결보존된 T 세포에 대한 상태를 결정한다.
- [1230] CART의 증식의 평가
- [1231] CART의 기능성을 평가하기 위해, T 세포를 해동하고, 카운팅하고, 셀로미터에 의해 생존율을 평가하였다. 각각의 배양물 중 CAR-양성 세포의 수를 비-형질도입된 T 세포 (UTD)를 사용하여 정규화하였다. CART에 대한 RAD001의 영향을 50nM에서 출발하는 RAD001을 사용한 적정에서 시험하였다. 모든 공동-배양 실험에 사용된 표적 세포주는 CD19를 발현하고 루시페라제를 발현하도록 형질도입된 인간 전-B 세포 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 세포주인 Nalm-6이다.
- [1232] CART의 증식을 측정하기 위해, T 세포를 표적 세포와 1:1의 비로 배양하였다. 세포가 CD3, CD4, CD8 및 CAR 발현에 대해 염색된 경우에 검정을 4일 동안 실행하였다. T 세포의 수는 참조로서 비드를 카운팅하는 것을 사용하여 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.
- [1233] 결과
- [1234] CART 세포의 증식 능력을 4일 공동-배양 검정에서 시험하였다. CAR-양성 CD3-양성 T 세포 (어두운 막대) 및 총 CD3-양성 T 세포 (연한 막대)의 수는 CAR-형질도입된 및 비-형질도입된 T 세포를 Nalm-6과 배양한 후에 평가하였다 (도 31). huCART19 세포는 0.016 nM 미만의 RAD001의 존재 하에 배양한 경우에 확장되었고, 보다 높은 화합물의 농도에서 더 낮은 정도로 확장되었다. 중요한 것은, 0.0032 및 0.016 nM RAD001 둘 다에서의 증식이 RAD001의 첨가의 부재 하에 관찰된 것보다 더 높았다. 비-형질도입된 T 세포 (UTD)는 검출가능한 확장을 제시하지 않았다.

- [1235] 실시예 7: 낮은 용량의 RAD001은 생체내 CART 확장을 자극한다
- [1236] 본 실시예는 huCAR19 세포가 상이한 농도의 RAD001에 의해 생체내 증식하는 능력을 평가한다.
- [1237] 물질 및 방법:
- [1238] NALM6-luc 세포: NALM6 인간 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 세포주는 재발성 ALL을 갖는 환자의 말초 혈액으로부터 발생하였다. 이어서 세포를 반딧불이 루시페라제로 태그부착하였다. 이들 현탁 세포를 10% 열 불활성화된 태아 소 혈청으로 보충된 RPMI에서 성장시켰다.
- [1239] 마우스: 더 잭슨 래보러토리로 부터 6주령 NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ) 마우스를 제공받았다 (스톡 번호 005557).
- [1240] 종양 이식: NALM6-luc 세포를 10% 열 불활성화된 태아 소 혈청으로 보충된 RPMI에서 시험관내 성장 및 확장시켰다. 이어서 세포를 15 ml 원추형 튜브로 옮기고, 차가운 멸균 PBS로 2회 세척하였다. 이어서 NALM6-luc 세포를 카운팅하고, PBS의 밀리리터당 10×10^6 개 세포의 농도로 재현탁시켰다. 세포를 병상에 두고, 즉시 (1시간 내) 마우스에 이식하였다. 마우스당 총 1×10^6 개 세포를 위해 NALM6-luc 세포를 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 100 μ l 부피로 주사하였다.
- [1241] CAR T 세포 투여: 마우스에게 종양 이식 7일 후 5×10^6 개 CAR T 세포를 투여하였다. 세포를 37°C 수조 내에서 부분적으로 해동한 다음, 세포를 함유하는 튜브에 1 ml의 차가운 멸균 PBS를 첨가하여 완전히 해동하였다. 해동된 세포를 15 ml 팔콘 튜브로 옮기고, PBS를 사용하여 10 ml의 최종 부피로 조정하였다. 세포를 1000rpm에서 각각 10분 동안 2회 세척한 다음, 혈구계 상에서 카운팅하였다. 이어서, T 세포를 차가운 PBS ml당 50×10^6 개 CAR T 세포의 농도로 재현탁시키고, 마우스에게 투여할 때까지 병상에 유지시켰다. 마우스당 5×10^6 개 CAR T 세포의 용량을 위해 마우스에게 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 100 μ l의 CAR T 세포를 주사하였다. 군당 8마리의 마우스를 100 μ l의 PBS 단독 (PBS) 또는 인간화 CD19 CAR T 세포로 처리하였다.
- [1242] RAD001 투여: 1mg RAD001과 동등한 50mg의 농축된 마이크로-에멀전을 제제화한 다음, 투여 시점에 D5W (물 중 텍스트로스 5%) 중에 재현탁시켰다. 마우스에게 200 μ l의 목적하는 용량의 RAD001을 경구로 매일 (경구 위관 영양을 통해) 투여하였다.
- [1243] PK 분석: 마우스에게 RAD001을 종양 이식 7일 후에 시작하여 매일 투여하였다. 투여 군은 하기와 같다: 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 및 10 mg/kg. RAD001의 최초 및 최종 용량 후 제0일 및 제14일에 마우스에서 채혈하고, 하기 시점에 PK 분석하였다: 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간, 및 24시간.
- [1244] 결과:
- [1245] 확장 및 RAD001의 약동학을 NALM6-luc 종양을 갖는 NSG 마우스에서 시험하였다. RAD001 단독을 매일 경구 투여하는 것은 NALM6-luc 종양의 성장에 대해 영향을 갖지 않았다 (도 32). RAD001의 약동학적 분석은 그것이 종양 보유 마우스의 혈액 중에서 상당히 안정하다는 것을 제시하였다 (도 33a 및 33b). 제0일 및 제14일 둘 다의 PK 분석은 혈액 중 RAD001 농도가 시험된 최저 용량 (0.3 mg/kg)에서 투여 24시간 후에도 10nm를 초과한다는 것을 제시하였다.
- [1246] 이들 용량에 기초하여, huCAR19 CAR T 세포를 RAD001의 존재 및 부재 하에 투여하여 이들 세포의 증식 능력을 결정하였다. 투여 24시간 후 혈액 중 RAD001의 수준에 기초하여 사용된 최고 용량은 3 mg/kg이었다. RAD001의 농도가 RAD001의 최종 용량 24시간 후에 10nm를 초과하였기 때문에, CAR T 세포를 사용한 생체내 연구에 여러 더 낮은 용량의 RAD001을 사용하였다. CAR T 세포를 매일 경구 RAD001 투여를 시작하기 1일 전에 IV 투여하였다. FACS를 통해 T 세포 확장에 대해 마우스를 모니터링하였다.
- [1247] RAD001의 최저 용량은 CAR T 세포의 증진된 증식을 제시하였다 (도 34). 이러한 증진된 증식은 CD8⁺ CAR T 세포보다 CD4⁺ CAR T 세포를 사용한 경우에 보다 명백했고, 연장되었다. 그러나, CD8⁺ CAR T 세포에 의하면, CAR T 세포 투여 후 초기 시점에 증진된 증식을 관찰할 수 있었다.
- [1248] 증가물
- [1249] 본원에 인용된 각각의 및 모든 특허, 특허 출원 및 공개의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 본

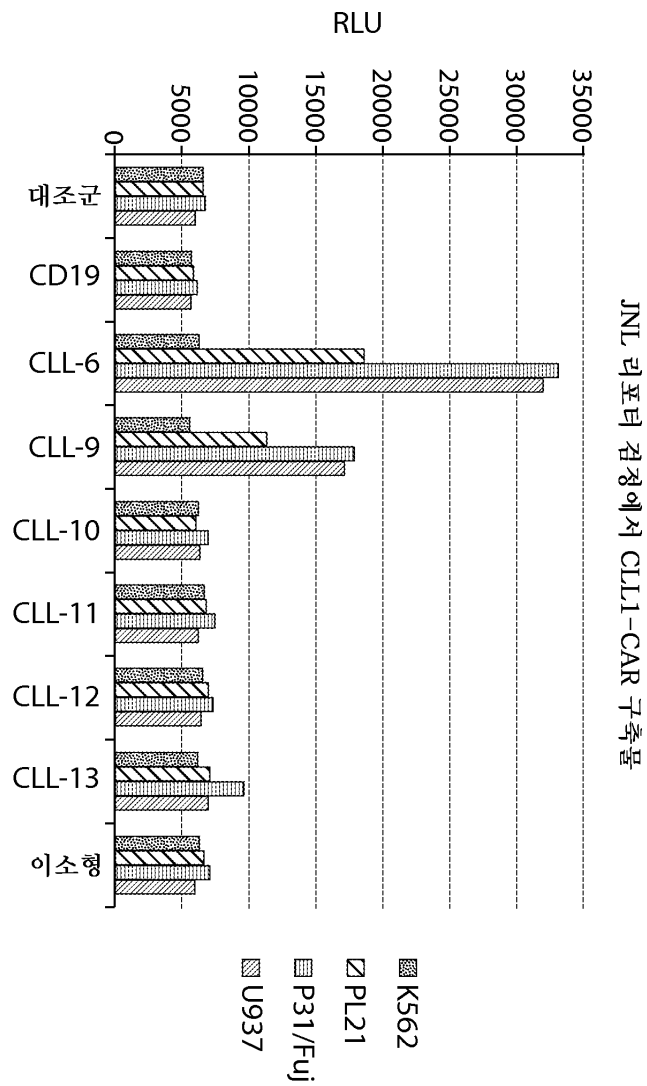
발명은 구체적 측면과 관련하여 개시되지만, 관련 기술분야의 다른 통상의 기술자가 본 발명의 진정한 취지 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 본 발명의 다른 측면 및 변형을 고안할 수 있을 것이 분명하다. 첨부된 청구 범위는 모든 이러한 측면 및 동등한 변형을 포함하는 것으로 해석되는 것으로 의도된다.

도면

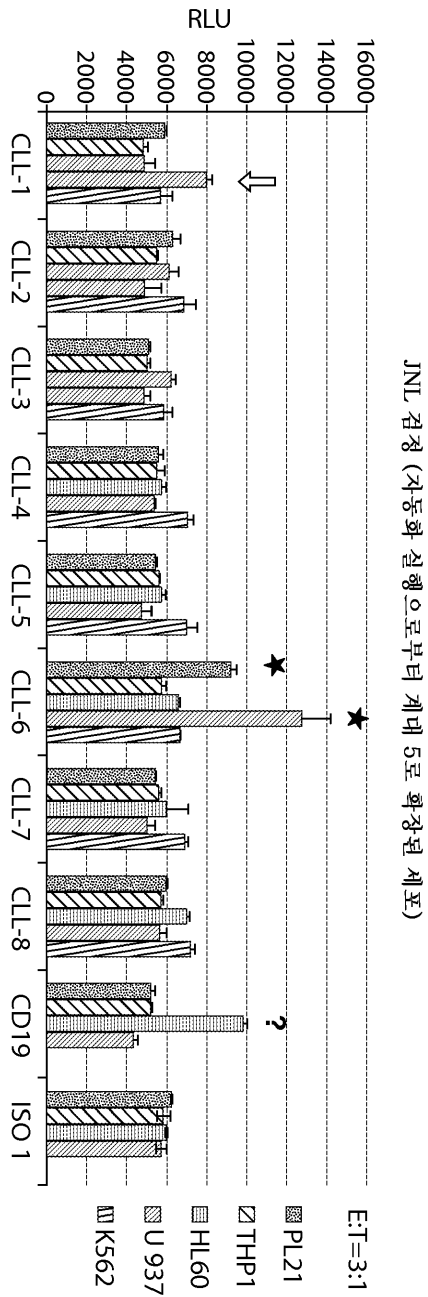
도면1a



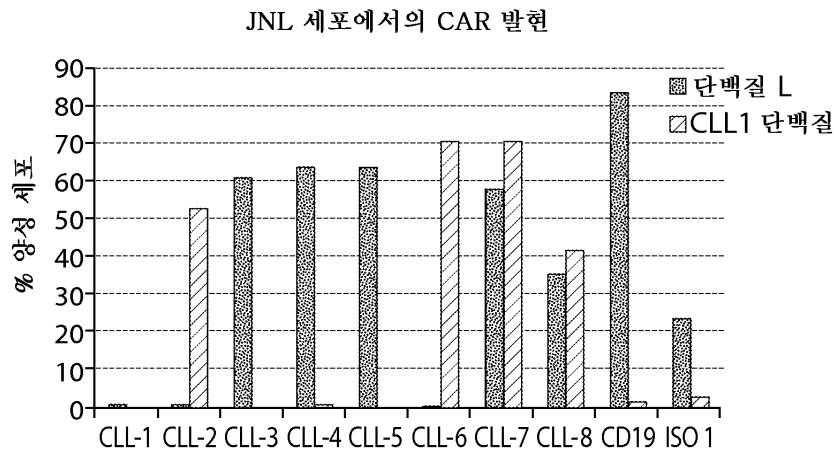
도면1b



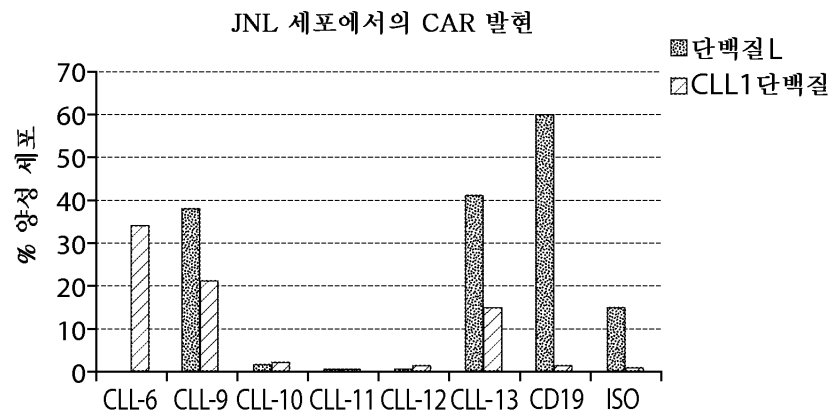
도면1c



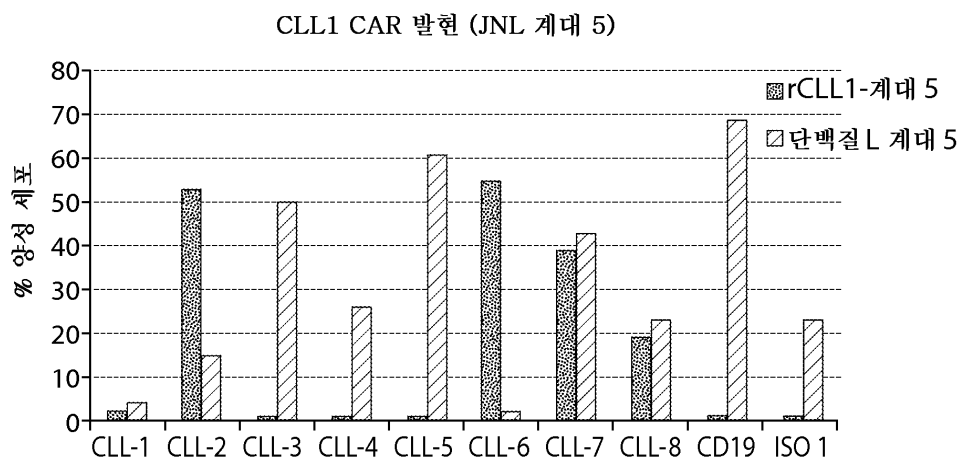
도면2a



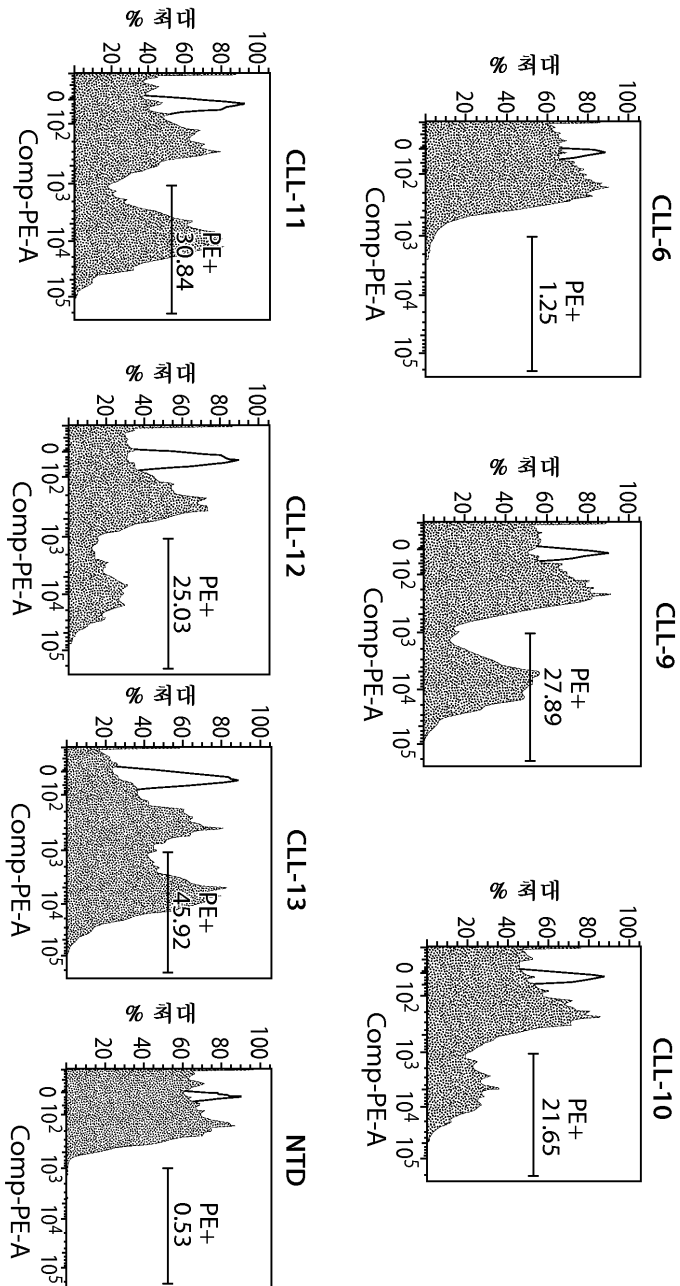
도면2b



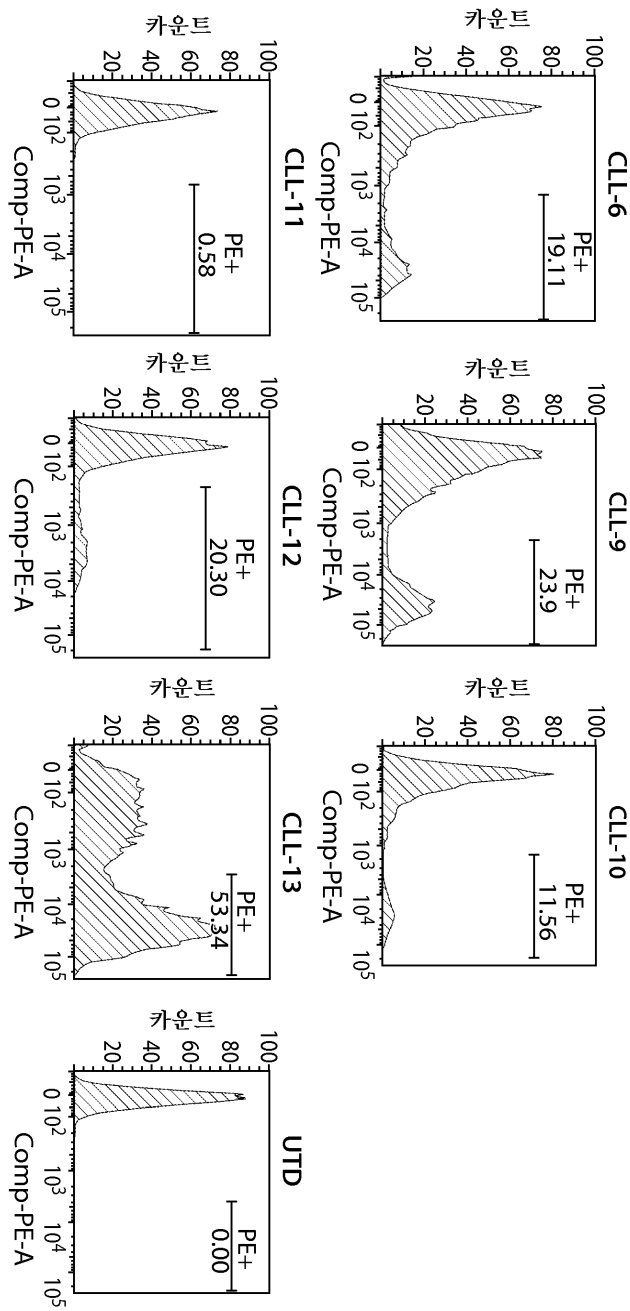
도면2c



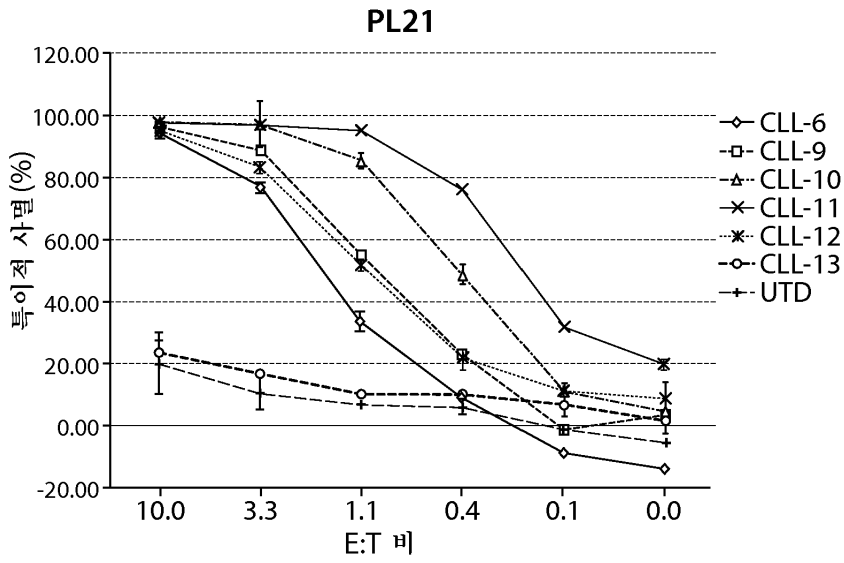
도면3a



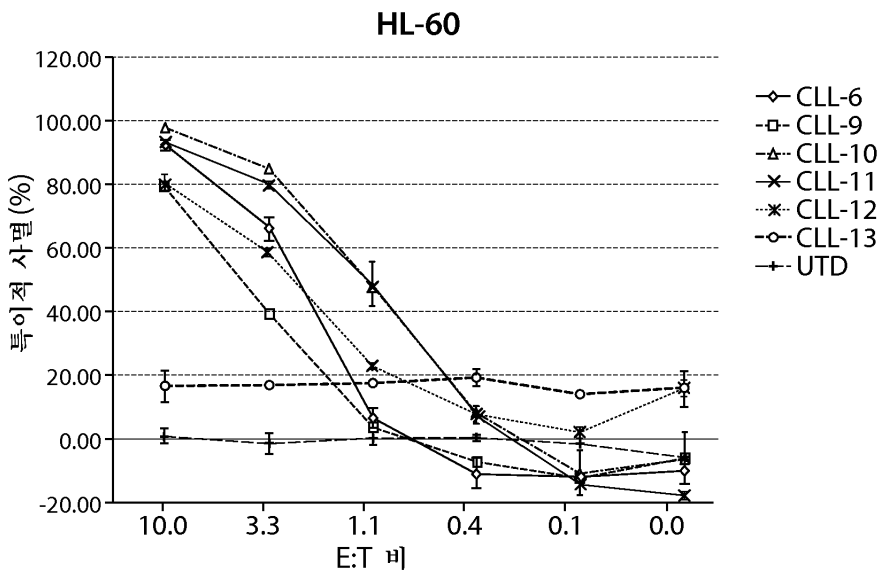
도면3b



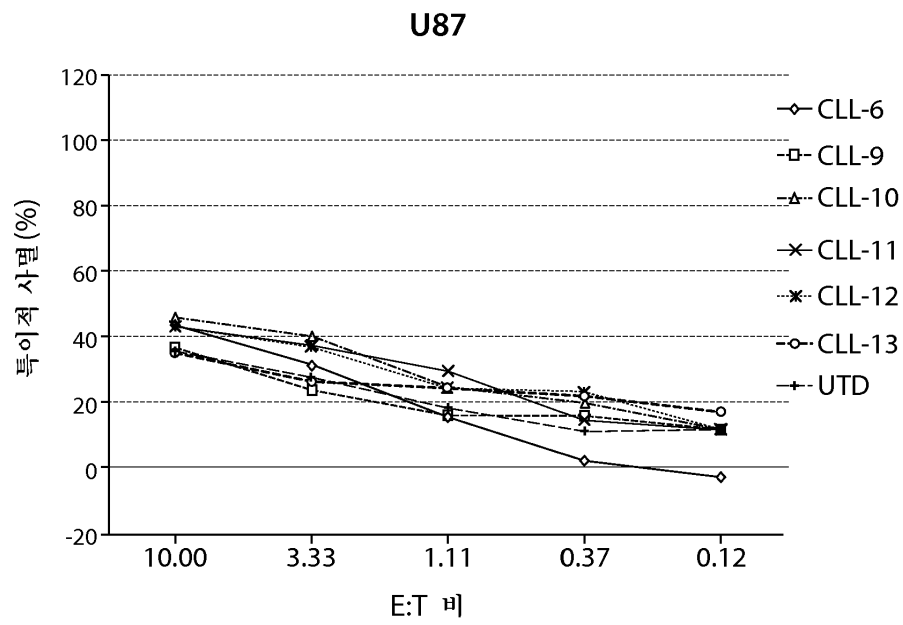
도면4a



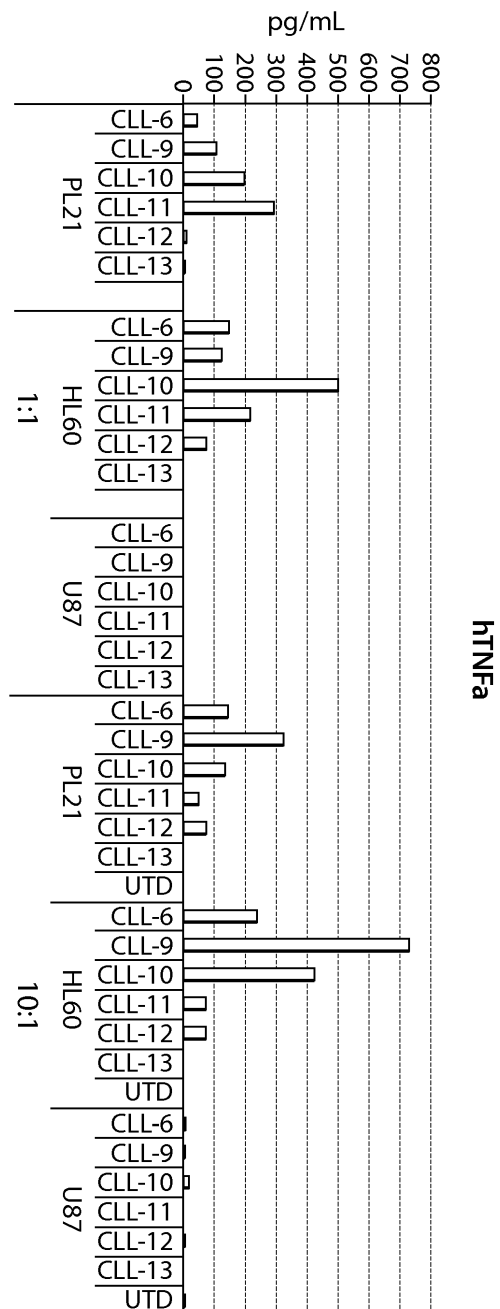
도면4b



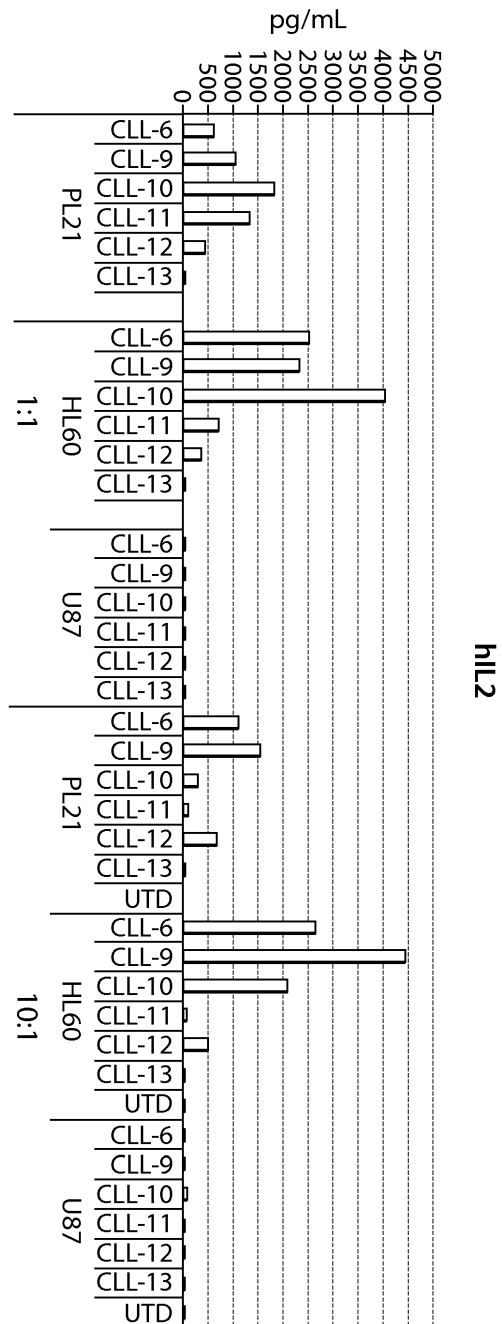
도면4c



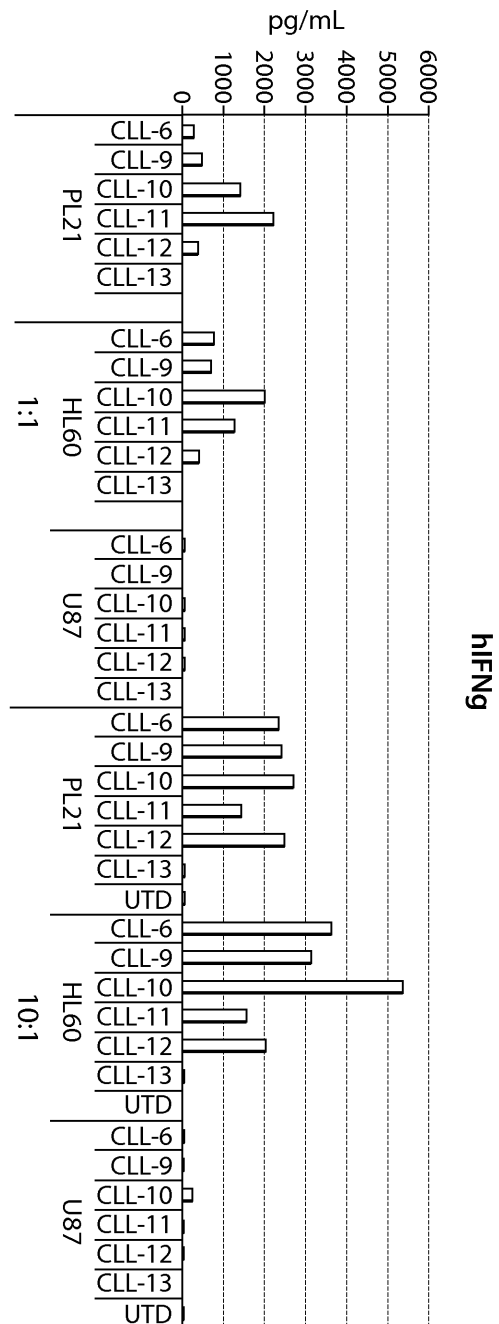
도면5a



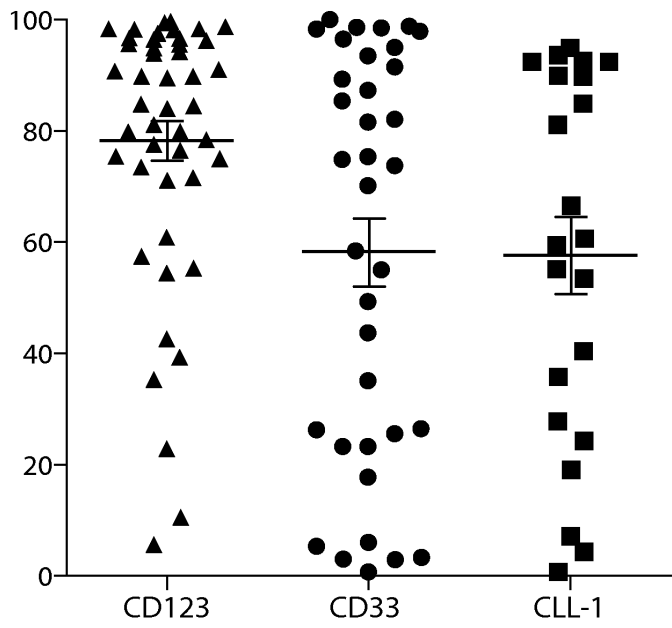
도면5b



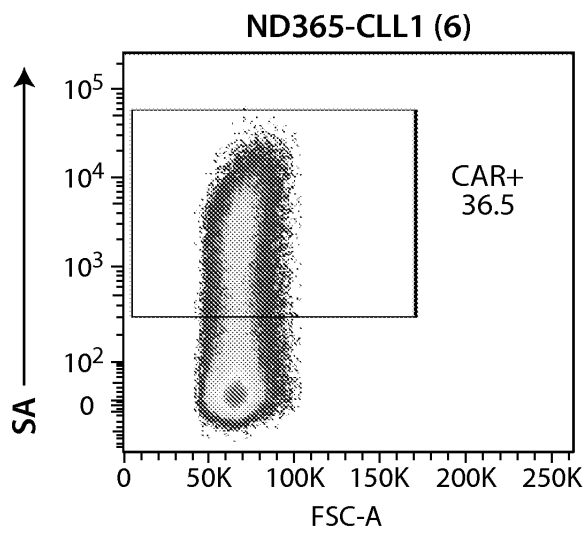
도면5c



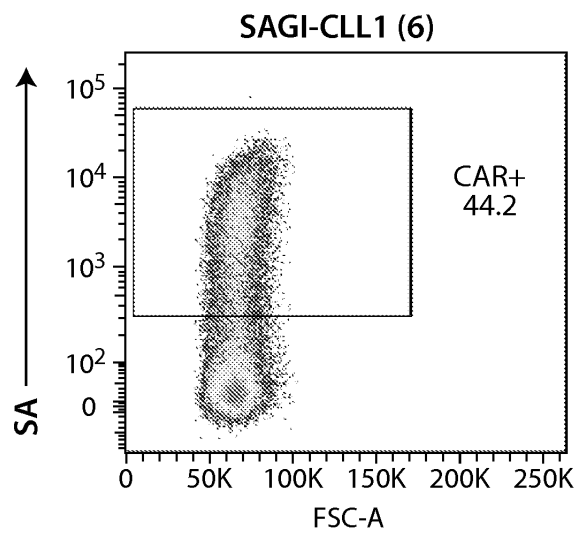
도면6



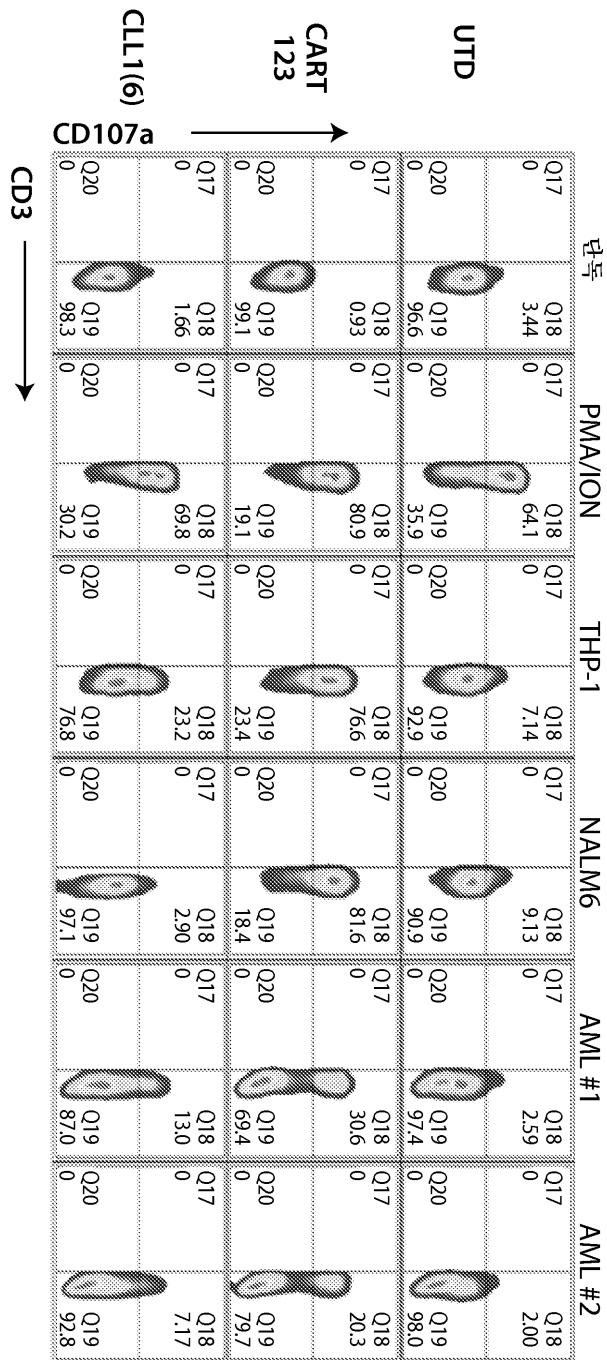
도면7a



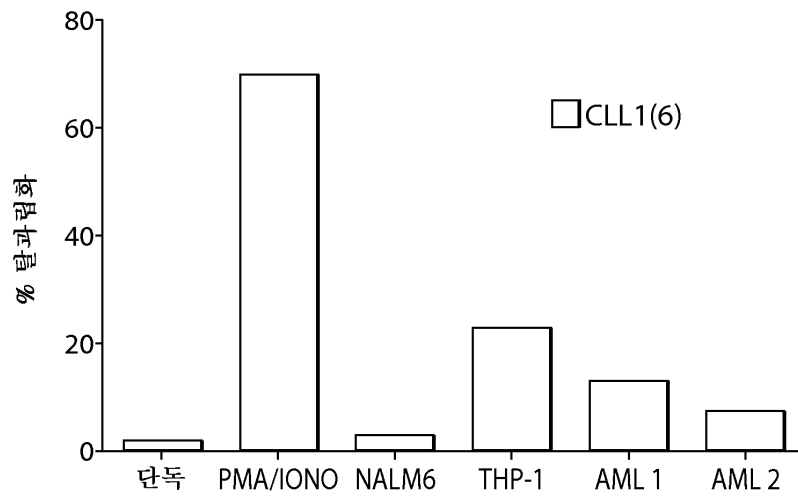
도면7b



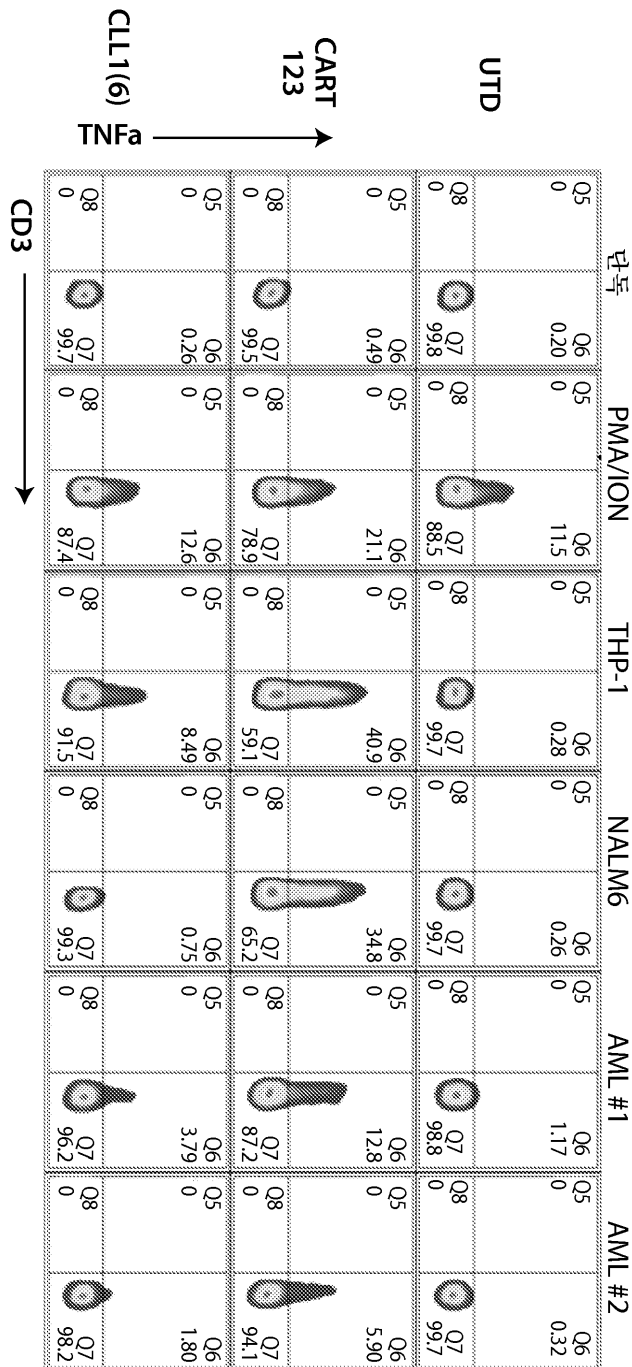
도면8a



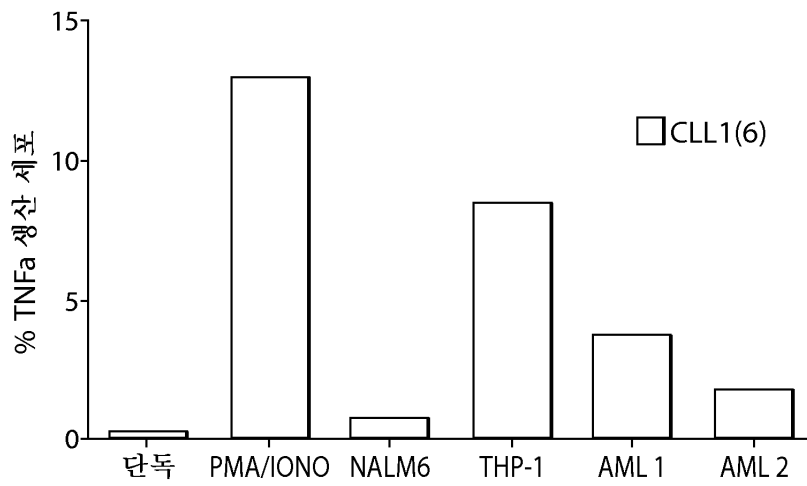
도면8b



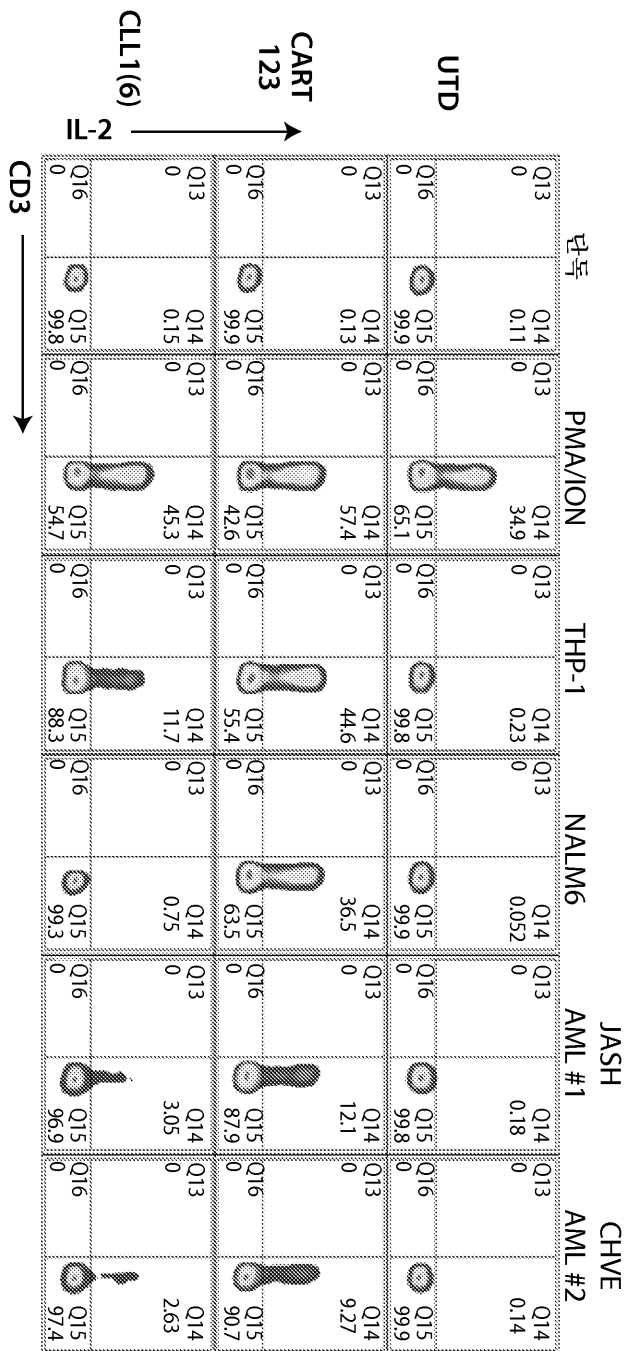
도면9a



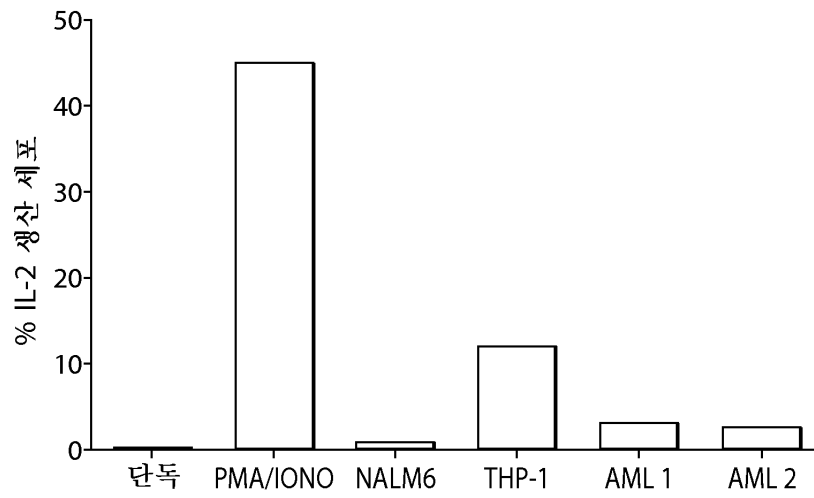
도면9b



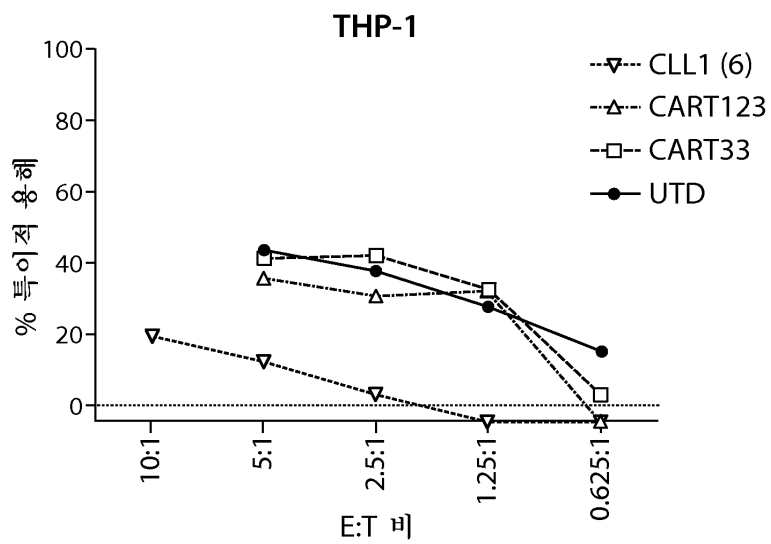
도면10a



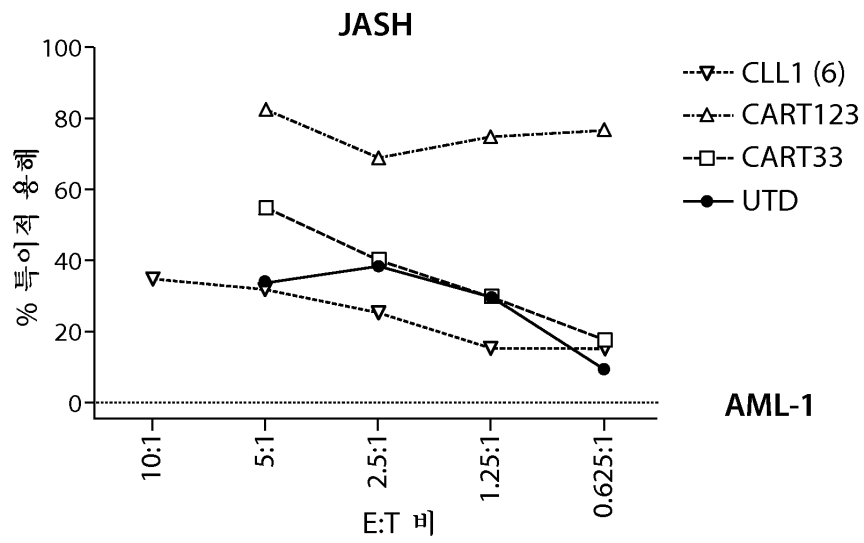
도면10b



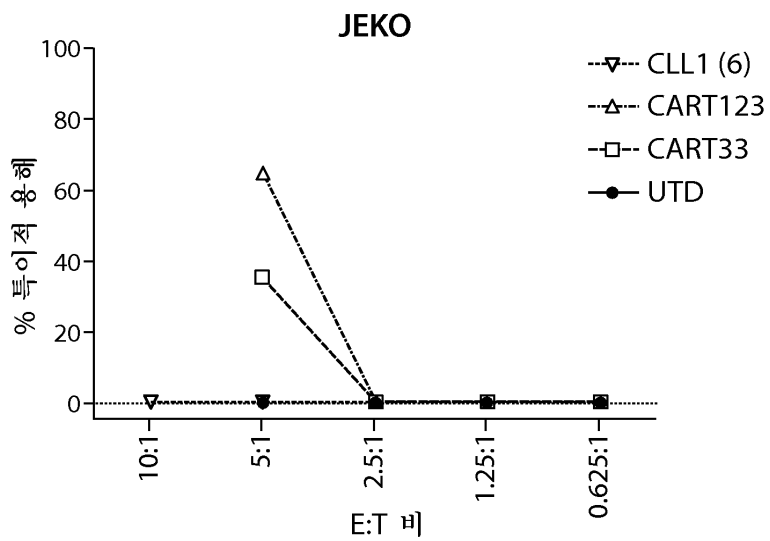
도면11a



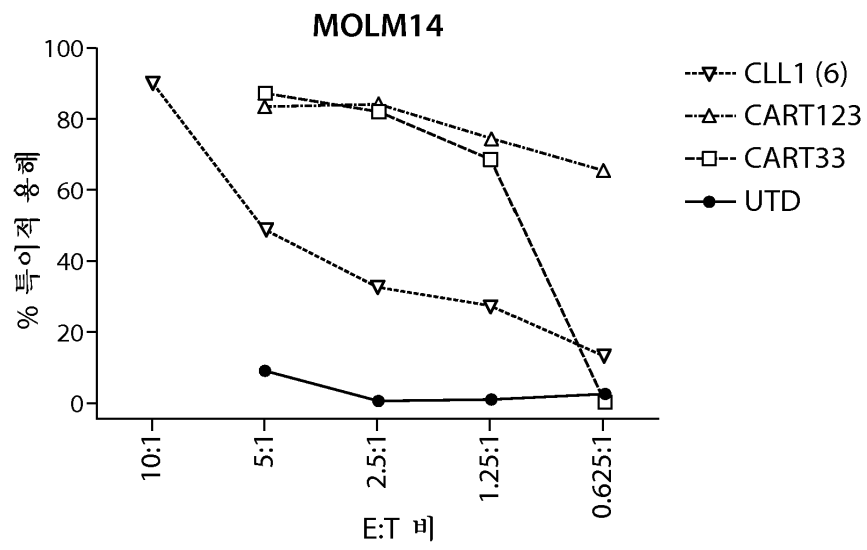
도면11b



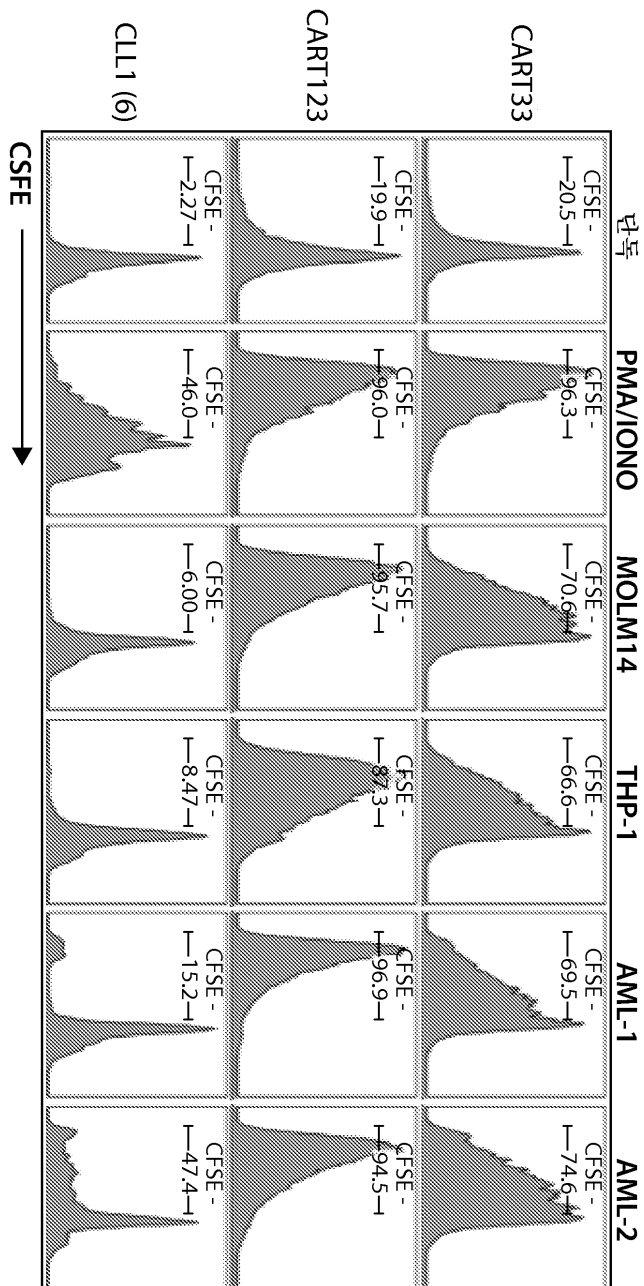
도면11c



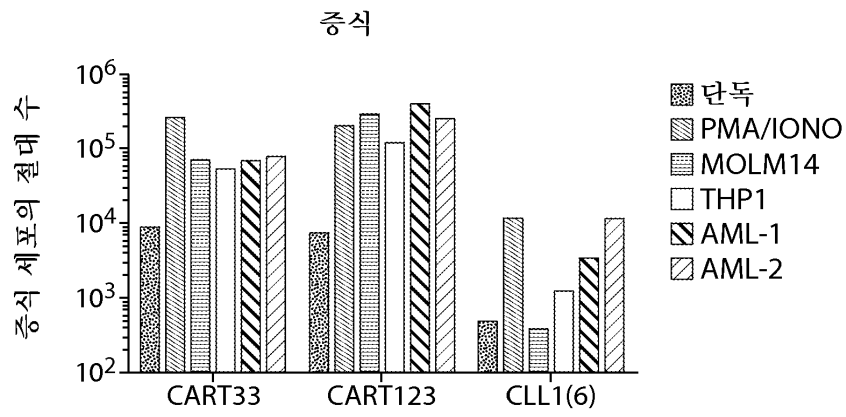
도면11d



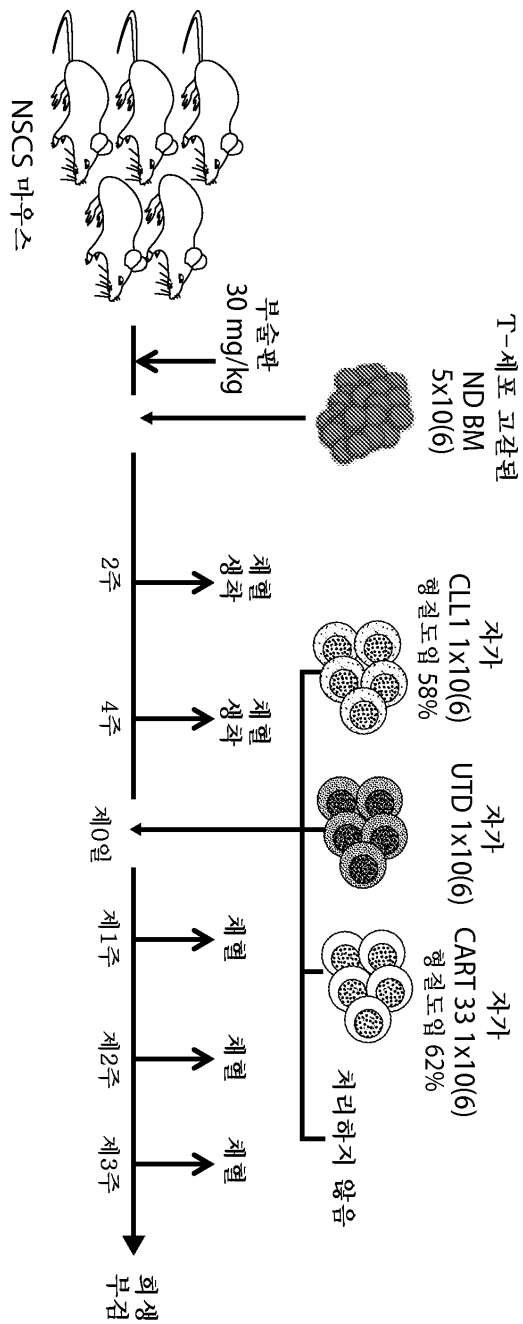
도면12a



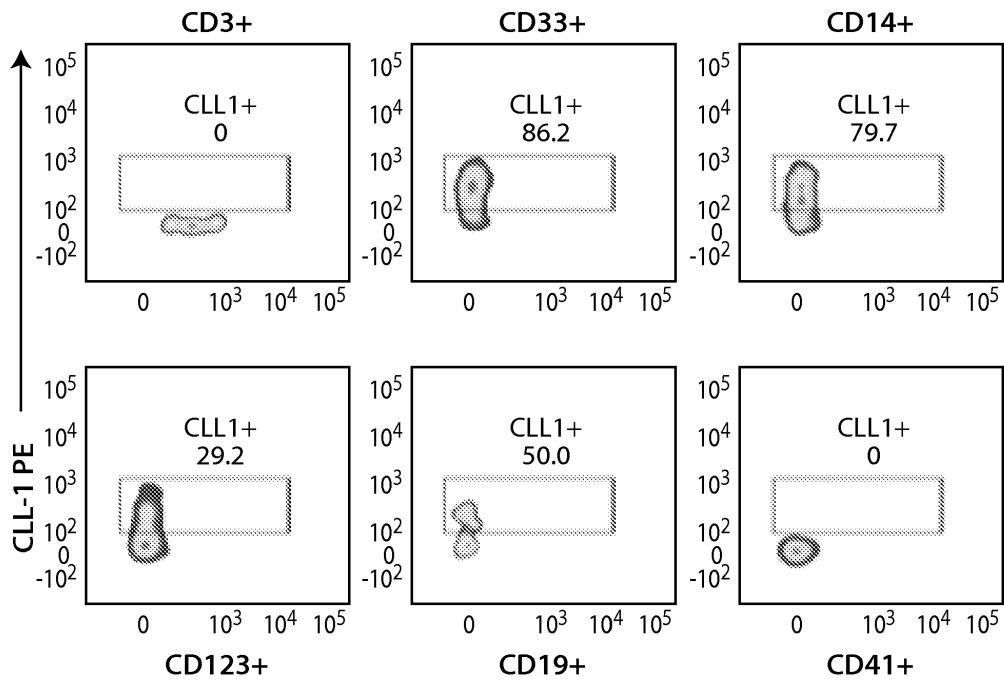
도면12b



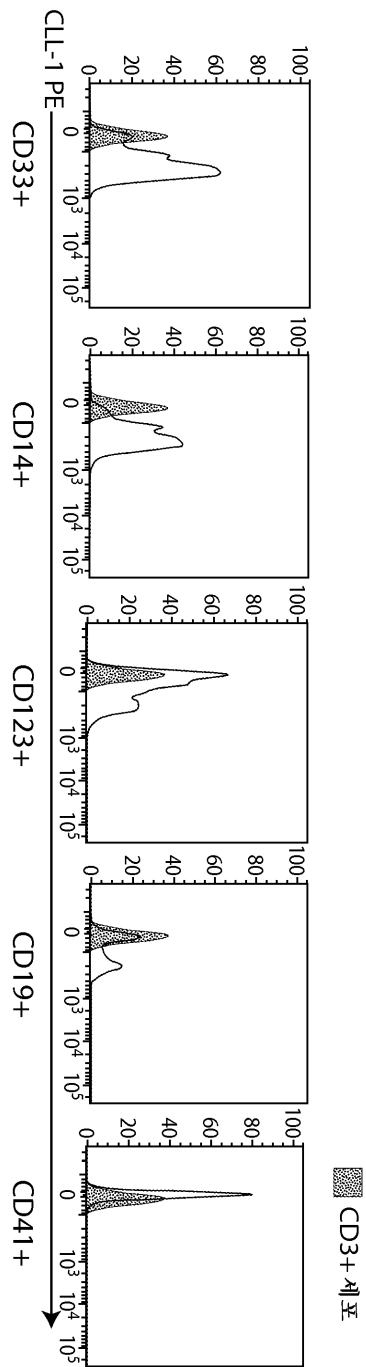
도면13



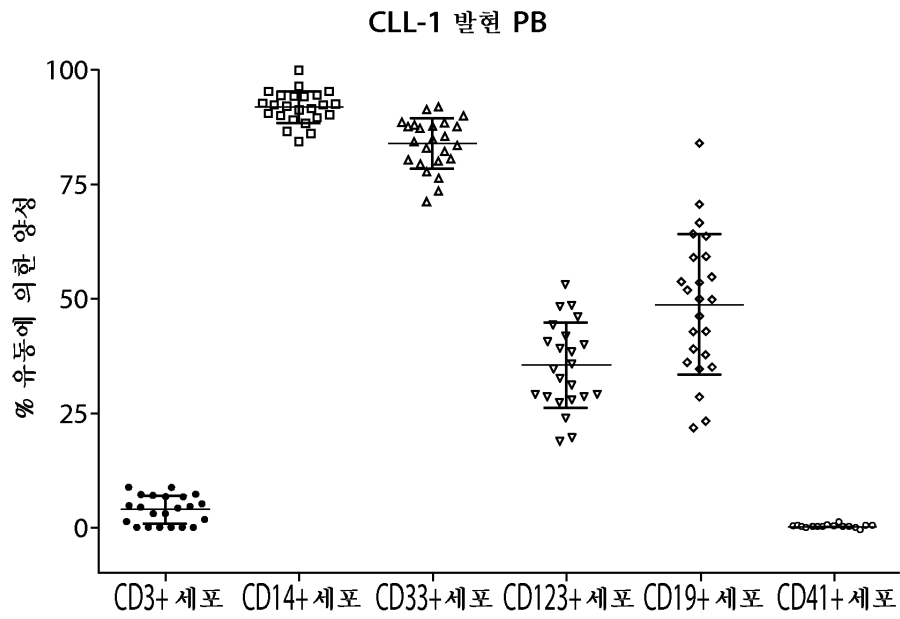
도면14a



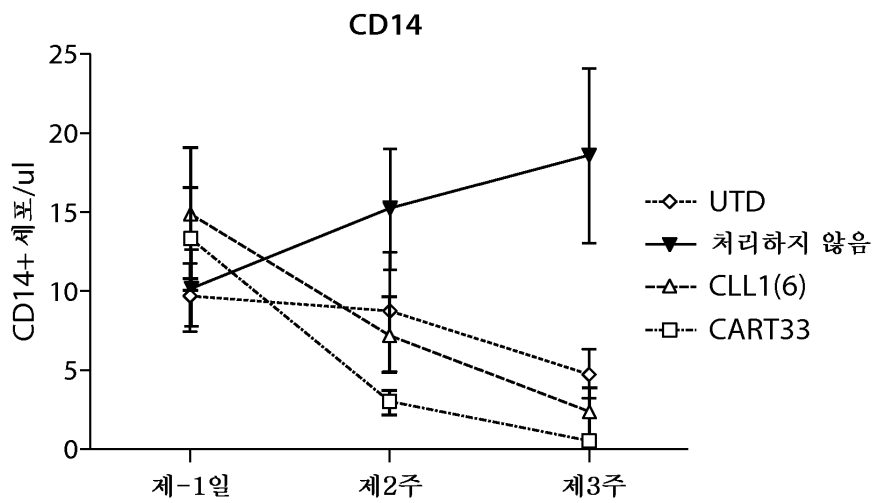
도면14b



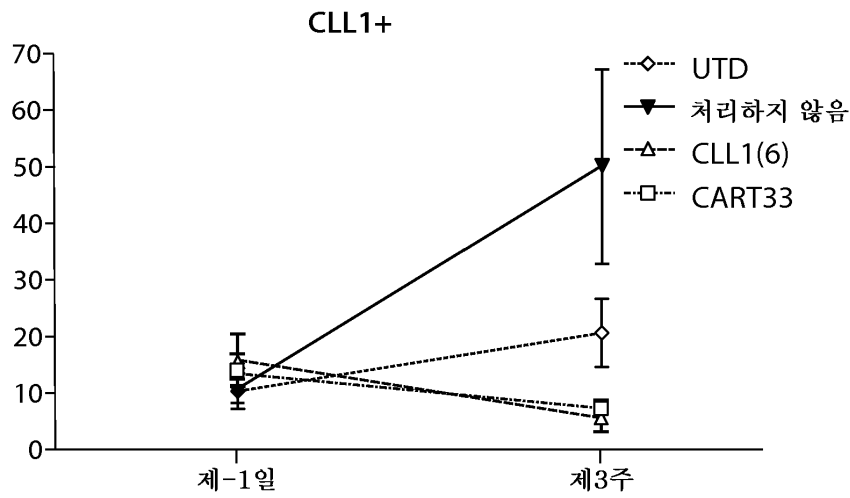
도면14c



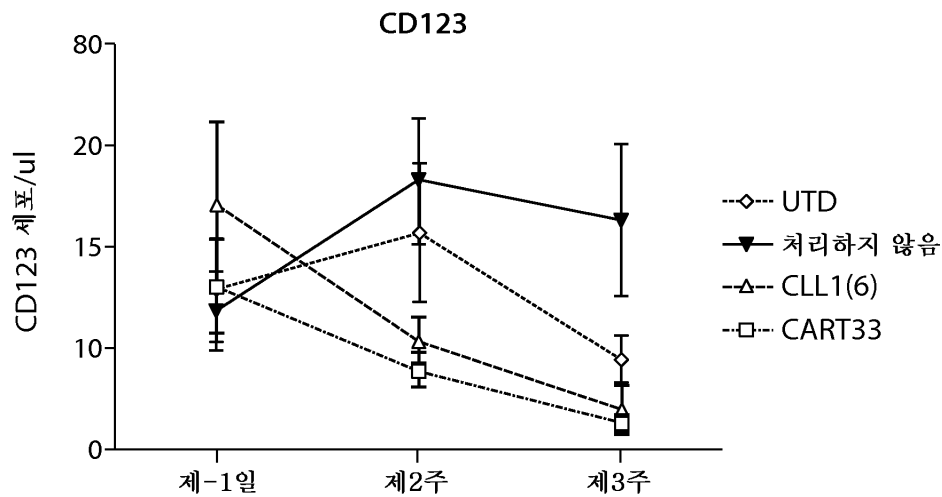
도면15a



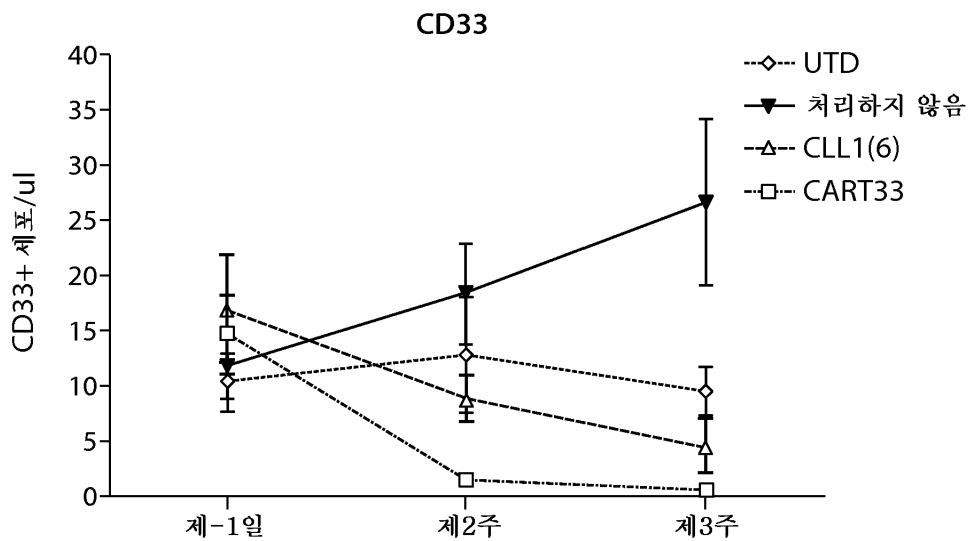
도면15b



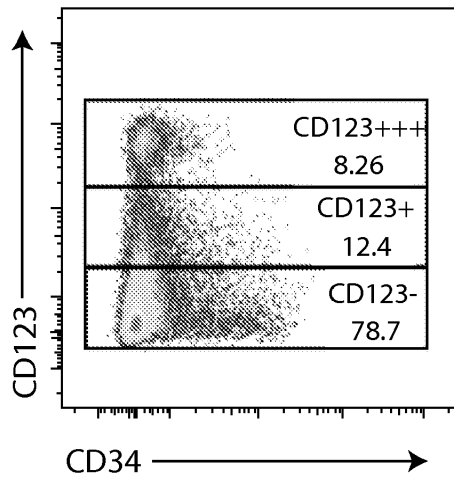
도면15c



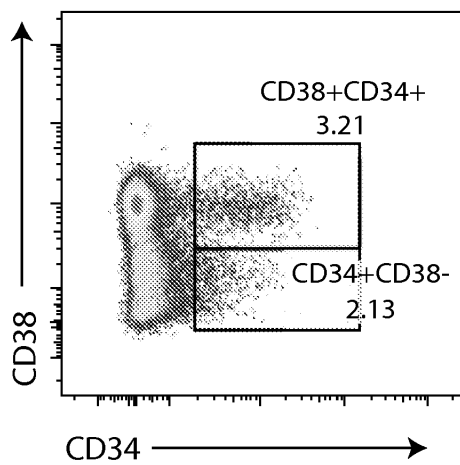
도면15d



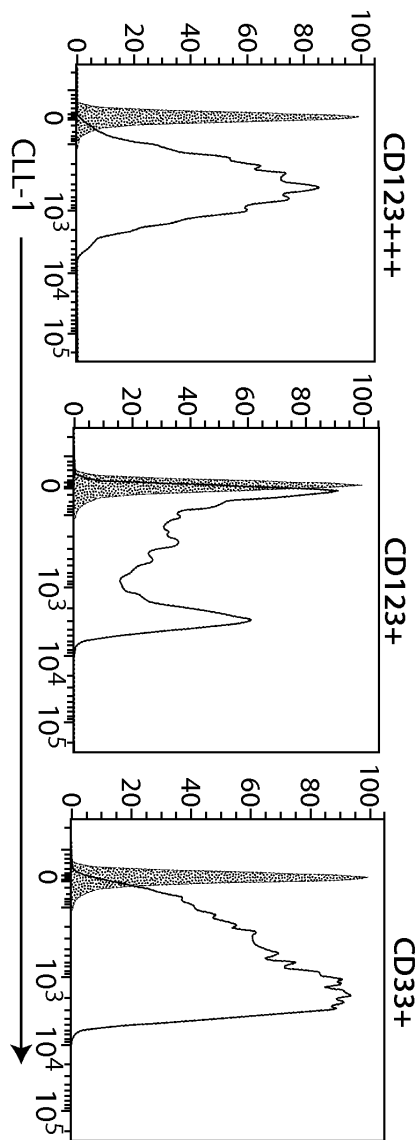
도면16a



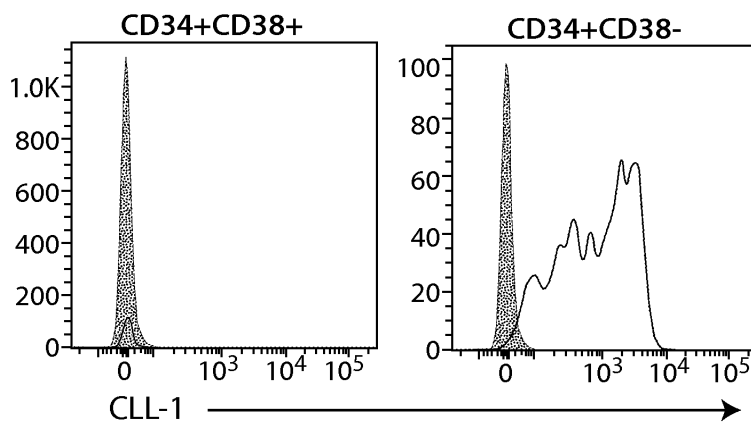
도면16b



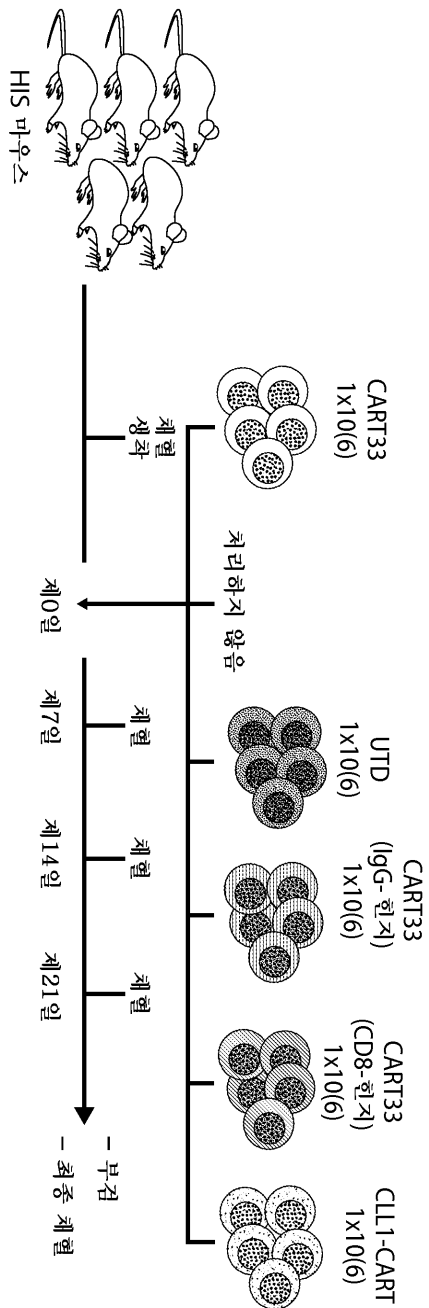
도면16c



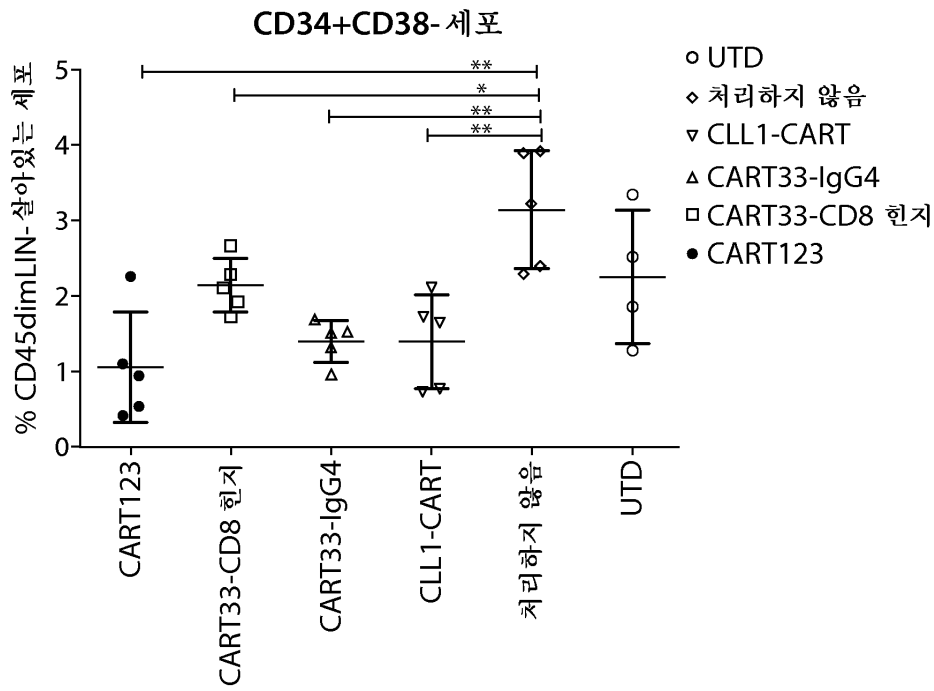
도면16d



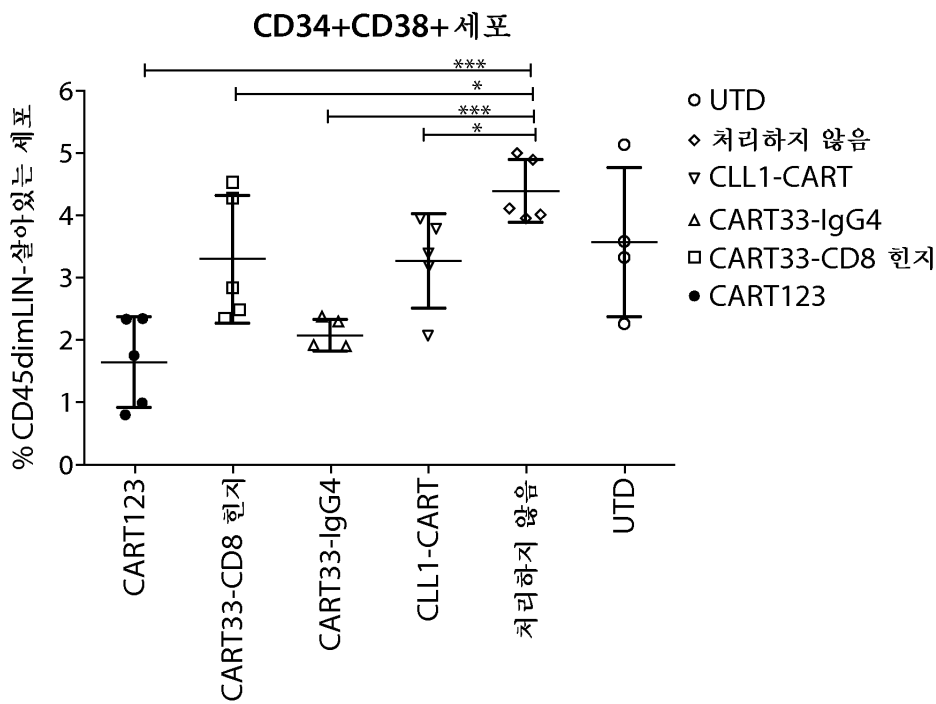
도면17



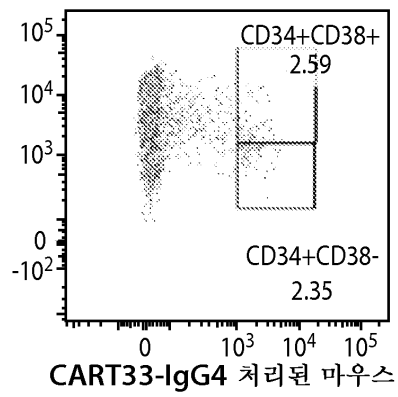
도면18a



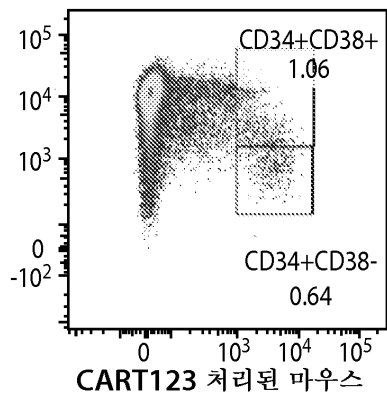
도면18b



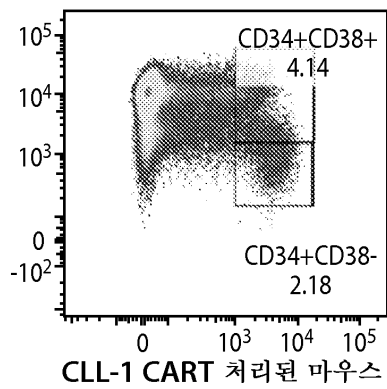
도면19a



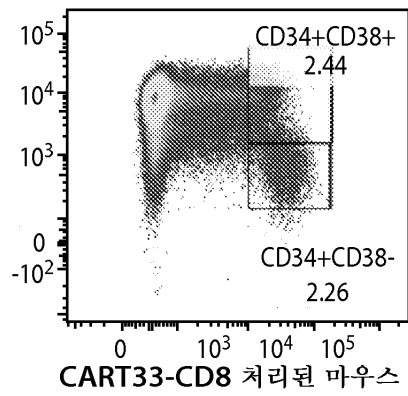
도면19b



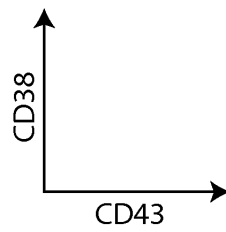
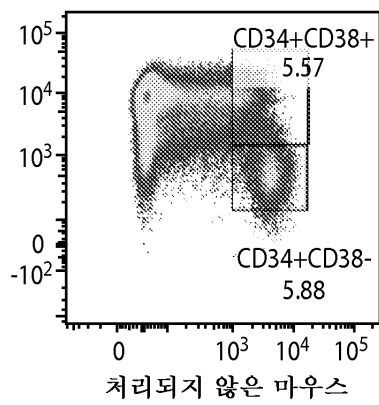
도면19c



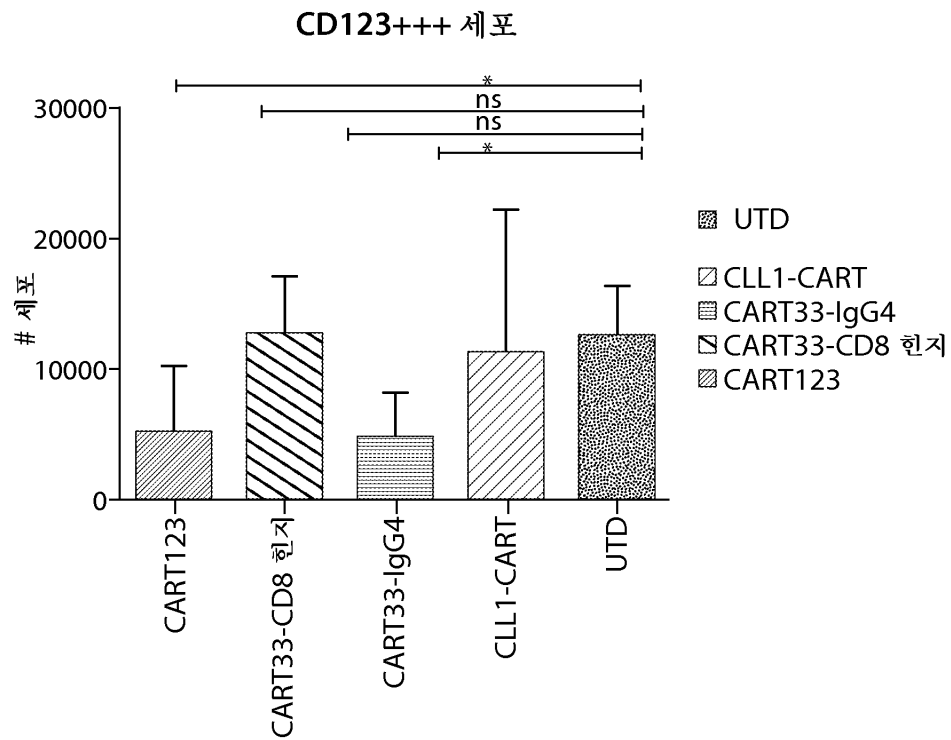
도면19d



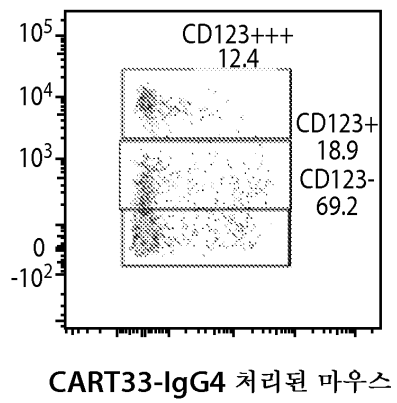
도면19e



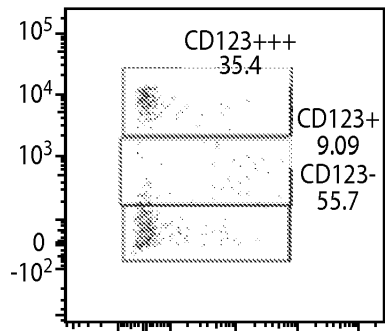
도면20



도면21a

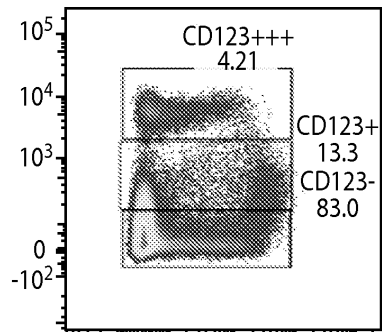


도면21b



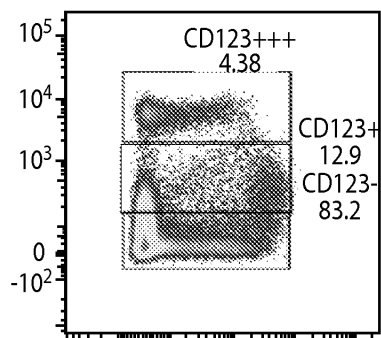
CART123 처리된 마우스

도면21c



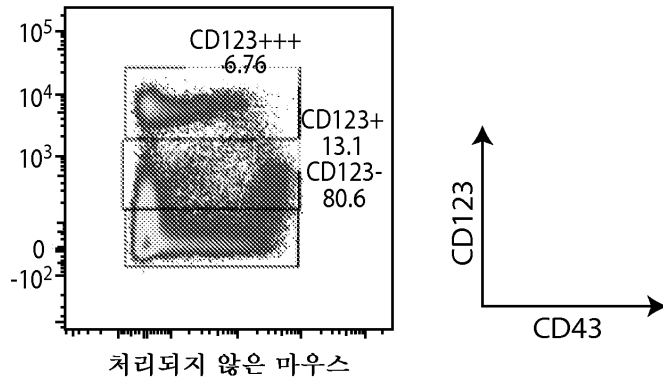
CLL-1 CART 처리된 마우스

도면21d

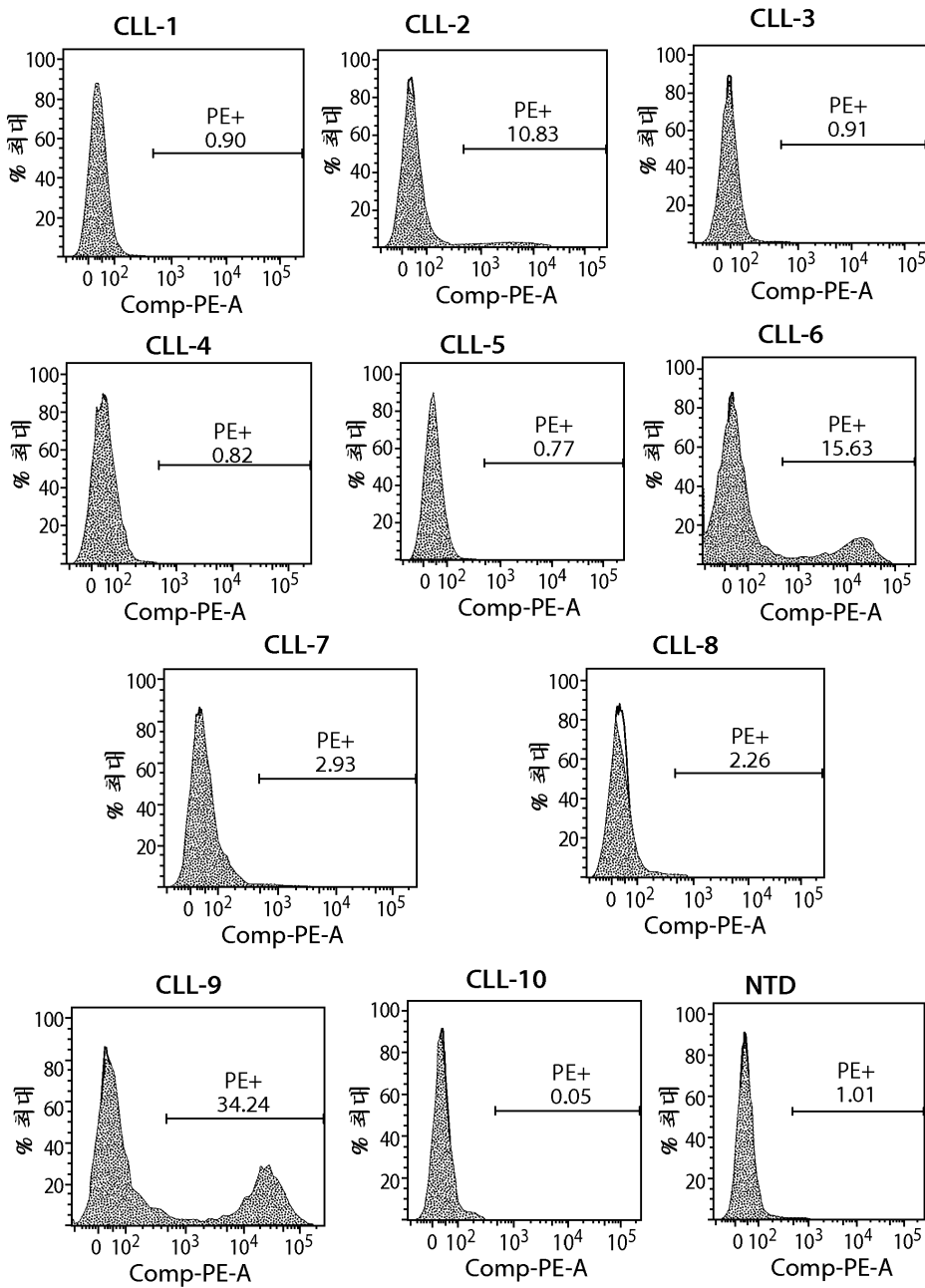


CART33-CD8 처리된 마우스

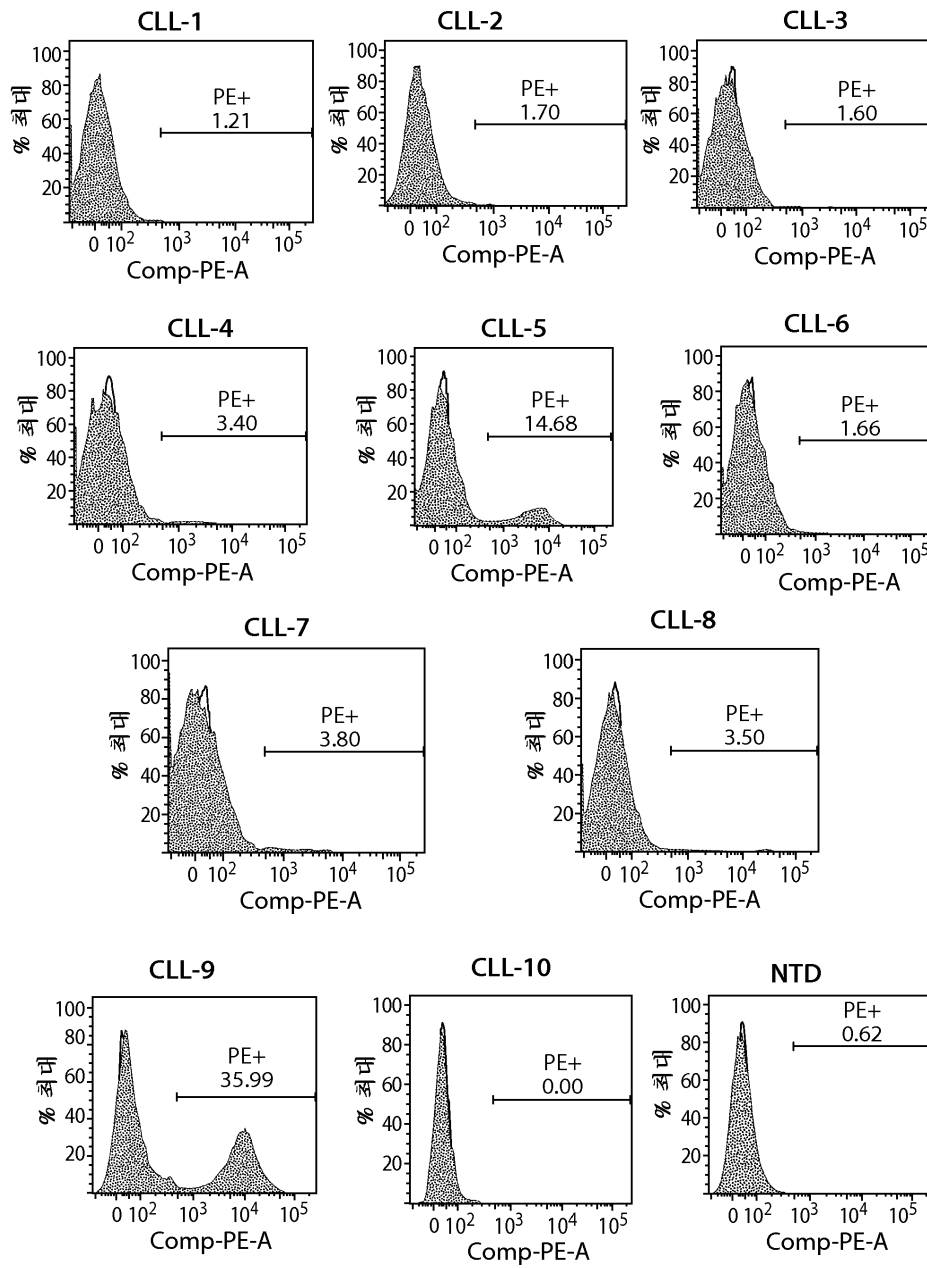
도면21e



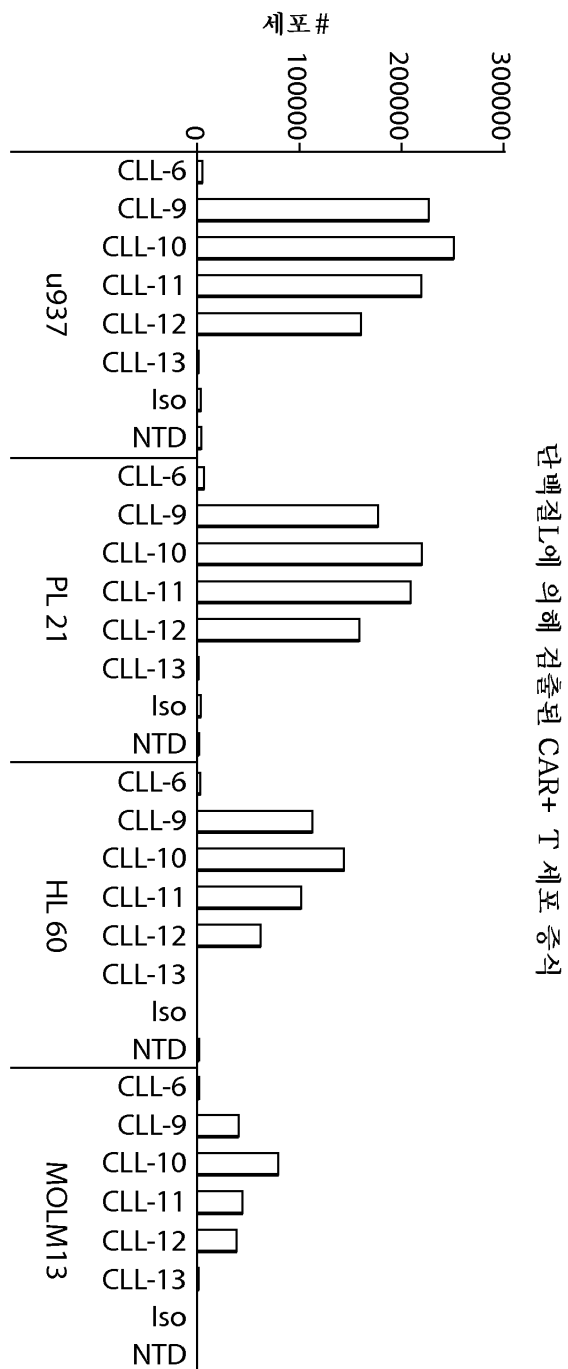
도면22a



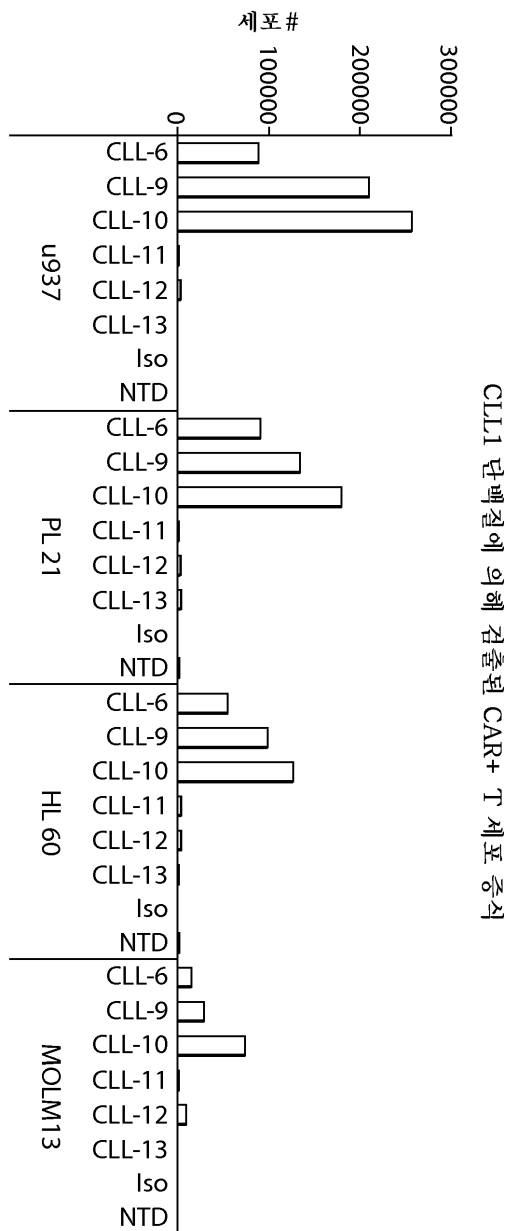
도면22b



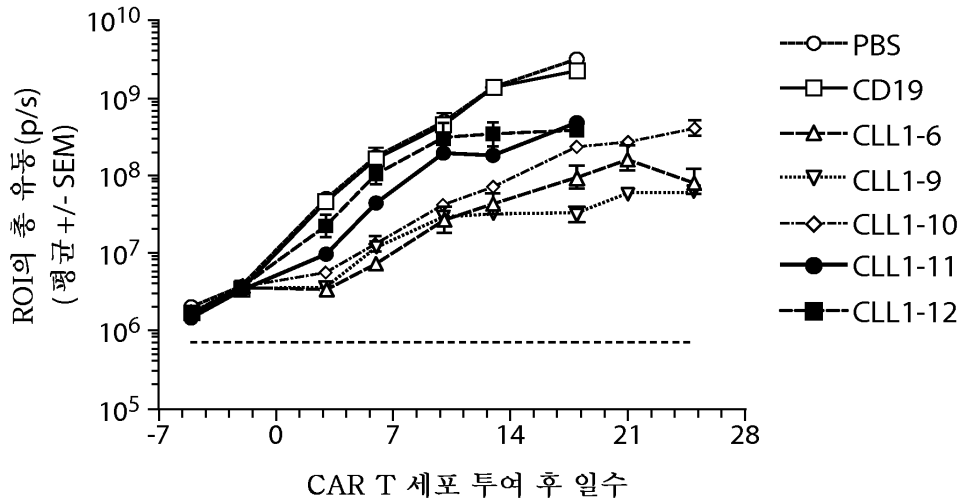
도면23a



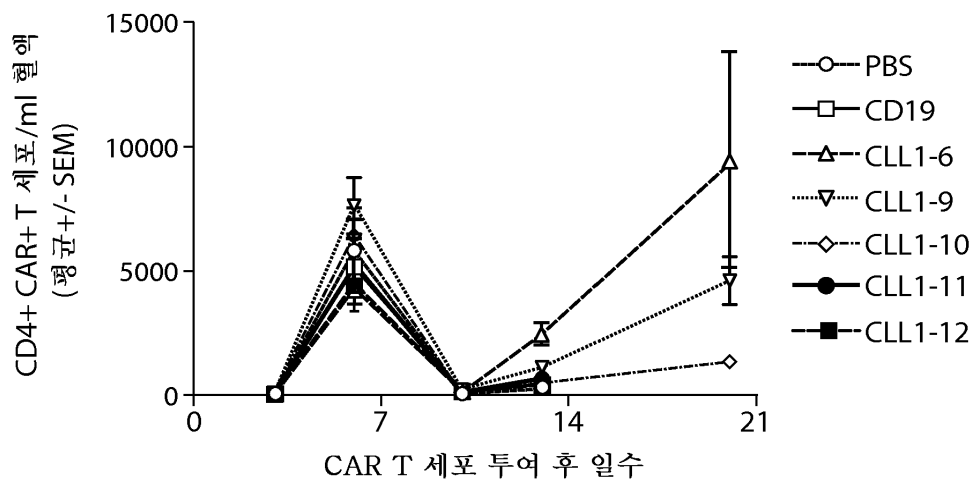
도면23b



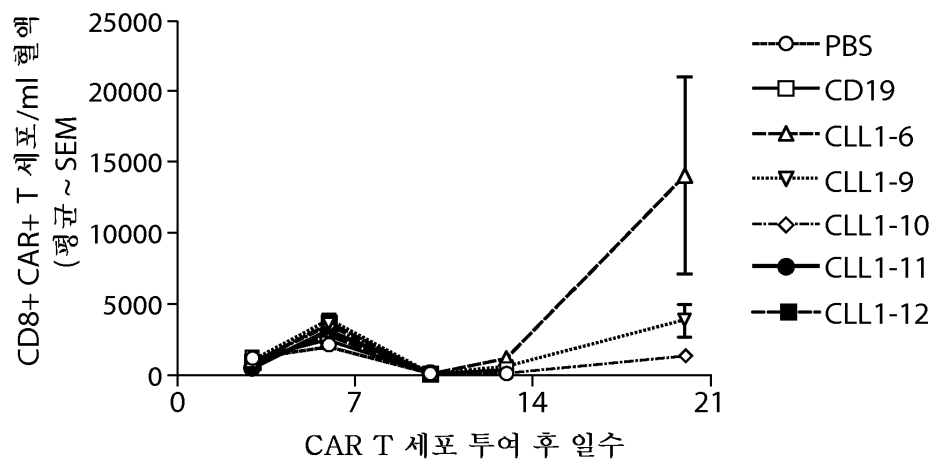
도면24



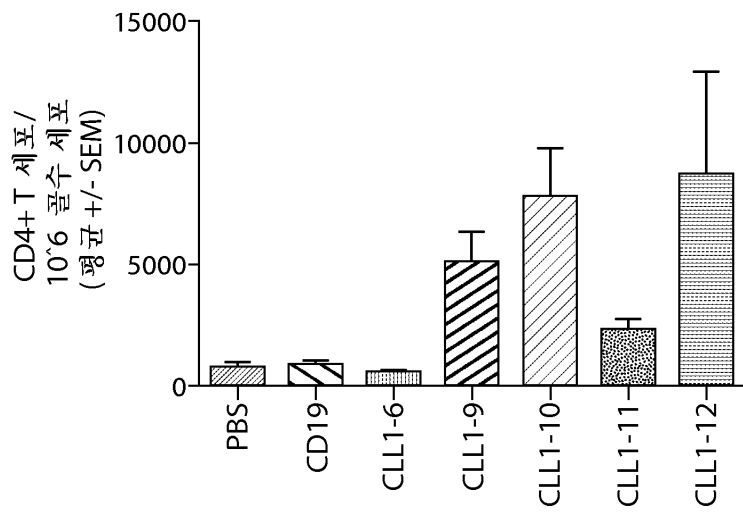
도면25a



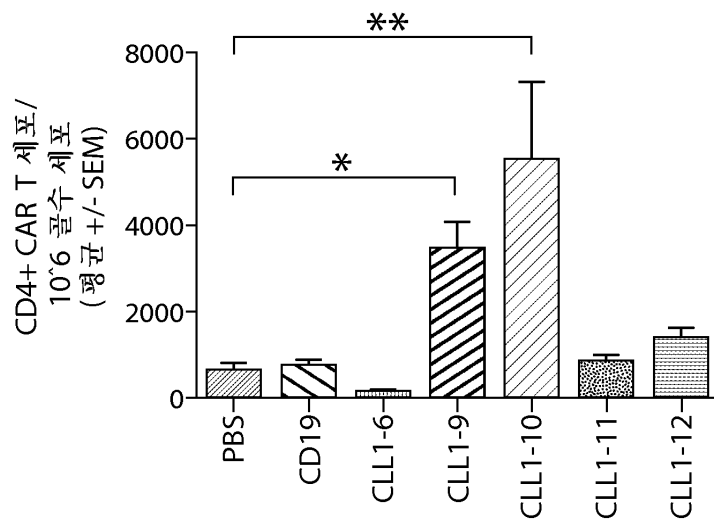
도면25b



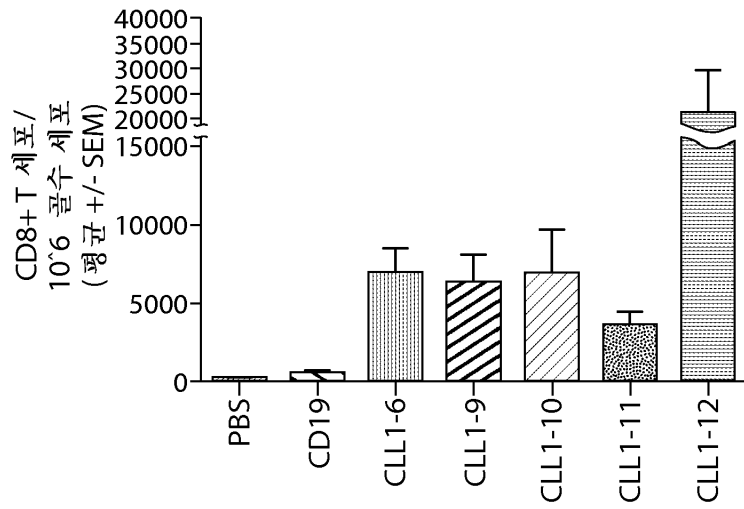
도면26a



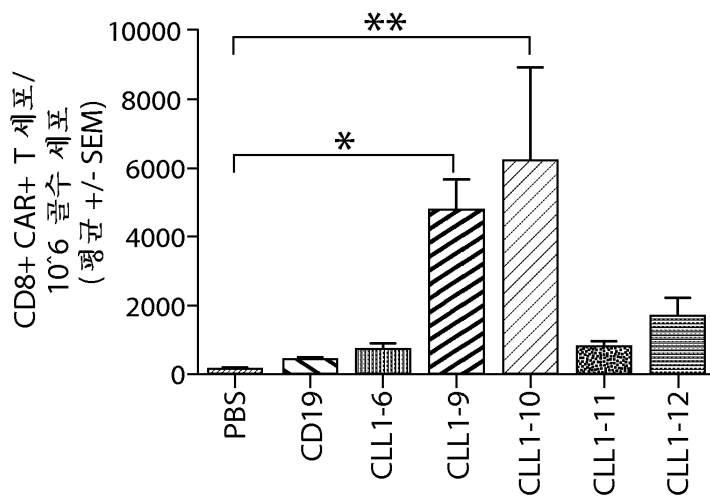
도면26b



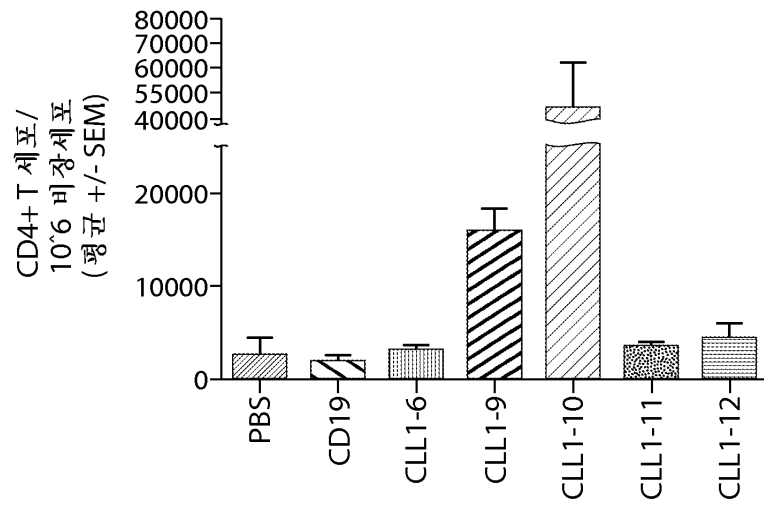
도면26c



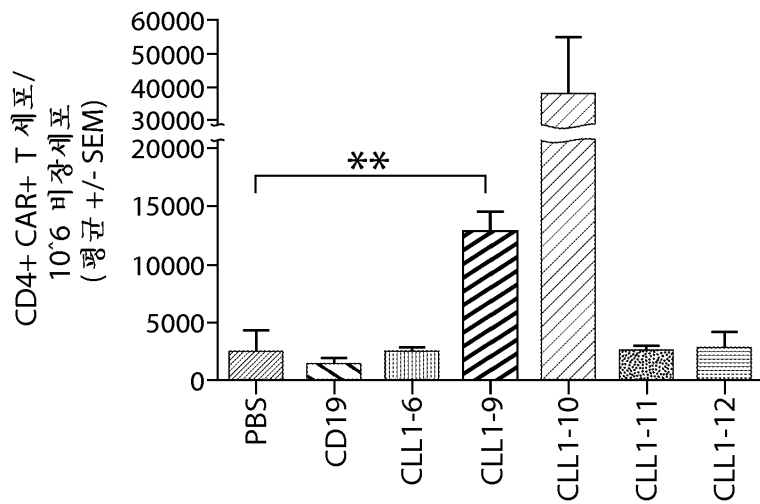
도면26d



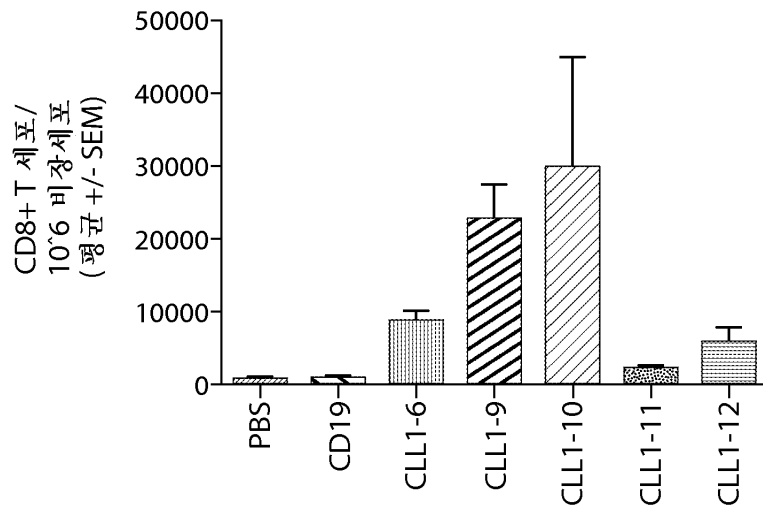
도면27a



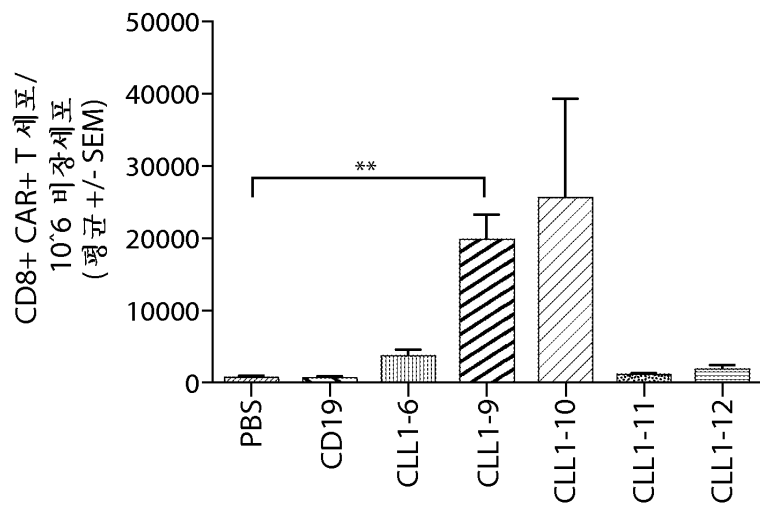
도면27b



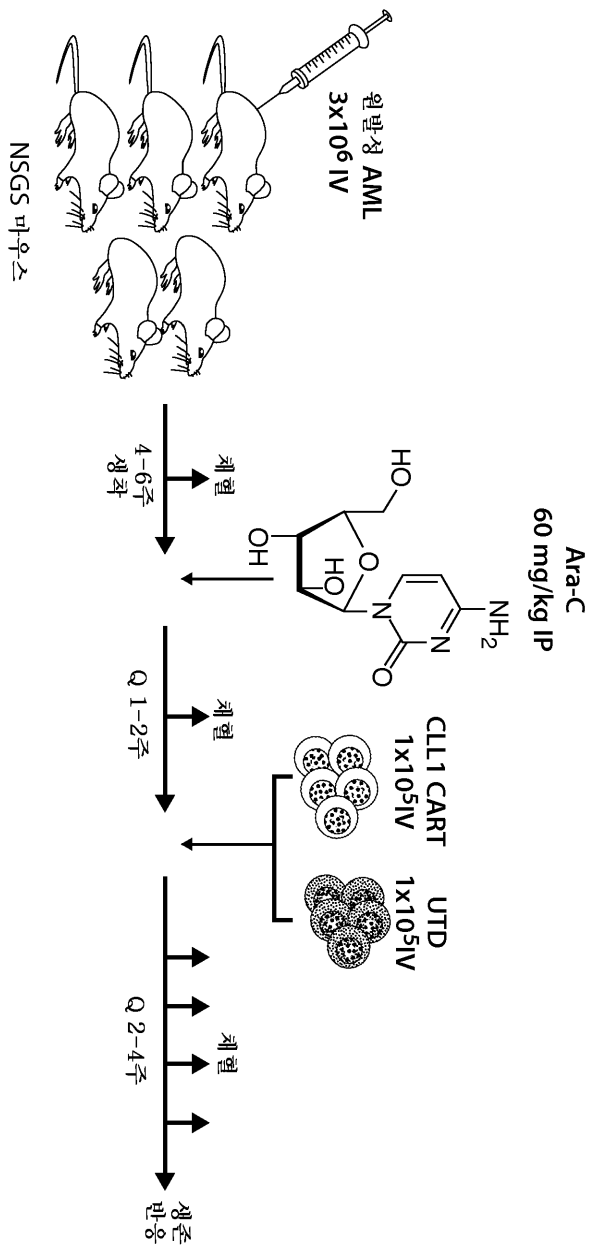
도면27c



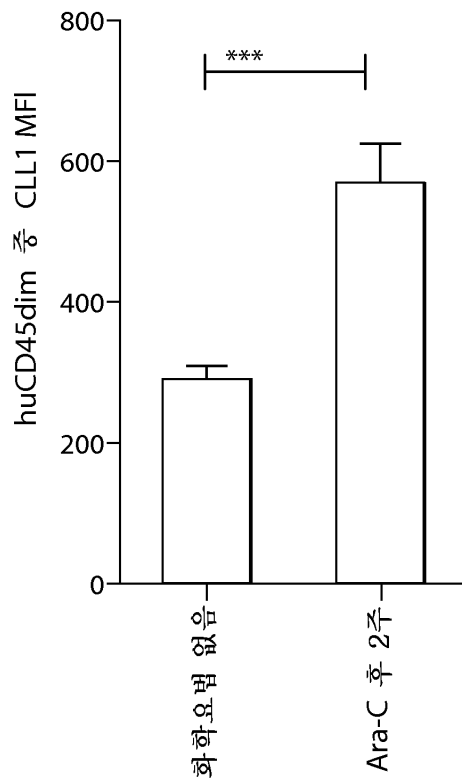
도면27d



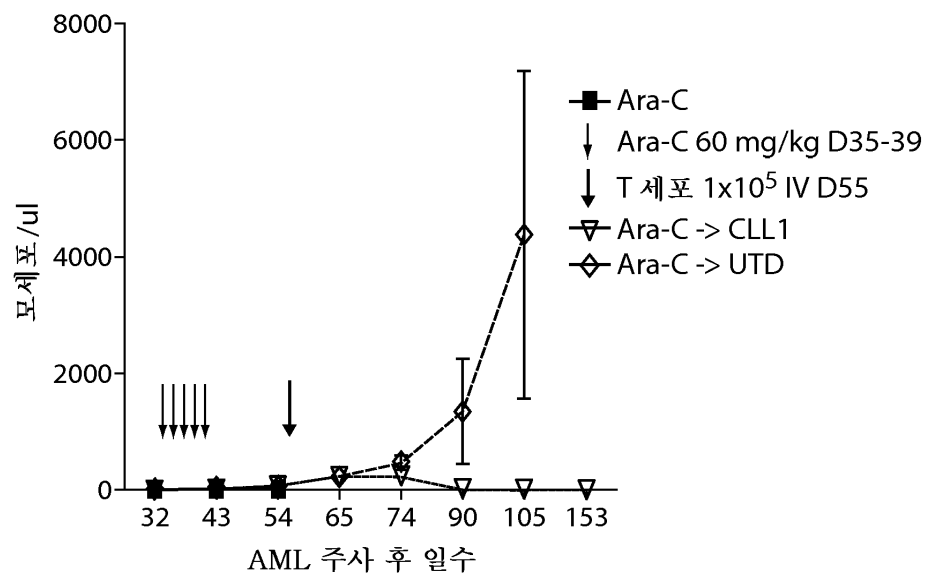
도면28a



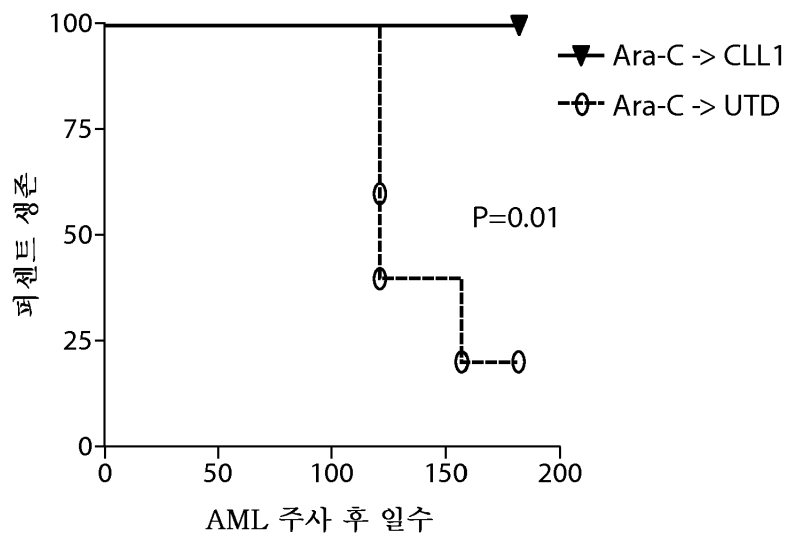
도면28b



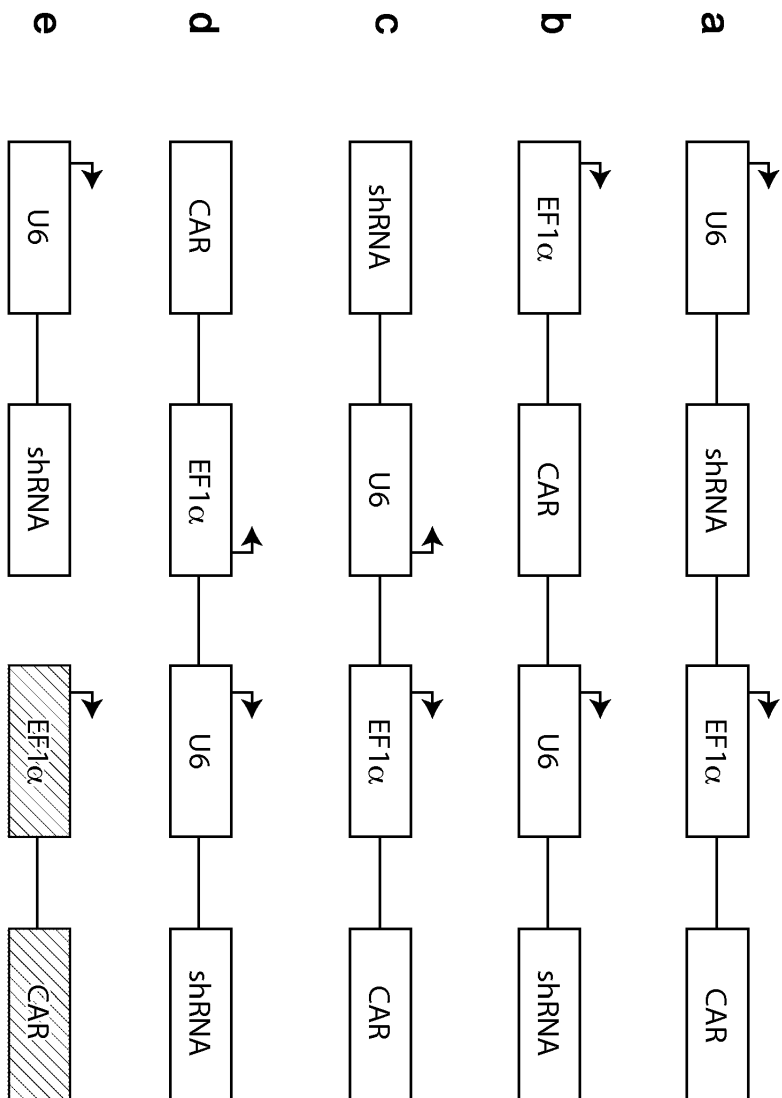
도면28c



도면28d

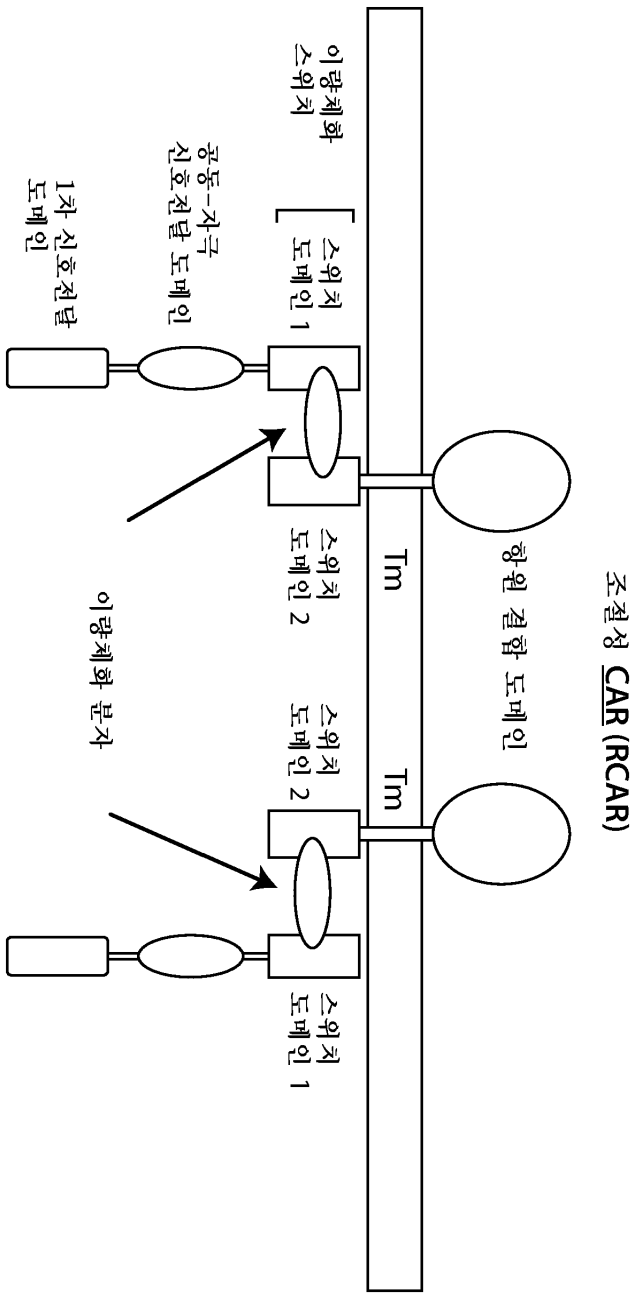


벡터 구축물

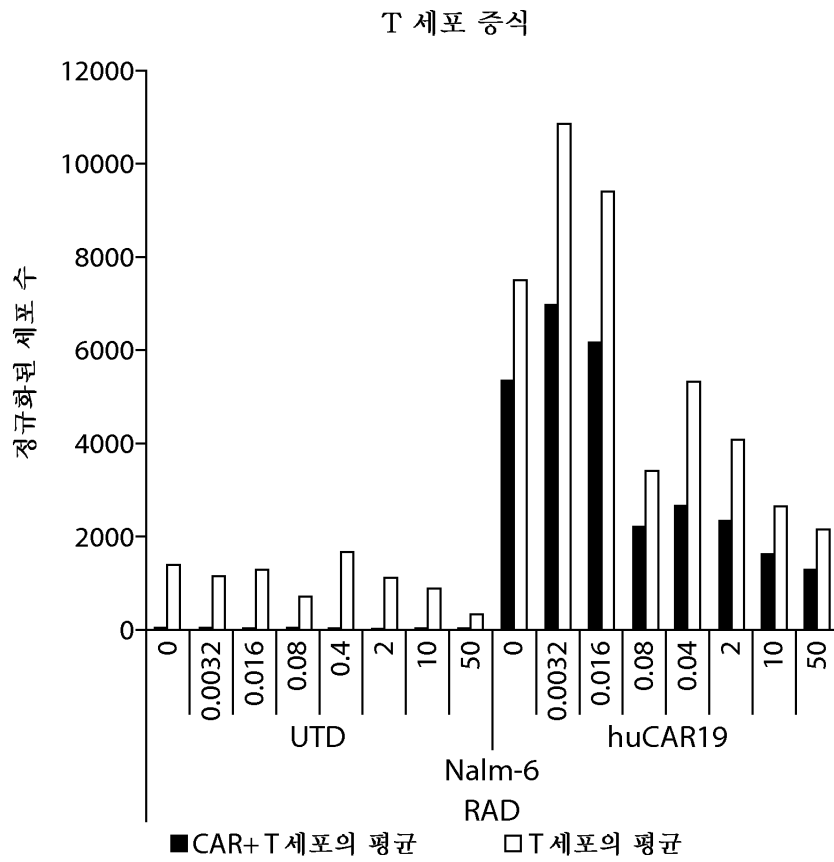


도면29

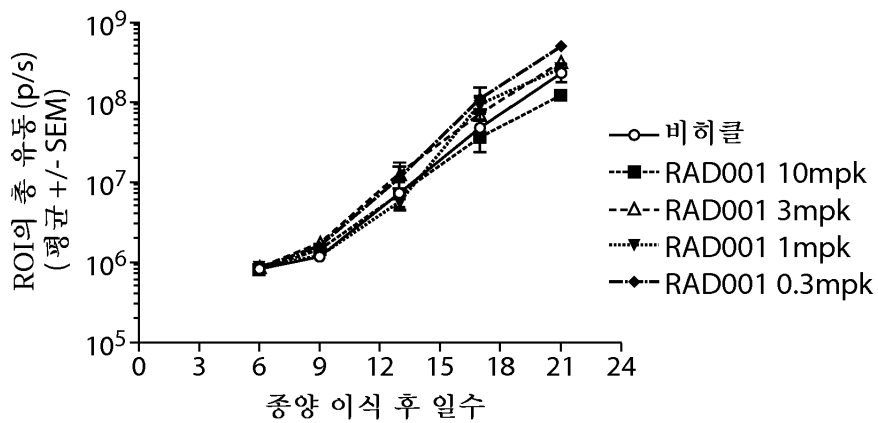
도면30



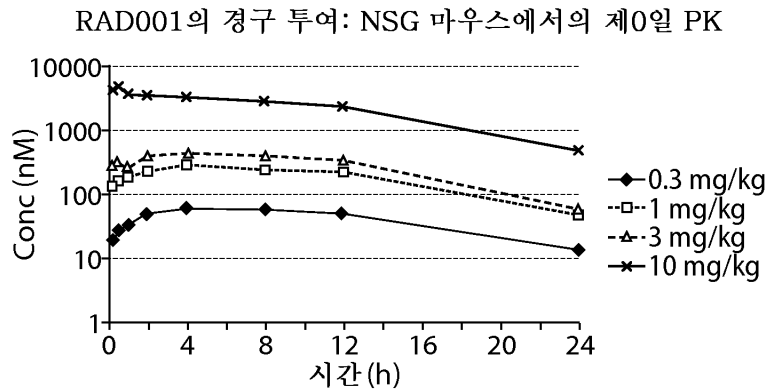
도면31



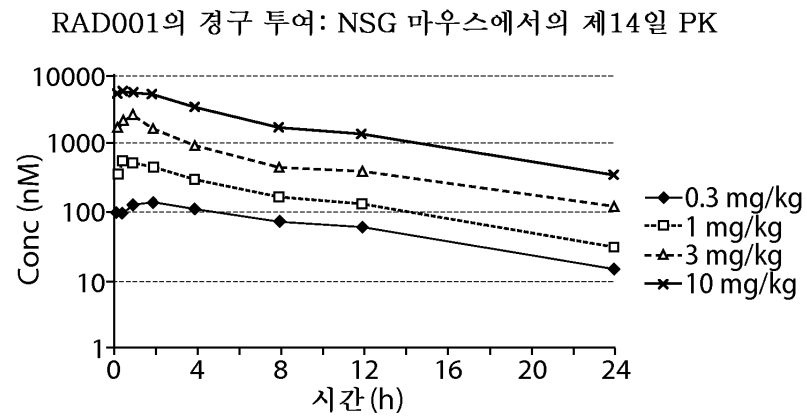
도면32



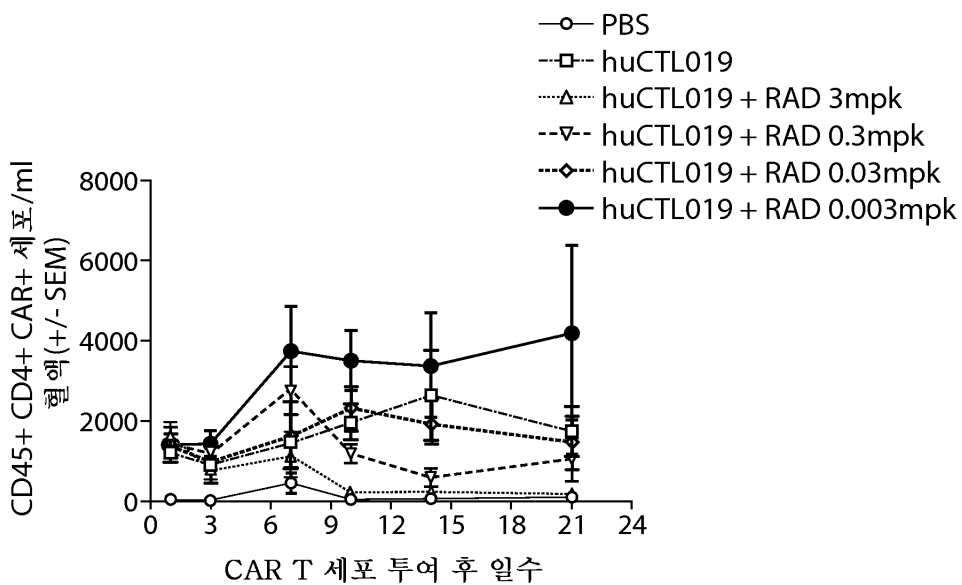
도면33a



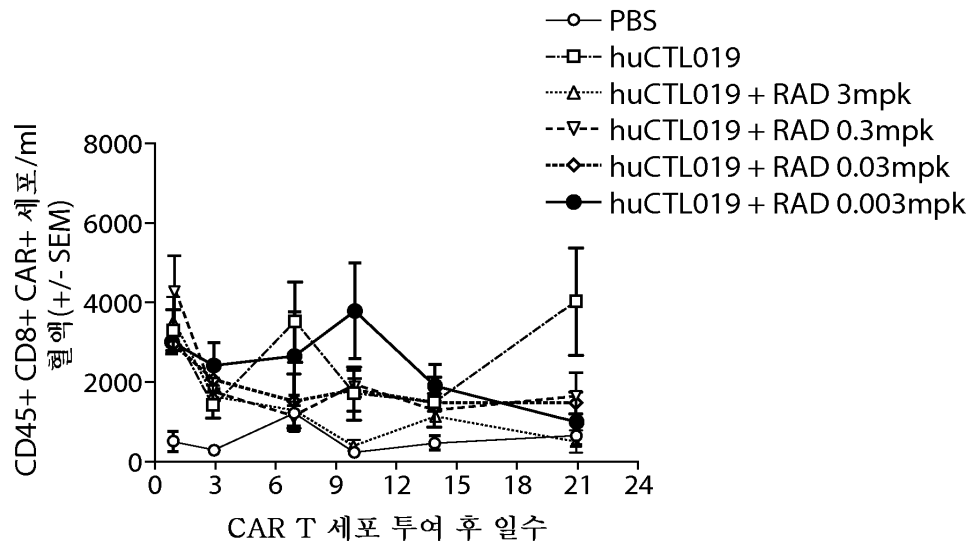
도면33b



도면34a



도면34b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> NOVARTIS AG
THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA

<120> TREATMENT OF CANCER USING A CLL-1 CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR

<130> N2067-7044W03

<140> PCT/US2015/041337

<141> 2015-07-21

<150> PCT/CN2014/090500

<151> 2014-11-06

<150> PCT/CN2014/082602

<151> 2014-07-21

<160> 495

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

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

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro

20

<210> 2

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly

20

25

30

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

35

40

45

<210> 3

<211> 230

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 3

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

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

20

25

30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

35

40

45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

210 215 220
Leu Ser Leu Gly Lys Met

225 230

<210> 4

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

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

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

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

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

 Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser
 225 230 235 240
 Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr

245 250 255
Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg

260 265 270
Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His

275 280

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 6

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 6

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

1 5 10 15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

20

<210> 7

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40

<210> 8

<211> 48

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 8

Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu Pro

1 5 10 15

Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser Thr

20 25 30

Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser Pro

35 40 45

<210> 9

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 9

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

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

35 40 45
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 10

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 11

<211> 1184

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 11

ctgtaggctc cggtgccctg cagtgggcag agcgcacatc gcccacagtc cccgagaagt	60
tggggggagg ggtcggcaat tgaaccgtg cctagagaag gtggcgcggg gtaaaactggg	120
aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccagggg tgggggagaa ccgtatataa	180
gtgcagtagt cggcgtgaac gttctttttc gcaacgggtt tgccgccaga acacaggtaa	240
gtgccgtgtg tggttcccgc gggcctggcc tctttacggg ttatggccct tgcgtgcctt	300
gaattacttc cacctggctg cagtacgtga ttcttgatcc cgagcttcgg gttggaagtg	360
ggtgggagag ttcgaggcct tgcgcttaag gagccccctc gcctcgtgct tgagttgagg	420
cctggcctgg gcgctggggc cgccgcgtgc gaatctggtg gcaccttcgc gcctgtctcg	480
ctgctttcga taagtctcta gccatttaaa atttttgatg acctgctgcg acgctttttt	540
tctggcaaga tagtcttga aatgcgggcc aagatctgca cactgggtatt tcggtttttg	600
gggccgcggg cggcgacggg gcccgtgcgt cccagcgcac atgttcggcg aggcggggcc	660
tgcgagcgcg gccaccgaga atcggacggg ggtagtctca agctggccgg cctgctctgg	720
tgcctggcct cgcgcgcccg tgtatcgccc cgccctgggc ggcaaggctg gcccggtcgg	780
caccagtgc gtgagcggaa agatggccgc ttcccggccc tgcctcaggg agctcaaaat	840
ggaggacgcg gcgctcgga gagcgggcgg gtgagtcacc cacacaaagg aaaaggcct	900
ttccgtctc agccgtcgt tcatgtgact ccacggagta ccgggcgccg tccaggcacc	960
tcgattagtt ctgagcttt tggagtacgt cgtctttagg ttggggggag gggttttatg	1020
cgatggagtt tccccacact gagtgggtgg agactgaagt taggccagct tggcacttga	1080
tgtaatctc ctiggaattt gccctttttg agtttggatc ttggttcatt ctcaagcctc	1140
agacagtggg tcaaagtttt ttctttccat ttcaggtgac gtga	1184

<210> 12

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60
ccc 63

<210> 13

<211> 135

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgctc gcagccctg 60
tccttgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120
gacttcgcct gtgat 135

<210> 14

<211> 690

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 14

gagagcaagt acggccctcc ctgccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggaccc 60

agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagccg gacccccgag 120
gtgacctgtg tgggtgtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180
gtggacggcg tggaggtgca caacccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc 240
acctaccggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300
tacaagtgtg aggtgtccaa caagggcctg ccagcagca tcgagaaaac catcagcaag 360
gccaagggcc agcctcggga gccccagggtg tacacctgc ccctagcca agaggagatg 420
accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggt tctaccccag cgacatcgcc 480

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag cgggtggcag 600
gagggcaacg tcttttagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacaccag 660
aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690

<210> 15

<211> 847

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 15

aggtggcccg aaagtccaa ggcccaggca tctagtgttc ctactgcaca gcccaggca 60

gaaggcagcc tagccaaagc tactactgca cctgccacta cgcgcaatac tggccgtggc 120
ggggaggaga agaaaaagga gaaagagaaa gaagaacagg aagagaggga gaccaagacc 180
cctgaatgtc catcccatag ccagccgctg ggcgtctatc tcttgactcc cgcagtacag 240
gacttgtggc ttagagataa ggccaccttt acatgtttcg tegtgggctc tgacctgaag 300
gatgcccatt tgacttggga ggttgcggga aaggtaccca caggggggggt tgaggaaggg 360
ttgctggagc gccattccaa tggctctcag agccagcact caagactcac ctttccgaga 420
tccctgtgga acgccgggac ctctgtcaca tgtactctaa atcatcctag cctgccccca 480

cagcgtctga tggcccttag agagccagcc gccaggcac cagttaagct tagcctgaat 540
ctgctcgcca gtagtgatcc cccagaggcc gccagctggc tcttatgcga agtgtccggc 600
tttagcccg ccaacatctt gctcatgtgg ctggaggacc agcgagaagt gaacaccagc 660
ggcttcgctc cagcccgccc cccaccccag cgggttcta ccacattctg ggcctggagt 720
gtcttaaggg tcccagcacc acctagcccc cagccagcca catacacctg tgttgtgtcc 780
catgaagata gcaggaccct gctaaatgct tctaggagtc tggaggtttc ctacgtgact 840
gaccatt 847

<210> 16

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

ggtggcggag gtcttgagg tggaggttcc 30

<210> 17

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtgggtcc ttctctgtc actggtatc 60

accctttact gc 72

<210> 18

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt 120

gaactg 126

<210> 19

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc cgcgcgcccc 60
gggccccacc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
tcc 123

<210> 20

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcgaggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 21

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 21

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcgaggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 22

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 22

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

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

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

Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
 195 200 205
 Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
 210 215 220

Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
 225 230 235 240
 Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
 245 250 255

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

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
 325 330 335
 Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
 340 345 350
 Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
 355 360 365

Ala Leu Pro Pro Arg

370

<210> 23

<211> 1182

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

<400> 23

atggccctcc ctgtcactgc cctgcttctc ccctcgcac tcctgctcca cgccgctaga	60
ccacccgcat ggtttctgga ctctccgat cgcccggtga atcccccaac cttctcaccg	120
gcactcttgg ttgtgactga gggcgataat gcgacctca cgtgctcggt ctccaacacc	180
tccgaatcat tcgtgctgaa ctggtaccgc atgagcccg caaaccagac cgacaagctc	240

gccgcgtttc cggaagatcg gtcgcaaccg ggacaggatt gtcggttccg cgtgactcaa 300
ctgccgaatg gcagagactt ccacatgagc gtggtccgcg ctaggcgaaa cgactccggg 360

acctacctgt ggggagccat ctgctggcg cctaaggccc aaatcaaaga gagcttgagg 420
gccgaactga gattgaccga gcgcagagct gaggtgcaa ctgcacatcc atccccatcg 480
cctcgccctg cggggcagtt tcagaccctg gtcacgacca ctccggcgcc gcgcccaccg 540
actccggccc caactatcgc gagccagccc ctgctgctga ggccggaagc atgccgccct 600
gccgccggag gtgctgtgca taccggggga ttggacttcg catgcgacat ctacatttgg 660
gctcctctcg ccggaacttg tggcgtgctc cttctgtccc tggatcatcac cctgtactgc 720
aagcggggtc ggaaaaagct tctgtacatt ttcaagcagc cttcatgag gcccgtgcaa 780

accacccagg aggaggacgg ttgctcctgc cggttccccg aagaggaaga aggaggttgc 840
gagctgcgcg tgaagtcttc ccggagcgcc gacgcccccg cctataagca gggccagaac 900
cagctgtaca acgaactgaa cctgggacgg cgggaagagt acgatgtgct ggacaagcgg 960
cgcgccggg accccgaaat gggcgggaag cctagaagaa agaaccctca ggaaggcctg 1020
tataacgagc tgcagaagga caagatggcc gaggcctact ccgaaattgg gatgaaggga 1080
gagcggcgga ggggaaagg gcacgacggc ctgtaccaag gactgtccac cgccaccaag 1140
gacacatacg atgccctgca catgcaggcc ctccccctc gc 1182

<210> 24

<211> 394

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

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

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro

20 25 30

Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly

35 40 45

Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe

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

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

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 370 375 380
 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 385 390

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 26

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(30)

<223> /note="This sequence may encompass 1-6 'Gly Gly Gly Gly Ser'
 repeating units, wherein some positions may be absent"

<220>

<221> source

<223> /note="See specification as filed for detailed description of
substitutions and preferred embodiments"

<400> 26

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25 30

<210> 27

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 28

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 29

<211> 4

```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 29
Gly Gly Gly Ser
1
<210> 30
<211> 5000
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polynucleotide"
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(5000)
<223> /note="This sequence may encompass 50-5,000 nucleotides,
        wherein some positions may be absent"
<220>
<221> source
<223> /note="See specification as filed for detailed description of
        substitutions and preferred embodiments"
<400> 30
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      60
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      120

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      180
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      240
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      300
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      360
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      420
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      480

```


[illegible]

[illegible]

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 31

<211> 100

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 31

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 60
 tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 100

<210> 32

<211> 5000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5000)

<223> /note="This sequence may encompass 50-5,000 nucleotides,
wherein some positions may be absent"

<400> 32

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	60
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	120
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	180
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	240
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	300
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	360
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	420
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	480
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	540
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	600
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	660
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	720
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	780
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	840
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	900
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	960
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1020
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1080
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1140
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1200
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1260
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1320
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1380
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1440
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	1500

[illegible]

[illegible]


```

<210> 33
<211> 5000
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polynucleotide"
<220><221> misc_feature
<222> (1)..(5000)
<223> /note="This sequence may encompass 100-5,000 nucleotides,
        wherein some positions may be absent"
<400> 33
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      60
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      120
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      180

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      240
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      300
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      360
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      420
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      480
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      540
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      600

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      660
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      720
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      780
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      840
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      900
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      960
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1020

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1080
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1140
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1200

```

[illegible]

[illegible]

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 34

<211> 400

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(400)

<223> /note="This sequence may encompass 100-400 nucleotides,
 wherein some positions may be absent"

<220>

<221> source

<223> /note="See specification as filed for detailed description of
 substitutions and preferred embodiments"

<400> 34

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 400

<210> 35

<211> 2000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2000)

<223> /note="This sequence may encompass 50-2,000 nucleotides,
wherein some positions may be absent"

<400> 35

aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	60
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	120
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	180
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	240
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	300
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	360
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	420
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	480
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	540
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	600
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	660
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	720
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	780
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	840
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	900
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	960
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1020
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1080
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1140
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1200
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1260
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1320
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1380
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1440
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1500

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2000

<210> 36

<211> 230

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

100 105 110

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

115 120 125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

130 135 140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

145 150 155 160
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

165 170 175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu

180 185 190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

210 215 220
Leu Ser Leu Gly Lys Met

225 230

<210> 37

<211> 690

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 37

gagagcaagt acggccctcc ctgccccct tgcctgccc ccgagttcct gggcggaccc	60
agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagccg gacccccgag	120
gtgacctgtg tgggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac	180
gtggacggcg tggaggtgca caacccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc	240
acctaccggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa	300
tacaagtgtg aggtgtccaa caaggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag	360
gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg tacacctgc cccctagcca agaggagatg	420

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggt tctaccccag cgacatcgcc 480
 gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc cctgtgctg 540
 gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggtgaccg tggacaagag ccggtggcag 600
 gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag 660
 aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690

<210> 38

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> /note="This sequence may encompass 1-10 'Gly Gly Gly Ser'
 repeating units, wherein some positions may be absent"

<220>

<221> source

<223> /note="See specification as filed for detailed description of
 substitutions and preferred embodiments"

<400> 38

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

35 40

<210> 39

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 39

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His

165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro

180 185 190

Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala

195 200 205

Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr

210 215 220

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

225 230 235 240
 Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245
 <210> 40
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 40
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr
 100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
 130 135 140
 Pro Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
 145 150 155 160
 Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln

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

210 215 220
 Tyr Cys Met Gln Gly Thr His Trp Ser Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr
 225 230 235 240
 Arg Leu Glu Ile Lys
 245

<210> 41

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

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

Ser Leu Lys Leu Lys Tyr Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Thr Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro

100 105 110
Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met
130 135 140

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

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 42

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

35 40 45
 Ala Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

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

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

 195 200 205
 Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly
 210 215 220
 Ser Ser Pro Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 225 230 235
 <210> 43
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 43

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

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

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

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

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

Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 44

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 44

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp

100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp

165 170 175

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Met Tyr Ala Ala
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
210 215 220

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp Thr Phe
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
245

<210> 45

<211> 255

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr

100 105 110

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys

145 150 155 160

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn

165 170 175

Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Thr Val

180 185 190

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

195 200 205

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Ser Asn Gln Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250 255

<210> 46

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

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

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

 Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 225 230 235
 <210> 47
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 47

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Ala Asn Thr Phe Ser Asp His

20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Phe Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr

130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile

145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser

180 185 190

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Asn Gly Ser Gly Ser Gly Thr

195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr

210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly

225 230 235 240
 Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245
 <210> 48
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 48
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val
 130 135 140
 Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
 145 150 155 160
 Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp

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

210 215 220
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly
225 230 235 240
Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 49

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Ser Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr

20 25 30

Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr
130 135 140

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

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

<210> 50

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 50

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

35 40 45
 Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

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

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

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

 <210> 51
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 51

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Ser Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ser Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 52

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 52

gaagtgaac tccaacagtc aggcgcagaa gtcaagaagc ccgcatcgtc agtgaaagtg 60

tcctgcaaag cctccggcgg aaccttcagc tcctacgcaa tcagctgggt gcggcaggcg 120

cccggacagg gactggagtg gatgggcggt atcattccga tctttggcac cgccaattac 180

gcccagaagt tccagggacg cgtcacaatc accgccgacg aatcgacttc caccgcctac 240

atggagctgt cgtccttgag gagcgaagat accgccgtgt actactgcgc tcgggatctg 300

gagatggcca ctatcatggg gggttactgg ggccaggagg ccctgggtcac tgtgtcctcg 360

ggaggagggg gatcaggcgg cggcggttcc gggggaggag gaagccagtc cgcgctgact 420

cagccagctt ccgtgtctgg ttccgccgga cagtccatca ctattagctg taccggcacc 480

agcagcgacg tgggcggcta caactatgtg tcatggtacc agcagcacc ggggaaggcg 540

cctaagctga tgatctacga cgtgtccaac cgccttagcg gagtgccaa cagattctcc 600

ggttcgaagt cagggaacac tgcctccctc acgattagcg ggctgcaagc cgaggatgaa 660

gccgactact actgtcctc ctatacctc tcctcgacc tggacgtggt gttcggagga 720

ggcaccaagc tcaccgtcct t 741

<210> 53

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

gaagtgcaat tgggtggaaag cggaggagga gtggtgcaac ctggaggaag cctgagactg	60
tcatgtgccg cctcgggatt cactttcgat gactacgcaa tgcactgggt ccgccaggcc	120
cccggaaagg gtctggaatg ggtgtccctc atctccggcg atgggggttc cacttactat	180
gcggattctg tgaagggccg cttcacaatc tcccgggaca attccaagaa cactctgtac	240

cttcaaatga actccctgag ggtggaggac accgctgtgt actactgcgc gagagtgttt	300
gactcgtact atatggacgt ctggggaaag ggcaccaccg tgaccgtgtc cagcggtaggc	360
ggtggatcgg ggggcggcgg ctccgggagc ggaggttccg agattgtgct gactcagtcg	420
ccgttgtcac tgctgtcac ccccgggcag ccggcctcca tttcatgccg gtccagccag	480
tccctggtct acaccgatgg gaacacttac ctcaactggt tccagcagcg ccagggacag	540
tcccccgga ggtgatcta caaagtgtca aaccgggact ccggcgtccc cgatcgggttc	600
tcgggaagcg gcagcgacac cgacttcacg ctgaagattt cccgcgtgga agccgaggac	660

gtgggcactt actactgtat gcagggcacc cactggtcgt ttaccttcgg acaaggaact	720
aggctcgaga tcaag	735

<210> 54

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

caagtgcagc ttcaagaaag cgggtccagga ctcgtaagc catcagaaac tctttccctc	60
acttgtaccg tgtcgggagg cagcatctcc tcgagctcct actactgggg ttggattaga	120
cagcccccg gaaagggtt ggagtggatc ggttccatct actactccgg gtcgacctac	180

tacaaccctt cctgaaatc tcgggtgtcc atctccgtcg acacctcaa gaaccagttc	240
agcctgaagc tgaatatgt gaccgggcc gatactccg tgtactattg cgccaccccg	300
ggaacctact acgacttct ctccgggtac taccgtttt actggggaca ggggactctc	360
gtgaccgtgt cctcgggcgg cggaggttca ggcggtggcg gatcgggggg aggaggctca	420
gacattgtga tgaccagag cccgtccagc ctgagcgcct ccgtgggcga tagggtcacg	480
attacttgcc gggcgtccca gggaatctca agctacctgg cctggtacca acagaagccc	540

ggaaaggcac ccaagttgct gatctatgcc gctagcactc tgcagtcagg ggtgccttcc 600

cgcttctccg gctccggctc gggcaccgac ttcacctga ccatttctc actgcaaccc 660

gaggacttcg ccacttacta ctgccagcag ctgaactcct acccttacac attcggacag 720

ggaaccaagc tggaaatcaa g 741

<210> 55

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

caagtgaac tcgtggaatc tggaggagga ctctgcaac ccgaggatc attgcgactc 60

tcgtgtgagg catccggctt taccttttca tctactgga tgcctgggt cagacaggcc 120

cccgggaagg gactggaatg ggtcgcaac atcaacgagg acggtcggc caagtctac 180

gtggactccg tgaagggccg cttcacgac tcacgggata acgccaagaa ttccctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag ggccgaggac actgcggtgt acttctgcgc acgcgacctg 300

aggtccggga gatactgggg acagggcacc ctctgaccg tgcgagcgg aggagggggg 360

tcgggcggcg gcggttcagg tggcggcgg agcgaaattg tgttgacca gtcccctgga 420

accctgagcc tgcacactgg aggacgcgc accctgtcct gccggggccag ccagagcatc 480

tcagggtcct tcttggttg gtaccagcag aagccgggac aggtccgag acttctgac 540

tacggcgctt cctcggggc gaccggaatc ccggtcggg tctccggctc gggaagcgga 600

actgacttca ctcttacct ttcccgcctg gagccggaag atttcgctg gtactactgc 660

cagcagtacg ggtcatcccc tccaaccttc ggctgggaa ctaagctgga aatcaaa 717

<210> 56

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 56

gaagtgaac tccaacaatc cggtccagga ctgctcagac cctccgaaac tctctcgctt 60
 acatgcactg tgtccggcgg ccctgtgcgg tccggctctc attactggaa ctggattcgc 120

cagcccccgg gacgcggact ggagtggatc ggtacatct attactcggg gtcgactaac 180
 tacaaccga gcctggaata tagagtgacc atctcaatcg acacgtcaa caaccacttc 240
 tcgtgaagt tgcctccgt gactgccgcc gatactgcc tgtacttctg tgcctcgga 300
 accgccacct tcgactggaa ctccctttt gactcatggg gccaggggac ctttgtgacc 360
 glgtccagcg gaggaggagg ctccggtggt gccgggagcg gtagcggcgg aagcgacatc 420
 cagatgacc agtcaccgtc ctgctgtcc gcatccattg gggatcgggt cactattact 480
 tgccggcgt cccagtcct ctgctctac ctgaactggt atcagcagaa gccagggaaa 540

gcccccaagc tgcgatcta cgcgccagc agcctgcagt caggagtgc ttcaagttt 600
 agcggcagcg gatcggaac cgacttcacc ctgaccattt cctccctca acccgaggat 660
 ttcgccacct actactcca gcagtcctac tccacccgt ggaccttcgg acaggaacc 720
 aagctggaga tcaag 735

<210> 57
 <211> 747
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 57

caagtgaac ttcaagaatc aggcgcagga ctctcaagc catccgaaac actctccctc 60

acttgcgcgg tgiacggggg aagcttctcg ggatactact ggtcctggat taggcagcct 120
 cccggcaaag gcctggaatg ggtcggggag atcaaccact ccggttcaac caactacaac 180
 ccgtcgtga agtcccggt gaccatttcc gtggacacct ctaagaatca gttcagcctg 240
 aagctctctg ccgtgaccgc ggcggacacc gccgtctact actgcgctcg gggatcagga 300
 ctggtggtgt acgccatccg cgtgggctcg ggctggttcg attactgggg ccaggaacc 360
 ctggtcactg tgcgtccgg cggaggaggt tcggggggcg gagacagcgg tggagggggt 420
 agcgacatcc agatgacca gtccccgtcc tcgtgtccg cctccgtggg agatagagtg 480

accatcacct gtcgggcac cagagcatt tcagctacc tgaactggta tcagcagaag 540
 cccggaagg ccctaagct gttgatgtac gccgccagca gcttgcatc gggcgtgccg 600

agccggtttt ccggttcgg ctccgggact gatttcaccc tgactatctc atccctgcaa 660
 cccgaggact tcgccactta ttactgccag cagtcctact caaccctcc ctggacgttc 720
 ggacagggca ccaaggtcga tatcaag 747

<210> 58

<211> 765

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 58

gaagtgcaat tgggtggaatc tggaggagga cttgtgaaac ctggtggaag cctgagactt 60
 tcctgtgcgg cctcgggatt cactttctcc tcctactcca tgaactgggt cagacaggcc 120
 cctgggaagg gactggaatg ggtgtcatcc atctctctct catcgtcgta catctactac 180
 gccgatagcg tgaaggggcg gttcaccatt tcccgggaca acgctaagaa cagcctctat 240
 ctgcaaatga attccctccg cgccgaggac actgccgtgt actactgcgc gagggacccc 300
 tcatcaagcg gcagctacta catggaggac tcgtattact acggaatgga cgtctggggc 360
 cagggaaacca ctgtgacggt gtcctccggt ggagggggct ccggggggcgg gggatctggc 420

ggaggaggct ccaacttcat gctgaccag ccgcactccg tgtccgaaag ccccgaaag 480
 accgtgacaa ttctctgcac cgggtcctcc ggctcgatcg catcaacta cgtgcagtgg 540
 taccagcagc gcccggcgag cgccccacc actgtcatct acgaggataa ccagcgccg 600
 tcgggtgtcc cagaccggtt ttccggttcg atcgatagca gcagcaacag cgcctccctg 660
 accatttccg gcctcaagac cgaggatgag gctgactact actgccagtc gtatgactcc 720
 tcgaaccaag tgggtgttcgg tggcggcacc aagctgactg tgctg 765

<210> 59

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 59

caagtgaacc tgagagaaag cggcggagga cttgtgcaac ctggaggaag cctgagactg 60
tcatgtgccg cgtccggctt cactttctcg tcttacgaga tgaactgggt cggccaggca 120
ccgggcaaag gactggaatg ggtgtcctac atttctctgt ccgggtccac catctattac 180
gccgactccg tgaagggacg gttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa ctccctctac 240
ctccaaatga actcactgag ggcagaggac actgcggtct actactgcgc ccgcgaagct 300
ttgggtagct cctgggagtg gggccaggga accactgtga ccgtgtcctc ggggtggaggg 360

ggctccgggtg gcgggggttc aggggggtggc ggaagcgata tccagatgac tcagtcacca 420
agctccctga gcgcctcagt gggagatcgg gtcacaatca cgtgccaggc gtcccaggac 480
atttctaact acctcaattg gtaccagcag aagccgggga agggccccaa gcttctgac 540
tacgatgcct ccaacctgga aaccggcgtg cctcccgt tctcgggac gggcagcggc 600
actgacttca cctttaccat ctctccctg caacctgagg acatgccac ctattactgc 660
cagcagtacg ataacctccc gctgactttc ggaggcggaa ctaagctgga gattaag 717

<210> 60

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

caagtgaac tcgtccagtc cgggtcagaa gtcaaggaac ccggagcctc cgtgaaagtg 60
tcttgcgaag ctctgcca cactttctcg gaccacgtga tgactgggt gcgccaggcg 120
ccgggccagc gcttcgaatg gatgggatac attcatgccg ccaatggcgg taccactac 180
tccaaaagt tccagatag agtcaccatc acccgggaca ccagcgcaa caccgtgtat 240
atggatctgt ccagcctgag gtccaggat accgccgtgt actactgcgc ccggggcgga 300
tacaactcag acgcgttcga catttgggga cagggtacta tggtcaccgt gtcacccggg 360

ggcgggtggca gcgggggcgg aggcctctggc ggaggcggat cagggggagg aggggtccgac 420
atcgtgatga cccagtcccc gtcacgggtg tccgcgtccg tgggagacag agtgaccatc 480
acgtgtcgcg ccagccagga catctcctcg tggttggcat ggtaccagca gaagcctgga 540
aagggcccgga agctgtcat ctacccgcc tcctcccttc aatcgggagt gccctcgcgg 600
ttcaacggaa gcggaagcgg gacagatttt accctgacta ttagctcgt gcagcccag 660
gacttcgcta ctactactg ccaacagagc tactccacc cactgacttt cggcgggggt 720

accaaggtcg agatcaag 738

<210> 61

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 61

caagtgaac ttgttcaatc cgggtggaggt cttgtgcagc ccggaggatc actcagactg	60
tcgtgcgccg cctctgggtt cactttctcc tcatactcga tgaactgggt gcgccaggcg	120
ccgggaaagg gcctggaatg ggtgtcatatc atctctcct catctccac catctactac	180
gccgattccg tgaaggccg cttcactatt tcccgggaca acgcgaaaaa ctgcctctat	240
ctgcaaatga actccctcgc cgccgaggac accgccgtgt actactgcgc ccgggacctg	300

agcgtgcggg ctattgatgc gttcgacatc tggggacagg gcaccatggt cacagtgtcc	360
agcggaggcg gcggcagcgg tggaggagga tcagggggag gaggttcggg gggcgggtggc	420
tccgatatcg tgctgaccca gagcccgctc agcctctccg cctccgtcgg cgacagagtg	480
accatcacgt gtcaggcatc ccaggacatt agcaactacc tgaattggta ccagcagaag	540
cctggaaagg caccgaagt gctgatctac gacgcctcca acctggaaac cggagtgcc	600
tccaggttct cgggcagcgg ctcgggaacc gacttcactt ttactatctc ctccctgcaa	660
cccaggatt tcgcgacctc ctactgccag caggcctaca gcacccttt caccttcggg	720

ccgggaacta aggtcgaaat caag 744

<210> 62

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 62

gaagtgaat tgggtgaatc aggaggagga gtggtcagat ctggaagaag cctgagactg	60
tcatgcgcgg cttcgggctt taccttcaac tcctacggcc tccactgggt gcgccaggcc	120

cccggaaaag gcctcgaatg ggtcgcactg attgagtacg acgggtccaa caagtactac 180
 ggagatagcg tgaagggccg cttcaccatc tcacgggaca agtccaagtc caccctgtat 240

 ctgcaaatgg acaacctgag ggccgaggat actgccgtgt actactgcgc ccgcgaagga 300
 aacgaagatc tggccttcga tatttggggc cagggtactc ttgtgaccgt gtcgagcggg 360
 ggccggaggct ccggtggagg aggatcgggg ggtggtggtt ccggcggcgg ggggagcgaa 420
 atcgtgctga ccagtcgcc ttctccctc tccgcttcg tgggggaccg ggtcactatt 480
 acgtgtcagg cgtcccaatt catcaagaag aatctgaact ggtaccagca caagccggga 540
 aagggcccca aactgctcat ctacgacgcc agctcgtgc agactggcgt gccttcccg 600
 ttttcggga accggtcggg aaccacctic tcattacca tcagcagcct ccagccggag 660

 gacgtggcga cctactactg ccagcagcat gacaacctic cactgacttt cggcgggggc 720
 accaaggtcg agattaag 738

 <210> 63
 <211> 765
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 63
 caagtgaac tcgtggaatc aggcggagga ctctgcaac ccggaggttc ccttagactg 60
 tcatgtgcc cttccgggtt caatgtgtcc agcaactaca tgacctgggt cagacaggcg 120
 ccgggaaagg gacttgaatg ggtgtccgtg atctactccg gtggagcaac atactacgga 180

 gactccgtga aaggccgctt taccgtgtcc cgcgataact cgaagaacac cgtgtacttg 240
 cagatgaaca ggctgactgc cgaggacacc gccgtgtatt attgcgccg ggacaggctg 300
 tactgtggaa acaactgcta cctgtactac tactacggga tggacgtgtg gggacagggc 360
 actctcgtca ctgtgtcatc cggggggggc ggtagcgggt gcggagggtc cggcggagga 420
 ggctcagggg gaggcggaag cgatatccag gtcaccagc ctcctctc gctgtccgcc 480
 tccgtggcg accgcgtcac cattacttgc cgggcgtgc agtcgatcag ctctacctg 540
 aactggtacc agcagaagcc tggaaaggcc ccgaagctgc tgatctacgc gcctcgtcc 600

 ctgcaaaagc gcgtcccgtc cgggttcagc ggttccggtt cgggaaccga cttcacctg 660
 actatttct cctgcaacc cgaggatttc gccattact actgccagca gtcctactcc 720

acccacac tgccttcgg ccaaggaacc aaggtcgaaa tcaag 765

<210> 64

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

caagtgaac tcgtccagtc cgggtgcagaa gtgaaaaaga gcggagcctc agtgaaagt 60

tcctgcaagg cctccgggta ccccttact ggatactaca ttcagtgggt ccgccaagcc 120

ccgggacagg gtctggagtg gatgggggtg attgacccta actcgggaaa tacgggatac 180

gcgcagaagt tccagggccg cgtgaccatg accaggaaca cctcgatcag caccgcctac 240

atggaactgt cctccctcgg gtcggaggat actgccgtgt actactgcgc ctccgattcc 300

tatgggtact actacggaat ggacgtctgg ggacagggca ccctcgtgac cgtgtcctcg 360

ggaggcggag ggagcggcgg ggggtggatcg ggaggaggcg gctccggcgg cggcggtagc 420

gacatccaga tgaccacgtc accatcaagc cttagcgctt ccgtgggcga cagagtgaca 480

ttcacttgtc gggcgtccca gggaatctcc tccgctctgg cttggtatca gcagaagcct 540

gggaagcctc cgaagctgtt gatctacgac gcgagcagcc tggaatcagg ggtgccctcc 600

cggttttccg gggtccgggtc tggcaccgat ttcacctga ccatttcgtc cctccaaccc 660

gaggacttcg ccacttacta ctgccagcag ttcaacaact acccgctgac cttcggagga 720

ggcactaagg tcgagatcaa g 741

<210> 65

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 65

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

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

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 66

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 66

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 67

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 67

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Lys Tyr Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 68

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 69

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Pro Val Arg Ser Gly

					20						25						30						
Ser	His	Tyr	Trp	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu								
					35						40						45						
Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser								
					50						55						60						
Leu	Glu	Asn	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Ile	Asp	Thr	Ser	Asn	Asn	His	Phe								
					65						70						75						80
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Phe								
					85						90						95						

Cys Ala Arg Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 70

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp

100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 71

<211> 129

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr

100 105 110

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser

115 120 125

Ser

<210> 72

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 73

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 73

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Ala Asn Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Phe Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 74

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 75

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 75

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Ser Gly Arg

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr

20 25 30

Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 76

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 76

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Val Ser Ser Asn

20 25 30

Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Arg Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 77

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 77

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Ser Gly Ala

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 78

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 78

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

 35 40 45
 Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

 100 105 110

<210> 79

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

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

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

 100 105 110

<210> 80

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 80

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 81

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 81

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Gly Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser

20 25 30

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

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

<210> 82

<211

> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 82

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

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

<210> 83

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 83

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Met

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 84

<211

> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys

1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn

20 25 30

Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Thr Val

35 40 45
 Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
 65 70 75 80
 Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
 85 90 95
 Ser Asn Gln Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 85

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 85

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

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

<210> 86

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 86

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Asn Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 87

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 87

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

<210> 88

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 88

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

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

100 105

<210> 89

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro

85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 90

<211>

> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 90

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

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

<210> 91

<211> 491

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 91

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

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

85 90 95
 Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
 100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly
 115 120 125

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
 145 150 155 160

Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
 165 170 175

Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
 180 185 190

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp
 195 200 205

Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys
 210 215 220

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
 225 230 235 240

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp
 245 250 255

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Thr Thr Thr Pro
 260 265 270

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 275 280 285

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 290 295 300

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
 305 310 315 320

Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
 325 330 335

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
340 345 350

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
355 360 365

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
370 375 380

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
385 390 395 400

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
405 410 415

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
420 425 430

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
435 440 445

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
450 455 460

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
465 470 475 480

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 92

<211> 489

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 92

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

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val
115 120 125

Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln
145 150 155 160

Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser
165 170 175

Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu
180 185 190

Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr
195 200 205

Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
210 215 220

Gly Ser Asp Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
225 230 235 240

Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly Thr His Trp Ser Phe Thr
245 250 255

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro
260 265 270

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

275 280 285
 Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
 290 295 300

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

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

 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 435 440 445
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 450 455 460
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 465 470 475 480
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485

 <210> 93
 <211> 491
 <212> PRT
 <213>
 > Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly

35 40 45

Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Lys Tyr Val Thr Ala Ala Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu

115 120 125

Ser Gly Tyr Tyr Pro Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu

195 200 205

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser

210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
225 230 235 240

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro
245 250 255

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro
260 265 270

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
275 280 285

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
290 295 300

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
305 310 315 320

Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
325 330 335

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
340 345 350

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
355 360 365

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
370 375 380

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
385 390 395 400

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
405 410 415

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
420 425 430

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
435 440 445

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
450 455 460

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

465						470						475						480
Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg								
					485						490							
<210> 94																		
<211> 483																		
<212> PRT																		
<213> Artificial Sequence																		
<220><221> source																		
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"																		
<400> 94																		
Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu			
1	5				10				15									
His	Ala	Ala	Arg	Pro	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu			
20				25				30										
Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe			
35				40				45										
Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Trp	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys			
50		55				60												
Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Asn	Ile	Asn	Glu	Asp	Gly	Ser	Ala	Lys	Phe			
65	70				75				80									
Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala			
85				90				95										
Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr			
100				105				110										
Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Asp	Leu	Arg	Ser	Gly	Arg	Tyr	Trp	Gly			
115				120				125										
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly			
130				135				140										
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro			
145	150				155				160									
Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg			

165	170	175
Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys		
180	185	190
Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala		
195	200	205
Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
210	215	220
Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr		
225	230	235
		240
Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys		
245	250	255
Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala		
260	265	270
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg		
275	280	285
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys		
290	295	300
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu		
305	310	315
		320
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu		
325	330	335
Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln		
340	345	350
Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly		
355	360	365
Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr		
370	375	380
Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg		
385	390	395
		400
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met		
405	410	415

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
420 425 430

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
435 440 445

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
450 455 460

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
465 470 475 480

Pro Pro Arg

<210> 95

<211> 489

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223

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

<400> 95

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

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu
20 25 30

Val Arg Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly
35 40 45

Pro Val Arg Ser Gly Ser His Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
65 70 75 80

Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Asn Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr
85 90 95

Ser Asn Asn His Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
100 105 110

Thr Ala Leu Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn

115 120 125

Phe Pro Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Asp

145 150 155 160

Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly Asp

165 170 175

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

180 185 190

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

245 250 255

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro

260 265 270

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

275 280 285

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

290 295 300

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

370 375 380
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
420 425 430
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr

435 440 445
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 96

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 96

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

50 55 60
 Gly Leu Glu Trp Val Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr
 65 70 75 80
 Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys
 85 90 95
 Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg
 115 120 125

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

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

 Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Thr Thr
 260 265 270
 Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
 275 280 285
 Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
 290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
340 345 350

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
355 360 365

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
370 375 380

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln
385 390 395 400

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
405 410 415

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
420 425 430

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
435 440 445

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
450 455 460

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
465 470 475 480

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 97

<211> 499

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 97

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

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr
115 120 125

Met Glu Asp Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
130 135 140

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser
165 170 175

Glu Ser Pro Gly Lys Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly
180 185 190

Ser Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser
195 200 205

Ala Pro Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val
210 215 220

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser
225 230 235 240

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys

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

Pro Pro Arg

<210> 98

<211> 483

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223

> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Thr Phe Ser Ser Tyr Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala

85 90 95

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

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu Trp

115 120 125

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser

145 150 155 160

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

165 170 175

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys

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

245 250 255
Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
260 265 270
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
275 280 285
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
290 295 300
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu

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

370 375 380
Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
385 390 395 400
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
405 410 415
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu

420 425 430
Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

435 440 445
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu

450 455 460
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu

465 470 475 480
Pro Pro Arg

<210> 99

<211> 490

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 99

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Glu Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Ala Asn

35 40 45

Thr Phe Ser Asp His Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

50 55 60

Arg Phe Glu Trp Met Gly Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His

65 70 75 80

Tyr Ser Gln Lys Phe Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser

85 90 95

Ala Asn Thr Val Tyr Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp

115 120 125
 Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 145 150 155 160
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 165 170 175
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp
 180 185 190

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

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

 Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
 325 330 335
 Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
 340 345 350
 Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
 355 360 365

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
370 375 380

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
385 390 395 400

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
405 410 415

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
420 425 430

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
435 440 445

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
450 455 460

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
465 470 475 480

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 100

<211> 492

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 100

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

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60
 Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala
 115 120 125

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

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

 Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr
 260 265 270
 Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
 275 280 285
 Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 290 295 300

His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
305 310 315 320

Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
325 330 335

Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
340 345 350

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
355 360 365

Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
370 375 380

Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
385 390 395 400

Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
405 410 415

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
420 425 430

Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
435 440 445

Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
450 455 460

Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
465 470 475 480

Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 101

<211> 490

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Arg Ser Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Thr Phe Asn Ser Tyr Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr

65 70 75 80

Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser

85 90 95

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

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp

115 120 125

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn

180 185 190

Leu Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

195 200 205

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu

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

<210> 102

<211> 499

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Asn Val Ser Ser Asn Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys

85 90 95

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Arg Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala

100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr

115 120 125

Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

130 135 140

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro

165 170 175

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg

180	185	190	
Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro			
195	200	205	
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser			
210	215	220	
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
225	230	235	240
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys			
245	250	255	
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys			
260	265	270	
Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala			
275	280	285	
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg			
290	295	300	
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys			
305	310	315	320
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu			
325	330	335	
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu			
340	345	350	
Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln			
355	360	365	
Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly			
370	375	380	
Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr			
385	390	395	400
Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg			
405	410	415	
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met			
420	425	430	

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
435 440 445

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
450 455 460

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
465 470 475 480

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
485 490 495

Pro Pro Arg

<210> 103

<211> 491

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223

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

<400> 103

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Lys Ser Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Pro Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly

65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser

85 90 95

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

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met

115 120 125

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val

165 170 175

Gly Asp Arg Val Thr Phe Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser

180 185 190

Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu

195 200 205

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

210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

225 230 235 240

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro

245 250 255

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro

260 265 270

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

275 280 285

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His

290 295 300

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365
Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser

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

435 440 445
Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
450 455 460
His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
465 470 475 480
Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 104

<211> 1473

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223

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

<400> 104

atggccctcc ctgtcaccgc cctgtgtgctt ccgtggctc ttctgtcca cgccgtcgg	60
cccgaagtgc aactccaaca gtcaggcgca gaagtcaaga agcccggtac gtcagtga	120
gtgtcctgca aagcctccgg cggaaccttc agtcctacg caatcagctg ggtgcggcag	180
gcgcccggac agggactgga gtggatgggc ggtatcattc cgatctttgg caccgccaat	240
tacgcccaga agttccaggg acgcgtcaca atcaccgccg acgaatcgac ttccaccgcc	300
tacatggagc tgtcgtcctt gaggagcgaa gataccgccg tgtactactg cgctcgggat	360

ctggagatgg ccactatcat ggggggttac tggggccagg ggaccctggt cactgtgtcc 420
tcgggaggag ggggatcagg cggcggcggt tccgggggag gaggaagcca gtccgcgctg 480
actcagccag cttccgtgtc tggttcgccg ggacagtcca tcaactattag ctgtaccggc 540
accagcagcg acgtgggcgg ctacaactat gtgtcatggt accagcagca cccggggaag 600
gcgcctaagc tgatgatcta cgacgtgtcc aaccgccta gcggagtgtc caacagattc 660
tccggttcga agtcaggga cactgcctcc ctcacgatta ggggctgca agccaggat 720
gaagccgact actactgtc ctcctatacc tctcctcga cctggacgt ggtgttcgga 780

ggaggcacca agtcaccgt ccttaccact accccagcac cgaggccacc caccgccgt 840
cctaccatcg cctcccagcc tctgtccctg cgtccggagg catgtagacc cgcagctggt 900
ggggccgtgc ataccgggg tcttgacttc gcctgcgata tctacatttg ggcccctctg 960
gctggtactt gcggggtcct gctgctttca ctcgtgatca ctccttactg taagcgcgt 1020
cggaagaagc tgctgtacat ctttaagcaa cccttcatga ggctgtgca gactactcaa 1080
gaggaggacg gctgttcatg ccggttcca gaggaggagg aaggcggctg cgaactgcgc 1140
gtgaaattca gccgcagcgc agatgtcca gcctacaagc aggggcagaa ccagctctac 1200

aacgaactca atcttggtcg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1260
gaccagaaa tgggcgggaa gccgcgcaga aagaatcccc aagagggcct gtacaacgag 1320
ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1380
agaggcaaag gccacgacgg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1440
gacgctcttc acatgcaggc cctgccgcct cgg 1473

<210> 105

<211> 1467

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 105

atggccctcc ctgtcacgc cctgtgtcct ccgtggctc ttctgtcca ccccgtcgg 60
cccgaagtgc aattggtgga aagcggagga ggagtgtgc aacctggagg aagcctgaga 120
ctgtcatgtg ccgcctcggg attcactttc gatgactacg caatgcactg ggtccgccag 180
gcccccgaa agggctctgga atgggtgtcc ctcactcctg gcgatggggg ttccacttac 240
tatgcggatt ctgtgaaggg ccgcttcaca atctccggg acaattcaa gaacactctg 300

taccttcaaa tgaactccct gaggggtggag gacaccgctg tgtactactg cgcgagagtg 360
 tttgactcgt actatatgga cgtctgggga aagggcacca ccgtgaccgt gtccagcgg 420

ggcgggtggat cggggggcgg cggctccggg agcggaggtt ccgagattgt gctgactcag 480
 tcgccgttgt cactgcctgt cacccccggg cagccggcct ccatctcatg ccggtccagc 540
 cagtccctgg tctacaccga tgggaacact tacctcaact ggttccagca gcgccagga 600
 cagtccccgc ggaggtgat ctacaaagtg tcaaaccggg actccggcgt ccccgatcgg 660
 ttctcgggaa gcggcagcga caccgacttc acgtgaaga tttcccgcgt ggaagccgag 720
 gacgtgggca tctactactg tatgcagggc acccactggg cgtttacctt cggacaagga 780
 actaggctcg agatcaagac cactacccca gcaccgaggc caccacccc ggctcctacc 840

atcgctccc agcctctgtc cctgcgtccg gaggcattga gaccgcagc tgggtggggcc 900
 gtgcataccc ggggtcttga cttgcctgc gatattaca tttgggcccc tctggctgg 960
 acttgccggg tctgtctgt ttcactctg atcactctt actgtaagcg cggtcggaag 1020
 aagctgctgt acatcttta gcaacccttc atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag 1080
 gacggctgtt catgccggtt ccagaggag gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa 1140
 ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa 1200
 ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac gtgctggaca agcggagagg acgggaccca 1260

gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat cccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa 1320
 aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag attggtatga aaggggaacg cagaagaggc 1380
 aaaggccacg acggactgta ccagggactc agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgt 1440
 cttcacatgc aggccctgcc gcctcgg 1467

<210> 106
 <211> 1473
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 106

atggccctcc ctgtaccgc cctgtgtctt ccgtggctc ttctgtcca cgcgctcgg 60

ccccaagtgc agcttcaaga aagcgggtcca ggactcgtca agccatcaga aactctttcc 120
 ctcaattgta ccgtgtcggg aggcagcatc tctcagact cctactactg gggttggatt 180

agacagcccc cgggaaaggg gttggagtgg atcggttcca tctactactc cgggtcgacc 240
 tactacaacc ctccctgaa atctcgggtg tccatctccg tcgacacctc caagaaccag 300
 ttcagcctga agctgaaata tgtgaccgcg gccgatactg ccgtgtacta ttgcgccacc 360
 ccgggaacct actacgactt cctctcgggg tactaccgtg tttactgggg acaggggact 420
 ctctgaccg tgtcctcggg cggcggaggt tcaggcgggt gcggatcggg gggaggaggg 480

 tcagacattg tgatgacca gagcccgctc agcctgagcg cctccgtggg cgatagggtc 540
 acgattactt gccgggcgtc ccagggaatc tcaagctacc tggcctggta ccaacagaag 600
 cccggaagg caccgaagt gctgatctat gccgctagca ctctgcagtc cggggtgcct 660
 tcccgttct cgggtcggg ctccggcacc gacttcacc tgaccatttc ctactgcaa 720
 cccgaggact tcgccactta ctactgccag cagctgaact cctaccctta cacattcgga 780
 cagggaacca agctggaat caagaccact accccagcac cgaggccacc caccgccgt 840
 cctaccatcg cctcccagcc tctgtccctg cgtccggagg catgtagacc cgcagctggt 900

 ggggccgtgc ataccgggg tcttgacttc gcctgcgata tctacatttg ggcccctctg 960
 gctggtactt gccgggtcct gctgttttca ctctgatca ctctttactg taagcgcggt 1020
 cggaagaagc tgctgtacat ctttaagcaa ccttcatga ggctgtgca gactactcaa 1080
 gaggaggacg gctgttcatg ccggttcca gaggaggagg aaggcggctg cgaactgcgc 1140
 gtgaaattca gccgcagcg agatgtcca gcctacaagc aggggcagaa ccagctctac 1200
 aacgaactca atcttggtcg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1260
 gaccagaaa tgggcgggaa gccgcgcaga aagaatcccc aagaggcct gtacaacgag 1320

 ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1380
 agaggcaaag gccacgacg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1440
 gacgtcttc acatgcaggc cctgccgct cgg 1473

 <210> 107
 <211> 1449
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 107
 atggccctcc ctgtcacgc cctgtgtctt ccgtggctc ttctgtcca cgccgtcgg 60

ccccaagtgc aactcgtgga atctgggtgga ggactcgtgc aacccgagg atcattgcga 120

 ctctcgtgtg cggcacccgg ctttaccttt tcatactact ggatgtcctg ggtcagacag 180
 gcccccgga agggactgga atgggtcgcg aacatcaacg aggacggctc ggccaagtgc 240
 tacgtggact ccgtgaaggc ccgcttcacg atctcacggg ataacgcaa gaattccctg 300
 tatctgcaaa tgaacagcct gagggccgag gacactcggg tgtacttctg cgcacgcgac 360
 ctgaggtccg ggagatactg gggacagggc accctcgtga ccgtgtcag cggaggaggg 420
 gggtcgggcg gcggcgggtc cgggtggcgc ggtagcgaat ttgtgttgac ccagtccct 480
 ggaaccctga gcctgtcacc tggaggacgc gccaccctgt cctgccgggc cagccagagc 540

 atctcagggt ccttcctggc ttggtaccag cagaagccgg gacaggctcc gagacttctg 600
 atctacggcg cctcctcgcg ggcgaccgga atcccggatc ggttctccgg ctccggaagc 660
 ggaactgact tcactcttac catttccgcg ctggagccgg aagatttcgc cgtgtactac 720
 tgccagcagt acgggtcacc cctccaacc ttggcctgg gaactaagct ggaaatcaaa 780
 accactacc cagcaccgag gccaccacc ccggctccta ccatcgctc ccagcctctg 840
 tcctcgcgc cggaggcatg tagaccgca gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt 900
 gacttcgct gcgatatcta catttgggc cctctggctg gtacttgcgg ggtcctgctg 960

 ctttcaactc tgatcactct ttactgtaag cgcggtcgga agaagctgct gtacatcttt 1020
 aagcaacct tcattgagcc tgtgcagact actcaagagg aggacggctg ttcattgccg 1080
 ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat 1140
 gctccagcct acaagcagg gcagaaccag ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga 1200
 gaggagtacg acgtgttgga caagcggaga ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg 1260
 cgcagaaaga atcccaaga gggcctgtac aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa 1320
 gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg 1380

 taccagggac tcagcaccgc caccaaggac acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg 1440
 ccgcctcgg 1449

 <210> 108
 <211> 1467
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"

<400> 108

atggccctcc ctgtaccgc cctgtgtctt ccgtggctc ttctgtcca ccccgtcgg	60
cccgaagtgc aactccaaca atccggcca ggactcgta gacctccga aactctctcg	120
cttacatgca ctgtgtccgg cggccctgtg cggccggct ctattactg gaactggatt	180
cgccagcccc cgggacgagg actggagtgg atcggctaca tctattactc ggggtcgact	240
aactacaacc cgagcctgga aaatagagt accatctcaa tcgacacgtc caacaaccac	300
ttctcgtga agttgtctc cgtgactgcc gccgatactg ccctgtactt ctgtgtcgc	360
ggaaccgcca cttcgactg gaatttcct ttgactcat ggggccaggg gaccttgtg	420
accgtgtcca gcggaggagg aggctccgtt ggtggcggga gcggtagcgg cggaagcgac	480
atccagatga ccagtcacc gtcctcgtg tccgcatcca ttggggatcg ggtcactatt	540
acttgccggg cgtcccagtc catctcgtcc tacctgaact ggtatcagca gaagccaggg	600
aaagccccc agctgtgat ctacgcggc agcagcctgc agtcaggagt gccttcaagg	660
tttagcggca gcggatcggg aaccgacttc accctgacca ttctctcct ccaaccgag	720
gatttcgcca cctactactg ccagcagtcc tactccaccc cgtggacctt cggacaggga	780
accaagctgg agatcaagac cactaccca gcaccaggc caccacccc ggctcctacc	840
atgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg gagcatgta gaccgcagc tgggtggggc	900
gtgcataccc ggggtcttga cttgcctgc gatattaca ttggggccc tctggctggt	960
acttgccggg tctgtgtgt ttcactcgtg atcactctt actgtaagcg cggtcggaag	1020
aagctgtgt acatcttta gcaaccctt atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag	1080
gacggctgtt catgccgtt cccagaggag gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa	1140
ttcagccga gcgcagatgc tccagcctac aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa	1200
ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac gtgctggaca agcggagagg acgggaccca	1260
gaaatggcg ggaagccgc cagaaagaat cccaagagg gcctgtaca cgagctcaa	1320
aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag attggtatga aaggggaacg cagaagaggc	1380
aaaggccacg acggactgta ccagggactc agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgt	1440
cttcacatgc agccctgcc gcctcgg	1467

<210> 109

<211> 1479

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 109

atggccctcc ctgtcacgc cctgtctgtt ccgtggctc tctgtctcca cgccgtcgg	60
ccccaagtgc aacttcaaga atcaggcgca ggacttctca agccatccga aacactctcc	120
ctcacttgcg cgggtgtacgg gggaagcttc tcgggatact actggtcctg gattaggcag	180
cctcccggca aaggcctgga atgggtcggg gagatcaacc actccggttc aaccaactac	240
aaccctgcgc tgaagtcccg cgtgaccatt tccgtggaca cctctaagaa tcagttcagc	300
ctgaagctct cgtccgtgac cgccggcgac accgccgtct actactgcgc tcggggatca	360
ggactggtgg tgiacgcat ccgctgtggc tcgggctggt tcgattactg gggccaggga	420
accctggtca ctgtgtcgtc cgccggagga ggttcggggg gcggagacag cgggtggagg	480
ggtagcgaca tccagatgac ccagtcctcg tctctgctgt ccgcctccgt gggagataga	540
gtgaccatca cctgtcgggc atcccagagc atttcagct acctgaactg gtatcagcag	600
aagcccggaa aggccctaa gctgttgatg tacgcccca gcagcttgca gtcgggcgtg	660
ccgagccggt ttcccggttc cggctccggg actgacttca cctgactat ctcacccctg	720
caacccgagg acttcgccac ttattactgc cagcagtcct actcaacccc tccttgagc	780
ttcggacagg gcaccaaggt cgatatcaag accactacce cagcacgag gccacccacc	840
ccggtctcta ccatcgctc ccagcctctg tccttgcgtc cggaggcatg tagaccgca	900
gctggtgggg ccgtgcatac cgggggtctt gacttcgct gcgatatcta catttgggcc	960
cctctggctg gtacttgcgg ggtcctgctg ctttactcg tgatcactct ttactgtaag	1020
cgcggtcgga agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcattgaggcc tgtgcagact	1080
actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa	1140
ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag	1200
ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga	1260
ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg gcgagaaaga atccccaaga gggcctgtac	1320
aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa	1380
cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac	1440
acctatgacg ctcttccat gcaggccctg ccgcctcgg	1479

<210> 110

<211> 1497

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 110

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgtcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgc aattggtgga atctggagga ggacttgtga aacctggtgg aagcctgaga 120
ctttctgtg cgccctcggg attcactttc tctctact ccatgaactg ggtcagacag 180
gccccggga agggactgga atgggtgtca tccatctcct cctcatcgtc gtacatctac 240
tacgccgata gcgtgaaggg gcggttcacc atttcccggg acaacgctaa gaacagcctc 300

tatctgcaaa tgaattccct ccgcgccgag gacactgccg tgtactactg cgcgagggac 360
ccctcatcaa gcgcagctc ctacatggag gactcgtatt actacggaat ggacgtctgg 420
ggccagggaa ccaactgtgac ggtgtcctcc ggtggagggg gtcgccgggg cgggggatct 480
ggcggaggag gtccaactt catgtgacc cagccgcaact ccgtgtccga aagccccgga 540
aagaccgtga caatttctg caccgggtcc tccggtcga tcgcatcaaa ctacgtgcag 600
tggtaccagc agcggccggg cagcggcccc accactgtca tctacgagga taaccagcgg 660
ccgtcgggtg tcccagaccg gttttccggt tcgatcgata gcagcagcaa cagcgctcc 720

ctgaccattt ccggcctcaa gaccgaggat gaggtgact actactgcca gtcgtatgac 780
tcctcgaacc aagtgtgtt cgggtggcgc accaagctga ctgtgctgac cactacccca 840
gcaccgaggc caccacccc ggctcctacc atgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg 900
gaggcatgta gaccgcagc tgggtggggc gtgcataccc ggggtcttga cttcgctgc 960
gatatctaca tttgggcccc tctggctggt acttgcgggg tctgctgct ttcactcgtg 1020
atcactcttt actgtaagcg cggtcggaag aagctgctgt acatctttaa gcaacccttc 1080
atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag gacggctgtt catgccggtt cccagaggag 1140

gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac 1200
aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac 1260
gtgctggaca agcggagagg acgggacca gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat 1320
ccccaagagg gcctgtacaa cgagctcaa aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag 1380
attggtatga aagggaacg cagaagaggc aaaggccacg acggactgta ccagggactc 1440
agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct cttcatatgc aggcctgcc gcctcgg 1497

<210> 111

<211> 1449

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 111

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgtcca cgccgctcgg	60
ccccaagtga acctgagaga aagcggcgga ggacttgtgc aacctggagg aagcctgaga	120
ctgtcatgtg ccgcgtccgg cttcaccttc tcgtcctacg agatgaactg ggtccgccag	180
gcaccgggca aaggactgga atgggtgtcc tacatttctt cgtccgggtc caccatctat	240
tacgccgact ccgtgaaggg acggttcacc atctcccgga acaacgcaa gaactccctc	300
tacctccaaa tgaactcact gagggcagag gacactgcgg tctactactg cgcccgcgaa	360
gctttgggta gtccttgga gtggggccag ggaaccactg tgaccgtgtc ctgggtgga	420
gggggtccg gtggcggggt ttcaggggtt ggcggaagcg atatccagat gactcagtea	480
ccaagctccc tgagcgctc agtgggagat cgggtcaca tcactgtcca ggcgtcccag	540
gacatttcta actacctcaa ttggtaccag cagaagccgg ggaaggcccc caagcttctg	600
atctacgatg cctccaacct ggaaaccggc gtgccctccc gttctcggg atcgggcagc	660
ggcactgact tcacctttac catctcgtcc ctgcaacctg aggacatcgc cacctattac	720
tgccagcagt acgataacct cccgtgact ttcggaggcg gaactaagct ggagattaag	780
accactacc cagcaccgag gccaccacc ccggtccta ccatcgctc ccagcctctg	840
tcctgcgtc cggaggcatg tagaccgca gctggtgggg ccgtgcatac cgggggtctt	900
gacttcgctt gcgatatcta catttgggcc cctctggctg gtacttgcgg ggtcctgctg	960
ctttcactcg tgatcactt ttactgtaag cgcggtcgga agaagctgct gtacatcttt	1020
aagcaacctt tcatgaggcc tgtgcagact actcaagagg aggacggctg ttcattgccg	1080
ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa ctgcgctga aattcagccg cagcgcagat	1140
gtccagcctt acaagcaggg gcagaaccag ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga	1200
gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg	1260
cgcagaaaga atccccaaga gggcctgtac aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa	1320
gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg	1380
taccagggac tcagcacgcg caccaaggac acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg	1440
ccgcctcgg	1449

<210> 112
 <211> 1470
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 112

atggccctcc ctgtcacgc cctgtgtctt ccgtggctc ttctgtcca cgccgtcgg	60
ccccaagtgc aactcgtcca gtccggtgca gaagtcaagg aaccggagc ctccgtgaaa	120
gtgtcctgca aagctctgc caacactttc tcggaccacg tgatgcactg ggtgcgccag	180
gcgccgggcc agcgcttcca atggatggga tacattcatg ccgccaatgg cgtacccac	240
tactccaaa agttccagga tagagtcacc atcaccggg acaccagcg caacaccgtg	300
tatatggatc tgtccagct gaggtccgag gataccgccg tgtactactg cggcggggc	360
ggatacaact cagacgcgtt cgacatttgg ggacagggtg ctatggtcac cgtgtcatcc	420
gggggcggtg gcagcggggg cggaggctct ggcgaggcg gatcagggg aggagggtcc	480
gacatcgtga tgaccagtc cccgtcatcg gtgtccgct ccgtgggaga cagagtgacc	540
atcacgtgtc gcgccagcca ggacatctcc tcgtggttgg catggtacca gcagaagcct	600
ggaaaggccc cgaagctgct catctacgc gcctctccc ttcaatcggg agtgcctcg	660
cggttcaacg gaagcggag cgggacagat ttacctga ctattagtc gctgcagccc	720
gaggacttcg ctacttacta ctgccaacag agctactcca cccactgac tttcggcggg	780
ggtaccaagg tcgagatcaa gaccactacc ccagaccga ggccaccac cccggtcct	840
accatgcct cccagcctct gtcctgcgt ccggaggcat gtagaccgc agctggtggg	900
gccgtgcata cccgggtct tgacttcgcc tgcgatatct acatttggc ccctctggt	960
ggtacttgcg gggctctgct gctttcactc gtgatcactc ttactgtaa gcgcggtcgg	1020
aagaagctgc tglacatctt taagcaacc ttcatgaggc ctgtgcagac tactcaagag	1080
gaggacggct gttcatgcc gttcccagag gaggaggaag gcggctgcga actgcgcgtg	1140
aaattcagcc gcagcgcaga tgctccagcc tacaagcagg ggacagaacca gctctacaac	1200
gaactcaatc ttggtcggag agaggagtac gacgtgctgg acaagcggag aggacgggac	1260
ccagaaatgg gcgggaagcc gcgcagaaaag aatccccaag agggcctgta caacgagctc	1320
caaaaggata agatggcaga agcctatagc gagattggta tgaaaggga acgcagaaga	1380

ggcaaaggcc acgacggact gtaccaggga ctcagcaccg ccaccaagga cacctatgac 1440
gctcttcaca tgcaggccct gccgcctcgg 1470

<210> 113
<211> 1476
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 113

atggccctcc ctgtaccgc cctgtgtctt ccgtggctc ttctgtcca cgcgcctcgg 60

ccccaagtgc aacttgttca atccggtgga ggtcttgtgc agcccgagg atcactcaga 120
ctgtcgtgcg ccgcctctgg gttcactttc tcctcatact cgatgaactg ggtgcgccag 180
gcgccgggaa agggcctgga atgggtgtca tacatctcct cctcactcct caccatctac 240
tacgccgatt ccgtgaaggg ccgcttact atttccggg acaacgcga aaactcgctc 300
tatctgcaa tgaactccct gcgcgccgag gacaccgcc tgtactactg cccccggac 360
ctgagcgtgc gggtattga tgcgttcgac atctggggac agggcaccat ggtcacagt 420
tcagcggag gcgcggcag cgggtggagga ggatcagggg gaggaggttc ggggggcggt 480

ggctccgata tcgtgtgac ccagagcccg tcgagcctct ccgcctccgt cggcgacaga 540
gtgacctca cgtgtcaggc atcccaggac attagcaact acctgaattg gtaccagcag 600
aagcctgga aggcaccaa gttgtgatc tacgacgct ccaacctgga aaccggagt 660
ccatccaggt tctcgggcag cggctcggga accgacttca cttttactat ctctccctg 720
caacccgagg atttcgcgac ctactactgc cagcaggcct acagacccc ttacacttc 780
ggcccgga ctaaggtcga aatcaagacc actacccag caccaggcc accaccccg 840
gtctctacca tcgcctcca gcctctgtcc ctgcgtccgg aggcattag accgcagct 900

ggtggggcgg tgcatacccg gggctttgac ttgcctgcg atatctacat ttgggccct 960
ctggctggta cttcgggggt cctgtgtctt tactcgtga tactcttta ctgtaagcg 1020
ggtcggaaga agctgtgta catctttaag caacccttca tgaggcctgt gcagactact 1080
caagaggagg acggctgttc atgccggttc ccagaggagg aggaaggcgg ctgcgaactg 1140
cgcgtgaaat tcagccgag cgcagatgct ccagcctaca agcaggggca gaaccagctc 1200
tacaacgaac tcaatcttg tcggagagag gactacgacg tgctggacaa gcggagagga 1260

cgggacccag aaatgggcgg gaagccgcgc agaaagaatc cccaagaggg cctgtacaac 1320

 gagctccaaa aggataagat ggcagaagcc tatagcgaga ttggtatgaa aggggaacgc 1380
 agaagaggca aaggccacga cggactgtac cagggactca gcaccgccac caaggacacc 1440
 tatgacgctc ttcacatgca ggccctgccg cctcgg 1476
 <210> 114
 <211> 1470
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 114
 atggccctcc ctgtaccgc cctgtctgtt ccgttgctc ttctgtcca cgcctcgg 60
 cccgaagtgc aattggtgca atcaggagga ggagtgtgca gatctggaag aagcctgaga 120

 ctgtcatgcg cggcttcggg ctttaccttc aactcctacg gcctccactg ggtgcgccag 180
 gccccggaa aaggcctcga atgggtcgca ctgattgagt acgacgggtc caacaagtac 240
 tacggagata gctgaaggg ccgcttcacc atctacggg acaagtcaa gtccaccctg 300
 tatctgcaa tggacaacct gagggccgag gatactgccg tgtactactg cccccgaa 360
 ggaaacgaag atctggcctt cgatatttgg ggccagggtc ctcttgtgac cgtgtcgagc 420
 ggaggcggag gctccggtgg aggaggatcg ggggtgtg gttccggcgg cggggggagc 480
 gaaatcgtgc tgaccagtc gccttcctcc ctctccgctt ccgtggggga cgggtcact 540

 attacgtgtc agcgtccca attcatcaag aagaatctga actggtacca gcacaagccg 600
 ggaaaggccc ccaaactgct catctacgac gccagctgc tgcagactgg cgtgccttc 660
 cggttttccg ggaaccggtc gggaaccacc ttctattca ccatcagcag cctccagccg 720
 gaggacgtgg cgacctacta ctgccagcag catgacaacc ttccactgac ttccggcggg 780
 ggcaccaagg tcgagattaa gaccactacc ccagcaccga ggccaccac cccggtcct 840
 accatcgct cccagcctt gtccttgcgt ccggaggcat gtagaccgc agctggtggg 900
 gccgtgcata cccgggtct tgacttcgcc tgcgatatct acatttgggc cctctggt 960

 ggtacttgcg ggttcctgct gctttcactc gtgatcactc ttactgtaa gcgcggtcgg 1020
 aagaagctgc tgtacatctt taagcaacc ttcatgaggc ctgtgcagac tactcaagag 1080
 gaggacggct gtcatgccg gttccagag gaggaggaag gcggtgcga actgcgcgtg 1140

aaattcagcc gcagcgaga tgctccagcc tacaagcagg ggcagaacca gctctacaac 1200
 gaactcaatc ttggtcggag agaggagtac gacgtgctgg acaagcggag aggacgggac 1260
 ccagaaatgg gcgggaagcc gcgcagaaag aatccccaag agggcctgta caacgagctc 1320
 caaaaggata agatggcaga agcctatagc gagattggta tgaaagggga acgcagaaga 1380

ggcaaaggcc acgacggact gtaccaggga ctacgacccg ccaccaagga cacctatgac 1440
 gctcttcaca tgcaggccct gccgcctcgg 1470

<210> 115
 <211> 1497
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 115

atggccctcc ctgtcacgc cctgtgtctt ccgtggctc ttctgtcca ccccgtcgg 60
 cccaagtgc aactcgtgga atcaggcgga ggactcgtgc aaccggagg ttcccttaga 120
 ctgtcatgtg ccgttccgg gtccaatgtg tccagcaact acatgacctg ggtcagacag 180

gcgccgggaa agggacttga atgggtgtcc gtgatctact ccgtgggagc aacatactac 240
 ggagactccg tgaaaggccg ctttaccgtg tcccgcgata actcgaagaa caccgtgtac 300
 ttgcagatga acaggctgac tgccgaggac accgccgtgt attattgctc ccgggacagg 360
 ctgtactgtg gaaacaactg ctacctgtac tactactacg ggatggacgt gtggggacag 420
 ggcaactctg tcaactgtgc atccgggggg ggcggtagcg gtggcggagg gtccgcgga 480
 ggaggctcag ggggaggcgg aagcgatatc caggtcaccc agtctccctc ctgcgtgtcc 540
 gcctccgtgg gcgaccgcgt caccattact tgccgggcgt cgcagtcgat cagctcctac 600

ctgaactggt accagcagaa gcctggaaaag gccccgaagc tgctgatcta gcggcctcg 660
 tccctgcaaa gcggcgtccc gtcgcggttc agcgggttccg gttcgggaac cgacttcacc 720
 ctgactatatt cctccctgca acccgaggat ttgccactt actactgcca gcagtcctac 780
 tccacccac ctctgacctt cggccaagga accaaggctc aaatcaagac cactaccca 840
 gcaccgaggc caccacccc ggctcctacc atgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg 900
 gaggcagtga gaccgcagc tgggtggggcc gtgcataccc ggggtcttga cttcgcctgc 960
 gatattctaca ttggggcccc tctggctggt acttgcgggg tcctgctgct ttcactcgtg 1020

atcactctttt actgtaagcg cggctcggaag aagctgctgt acatctttaa gcaacccttc 1080
atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag gacggctgtt catgccggtt cccagaggag 1140
gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac 1200
aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac 1260
gtgctggaca agcggagagg acgggaccca gaaatgggcg ggaagccgag cagaaagaat 1320
ccccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag 1380
attggtatga aagggaacg cagaagaggc aaaggccacg acggactgta ccagggactc 1440

agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct cttcacatgc aggcctgcc gcctcgg 1497

<210> 116
<211> 1473
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 116

atggccctcc ctgtaccgc cctgtctgtt ccgttggtc tttgtctcca ccccgtcgg 60
ccccaagtgc aactcgtcca gtccggtgca gaagtgaata agagcggagc ctcagtgaat 120
gtgtcctgca aggcctccgg ttacccttc actggatact acattcagtg ggtccgcca 180
gccccgggac aggggtctgga gtggatgggg tggattgacc ctaactcggg aaatacggga 240

tacgcgcaga agttccaggc ccgcgtgacc atgaccagga acacctgat cagcaccgcc 300
tacatggaac tgtcctccct gcggtcggag gatactgccg tgtactactg cgctccgat 360
tcctatgggt actactacgg aatggacgtc tggggacagg gcacctcgt gaccgtgtcc 420
tcgggaggcg gaggagcgg cgggggtgga tcgggaggag gcggctccgg cggcggcgg 480
agcgacatcc agatgaccca gtcaccatca agccttagcg cctccgtggg cgacagagt 540
acattcactt gtcgggcgtc ccagggaatc tctccgctc tggcttggtc tcagcagaag 600
cctgggaagc ctccgaagct gttgatctac gacgcgagca gcctggaatc aggggtgccc 660

tcccgtttt cgggtccgg ttttggcacc gatttcaccc tgaccatttc gtccctccaa 720
cccaggact tcgccactta ctactgccag cagtccaaca actaccgct gaccttcgga 780
ggaggcacta aggtcgagat caagaccact accccagcac cgaggccacc caccctggc 840
cctaccatcg cctcccagcc tctgtccctg cgtccggagg catgtagacc cgcagctggt 900
ggggccgtgc ataccgggg tcttgacttc gcctgcgata tctacatttg gcccctctg 960

gctgggtactt gcggggtcct gctgctttca ctctgtatca ctctttactg taagcgcggt 1020
cggaagaagc tgctgtacat ctttaagcaa cccttcatga ggctgtgca gactactcaa 1080

gaggaggacg gctgttcatg ccggttccca gaggaggagg aaggcggctg cgaactgcgc 1140
gtgaaattca gccgcagcgc agatgctcca gcctacaagc aggggcagaa ccagctctac 1200
aacgaactca atcttggtcg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1260
gacccagaaa tgggcgggaa gccgcgcaga aagaatcccc aagagggcct gtacaacgag 1320
ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1380
agaggcaaag gccacgacgg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1440
gacgctcttc acatgcaggc cctgccgcct cgg 1473

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 117

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5 10

<210> 118

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 118

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His

1 5 10

<210> 119

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 119
 Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly
 1 5 10

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 120
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser
 1 5 10

<210> 121

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 121
 Gly Gly Pro Val Arg Ser Gly Ser His Tyr Trp Asn
 1 5 10

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 122

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser

1 5 10

<210> 123

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 123

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn

1 5 10

<210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 124

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu Met Asn

1 5 10

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 125

Ala Asn Thr Phe Ser Asp His Val Met His

1 5 10

<210> 126
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 126
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5 10

<210> 127
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 127
 Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Gly Leu His
 1 5 10

<210> 128
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 128
 Gly Phe Asn Val Ser Ser Asn Tyr Met Thr
 1 5 10

<210> 129
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 129

Gly Tyr Pro Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile Gln

1 5 10

<210> 130

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 130

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

<210> 131

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 131

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

1 5 10 15

Gly

<210> 132

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

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

1 5 10 15

<210> 133

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 133

Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 134

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 134

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Asn

1 5 10 15

<210> 135

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 135

Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 136

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 136

Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 137

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 137

Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 138

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 138

Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His Tyr Ser Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 139

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 139

Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 140

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 140

Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 141

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 141

Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 142

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 142

Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 143

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 143

Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr

1 5 10

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 144
 Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val
 1 5
 <210> 145
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 145
 Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro Phe Tyr
 1 5 10 15
 <210> 146
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 146
 Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr
 1 5

<210> 147
 <211>
 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 147

Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 148

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 148

Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp Phe

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 149

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 149

Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 150

Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu

1 5

<210> 151

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 151

Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 152

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 152

Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 153

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 153

Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 154

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 154

Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 155

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 155

Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 156

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 156

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 157

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 157

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 158

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 158

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 159

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 159

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser Phe Leu Ala

1 5 10

<210> 160

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 160

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 161

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 161

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 162

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 162

Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln

1 5 10

<210> 163

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 163

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 164

<211> 11

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 164

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 165

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 165

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 166

Gln Ala Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn Leu Asn

1 5 10

<210> 167

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 167

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 168

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 168

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 169

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 169

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 170

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 170

Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser

1 5

<210> 171

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 171

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 172

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

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

<400> 172

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 173

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 173

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 174

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 174

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 175

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 175

Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 176

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 176

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 177

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 178

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 178

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 179

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 179

Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 180

<211> 7

<212> PRT

```

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 180

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1             5

<210> 181

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<
220><221> source

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

<400> 181

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1             5

<210> 182

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 182

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp Val Val
1             5             10

<210> 183

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221>

> source

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

```

```

        peptide"
<400> 183
Met Gln Gly Thr His Trp Ser Phe Thr
1             5
<210> 184
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 184
Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1             5
<210> 185
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223>
> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 185
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Thr
1             5
<210> 186
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 186
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1             5

```

<210> 187
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 187
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp Thr
 1 5 10

<210> 188
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 188
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Gln Val Val
 1 5 10

<210> 189
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 189
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr
 1 5

<210> 190
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 190
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 191

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 191
 Gln Gln Ala Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
 1 5

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 192
 Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu Thr
 1 5

<210> 193

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 193

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Leu Thr

1 5 10

<210> 194

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 194

Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 195

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 195

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 196

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 196

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 197

<211> 489

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 197

```

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

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

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

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
          195         200         205
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
          210         215         220
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu

```

225 230 235 240
 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
 245 250 255

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

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

 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 385 390 395 400
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 405 410 415
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 420 425 430
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 435 440 445

 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 450 455 460
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 465 470 475 480

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

<210> 198

<211> 1467

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<

400> 198

atggccctcc ctgtaccgc cctgtgtctt ccgttggtc ttctgtcca cgccgtcgg	60
cccgaagtgc aactcgtgga aagcgggtgga ggtcttgtgc aacctggagg ttccttgcgc	120
ctgtcatgtg cagcttccgg cttcactttc tcctcgtacg agatgaattg ggtgcggcag	180
gcgcctggaa aggggctgga atgggtgtcc tacatctcaa gctccggctc gaccatctac	240
tacgcggaca gcgtgaagg gcggttcacg atttcgaggg acaacgcaa gaactcgtc	300
tatctgcaaa tgaactcct gagagccgag gacaccgtg tgtattactg cccccggac	360
ccctactcct cctcatggca cgacgccttt gatatctggg gccagggaac catggtcacc	420
gtcagcagcg ggggcggagg ttccggggga gggggctccg gcggaggagg ctccgagatt	480
gtgttgactc agagccccggg taccctgtcg ctgagccccg gagagcgggc caccctttca	540
tgccgcgcca gccagtccgt gtcctcatcc tacctcgcgt ggtaccagca gaaacctggc	600
caggccccgc ggctgtgat ctacggcgcc tcctcgcgcg caaccggaat ccccgaccgg	660
ttctccgggt ctggcagcgg aaccgacttc actctacca ttctgagget ggagccggaa	720
gatttcgccg tgiactactg ccagcagtac ggctcctcgc cactgacttt cggcggagga	780
accaaggtcg atatcaagac cactaccca gcaccaggc caccacccc ggctcctacc	840
atcgctccc agcctctgtc cctgcgtccg gaggcattga gaccgcagc tgggtggggcc	900
gtgcataccc ggggtcttga cttcgctgc gatattaca tttgggcccc tctggctggt	960
acttgccggg tcctgtgtgt ttactcgtg atcactcttt actgtaagcg cggtcggaa	1020
aagctgctgt acatcttta gcaacccttc atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag	1080
gacggctgtt catgccggtt cccagaggag gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa	1140
ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa	1200
ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac gtgctggaca agcggagagg acgggaccca	1260

gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat cccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa 1320
aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag attggtatga aaggggaacg cagaagaggc 1380
aaaggccacg acggactgta ccagggactc agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct 1440
cttcacatgc aggccctgcc gcctcgg 1467

<210> 199

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 199

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu Met Asn

1 5 10

<210> 200

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 200

Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 201

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 201

Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 202

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 202

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 203

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 203

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 204

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 204

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 205

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 205

Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Gly Gly Pro Ser Ser Pro Lys Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr

35 40 45

Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg

50 55 60

Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly

65 70 75 80

Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu

85 90 95

Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile

100 105 110

Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu

115 120 125

Glu Thr Ser Tyr

130

<210> 206

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 206

Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys

1 5 10 15

Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly

20 25 30

Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met

35 40 45

Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln

50 55 60

Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala

65 70 75 80

Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu

85 90 95

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

100 105

<210> 207

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 207

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg

1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala

65					70					75					80	
Trp	Asp	Leu	Tyr	Tyr	His	Val	Phe	Arg	Arg	Ile	Ser	Lys				
				85				90								
<210> 208																
<211> 95																
<212> PRT																
<213> Artificial Sequence																
<220><221																
> source																
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"																
<400> 208																
Ile	Leu	Trp	His	Glu	Met	Trp	His	Glu	Gly	Leu	Ile	Glu	Ala	Ser	Arg	
1	5				10				15							
Leu	Tyr	Phe	Gly	Glu	Arg	Asn	Val	Lys	Gly	Met	Phe	Glu	Val	Leu	Glu	
20				25				30								
Pro	Leu	His	Ala	Met	Met	Glu	Arg	Gly	Pro	Gln	Thr	Leu	Lys	Glu	Thr	
35				40				45								
Ser	Phe	Asn	Gln	Ala	Tyr	Gly	Arg	Asp	Leu	Met	Glu	Ala	Gln	Glu	Trp	
50				55				60								
Cys	Arg	Lys	Tyr	Met	Lys	Ser	Gly	Asn	Val	Lys	Asp	Leu	Thr	Gln	Ala	
65	70				75				80							
Trp	Asp	Leu	Tyr	Tyr	His	Val	Phe	Arg	Arg	Ile	Ser	Lys	Thr	Ser		
85				90				95								
<210> 209																
<211> 95																
<212> PRT																
<213> Artificial Sequence																
<220><221> source																
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"																
<400> 209																
Ile	Leu	Trp	His	Glu	Met	Trp	His	Glu	Gly	Leu	Leu	Glu	Ala	Ser	Arg	

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

65 70 75 80
 Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
 85 90 95

<210> 210

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 210

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
 1 5 10 15
 Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

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

 85 90 95
 <210> 211

<211> 95
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <220><221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Any amino acid
 <220><221> MOD_RES
 <222> (78)..(78)
 <223> Any amino acid
 <400> 211
 Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Xaa Glu Ala Ser Arg
 1 5 10 15
 Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
 20 25 30
 Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
 35 40 45
 Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
 50 55 60
 Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Xaa Gln Ala
 65 70 75 80
 Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
 85 90 95
 <210> 212
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 212

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

<210> 213

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 213

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

<210> 214
 <211> 1132
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 214

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser

1 5 10 15

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly

20 25 30

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg

35 40 45

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro

50 55 60

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu

65 70 75 80

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val

85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro

100 105 110

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr

115 120 125

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val

130 135 140

Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val

145 150 155 160

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr

165 170 175

Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly

180	185	190	
Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg			
195	200	205	
Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg			
210	215	220	
Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg			
225	230	235	240
Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp			
245	250	255	
Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val			
260	265	270	
Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala			
275	280	285	
Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His			
290	295	300	
Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro			
305	310	315	320
Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly			
325	330	335	
Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro			
340	345	350	
Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser			
355	360	365	
Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln			
370	375	380	
Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His			
385	390	395	400
Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg			
405	410	415	
Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln			
420	425	430	

Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460

Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510

Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
515 520 525

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640

Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670

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

675 680 685
 Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
 690 695 700

 Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
 705 710 715 720
 Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
 725 730 735
 Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
 740 745 750
 Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
 755 760 765

 Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
 770 775 780
 Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
 785 790 795 800
 Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
 805 810 815
 Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
 820 825 830

 Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
 835 840 845
 Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
 850 855 860
 Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
 865 870 875 880
 Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
 885 890 895

 Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
 900 905 910
 Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
 915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1010 1015 1020

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
1025 1030 1035

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
1055 1060 1065

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
1070 1075 1080

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1085 1090 1095

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
1100 1105 1110

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp
1130

<210> 215

<211> 4027

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 215

```
caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc      60
cgcgcgctcc ccgtgcca gccgtgcgt cctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc      120
tgccgtggc cagttcgtg cggcgccctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg      180
gggaccggc ggctttccg cgcgtggtgg ccagtgctt ggtgtgctg cctgggacg      240
cacggccgcc cccgcgcc ccctcttcc gccaggtgtc ctgctgaag gagctggtgg      300
cccagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg      360
```

```
cgctgtgga cggggccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct      420
acctgcccac caggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggctggggg ctgctgttgc      480
gccgctggg cgacgacgtg ctggttacc tgctggcac ctgcgcctc tttgtgctgg      540
tggtcccg ctgcgctac caggtgtgcg ggccgcccgt gtaccagtc ggctgtcca      600
ctcaggcccc gcccccca cagctagtgc gacccgaag gcgtctggga tgcgaacggg      660
cctggaacca tagctcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga      720
ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg      780
```

```
ctgccctga gccggagcgg acgcccttg ggccagggtc ctggggccac ccgggcagga      840
cgctggacc gactgacctt ggtttctgtg ttgtgtcacc tgccagacc gccgaagaag      900
ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgcactc ccacccatcc gtgggcccgc      960
agcaccagc gggccccca tccacatgc ggccaccag tccctgggac acgcttgtc      1020
ccccgtgta cgcgagacc aagcacttcc tctactctc aggcgacaag gagcagctgc      1080
ggccctctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgtcgg aggcctgtgg      1140
agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccaggac tcccgcagg ttgccccgc      1200
```

```
tgccccagc ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc      1260
agtgcacctc cggggtgctc ctcaagacgc actgccgct gcgagctgcg gtcacccag      1320
cagccgtgt ctgtccccg gagaagcccc agggctctgt ggccggcccc gaggaggagg      1380
acacagacc ccgtgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt      1440
acggcttctg gcgggctgc ctgcgccggc ttgtgcccc aggcctctgg ggctccaggc      1500
acaacgaac ccgttctc aggaacacca agaagttcat ctcctgggg aagcatgcca      1560
```

agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca 1620

ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg 1680

ccaagtccct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt 1740

atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga 1800

gcaagtgtca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt 1860

cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc 1920

gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgatttgtaa catggactac gtcgtgggag 1980

ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctgaggggtg aaggcactgt 2040

tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg 2100

gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gccaggacc 2160

cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cggtacgac accatcccc 2220

aggacaggct caccgaggtc atgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc 2280

gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgcc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc 2340

acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg 2400

agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctccctccctg aatgaggcca 2460

gcagtggcct cttcgacgtc ttctacgtc tcatgtgcca ccacgccgtg cgcacaggg 2520

gcaagtccta cgtccagtc caggggatcc cgcagggtc catcctctcc acgtgctct 2580

gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggatcgg cgggacgggc 2640

tgtctctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtagacac tcacctcacc cacgcgaaaa 2700

ccttctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgctggtg aacttgcgga 2760

agacagtgtg gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga 2820

tgccggccca cggcctatc ccctggtgcg gctgctgct ggatacccg accctggagg 2880

tgacagcgca ctactccagc tatgcccga cctccatcag agccagtctc acctcaacc 2940

gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gaaaactctt tgggtctctg cggtgaagt 3000

gtcacagcct gtttctggat ttgcaggatga acagcctcca gacggtgtgc accaacadct 3060

acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctccatttc 3120

atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tctgcgcgt catctctgac acggcctccc 3180

tctgctactc catcctgaaa gccaaagacg cagggatgtc gctgggggcc aaggcgccg 3240

ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc 3300

tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc 3360
 agctgagtcg gaagctcccc gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaaccg 3420
 cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgccac agccaggccg 3480
 agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggtcttacgt cccagggagg gaggggcggc 3540
 ccacaccag gcccgaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct 3600
 gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc 3660
 tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc 3720

agggccagct tttcctcacc aggagcccgg ctccactcc ccacatagga atagtccatc 3780
 cccagattcg ccattgttca cccctgccc tgccctcctt tgccttcac ccccaccatc 3840
 caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctggga tttggagtga ccaaaggtgt 3900
 gccctgtaca caggcgagga cctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg 3960
 ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa 4020
 aaaaaaa 4027

<210> 216

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 216

ggaggtccct caccttcta 19

<210> 217

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 217

cggaggatct tatgctgaa 19

<210> 218

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 218

cccgccttcca gatcataca

19

<210> 219

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 219

ggagacctca acaagatat

19

<210> 220

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 220

aaggcatggt cattggtat

19

<210> 221

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 221

gcatgggtcat tggatatcat 19

<210> 222

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 222

ggtcattggt atcatgagt 19

<210> 223

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 223

cctagtgggt atccctgta 19

<210> 224

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 224

gaggatggac attgttctt 19

<210> 225

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 225

gcatgcaggc tacagttca 19

<210> 226

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 226

ccagcacatg cactgttga 19

<210> 227

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 227

cacatgcact gttgagtga 19

<210> 228

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 228

ctggaggtec ctcaccttct a 21

<210> 229

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 229

gtcggaggat cttatgctga a 21

<210> 230

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 230

tgcccgcttc cagatcatac a 21

<210> 231

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 231

ctggagacct caacaagata t 21

<210> 232

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 232

tcaaggcatg gtcattggtat t 21

<210> 233

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 233

aggcatgggtc attggtatca t 21

<210> 234

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 234

atgggtcattg gtatcatgag t 21

<210> 235

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 235

gccctagtgg gtatccctgt a 21

<210> 236

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 236

atgaggatgg acattgttct t 21

<210> 237

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 237

gagcatgcag gctacagttc a 21

<210> 238

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 238

ttccagcaca tgcactgttg a 21

<210> 239

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 239

agcacatgca ctgttgagtg a 21

<210> 240

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 240

tagaagggtga gggacctcca g

21

<210> 241

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 241

ttcagcataa gatcctccga c

21

<210> 242

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 242

tgtatgatct ggaagcgggc a

21

<210> 243

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 243

atatcttggt gaggtctcca g

21

<210> 244

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 244

ataccaatga ccatgccttg a 21

<210> 245

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 245

atgataccaa tgaccatgcc t 21

<210> 246

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 246

atggtcattg gtatcatgag t 21

<210> 247

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 247

gccctagtgg gtatccctgt a 21

<210> 248

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 248

atgaggatgg acattgttct t 21

<210> 249

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 249

gagcatgcag gctacagttc a 21

<210> 250

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 250

ttccagcaca tgcactgttg a 21

<210> 251

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 251

agcacatgca ctgttgagtg a 21

<210> 252

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 252

tagaaggtga gggacctcc 19

<210> 253

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 253

ttcagcataa gatcctccg 19

<210> 254

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 254

tgtatgatct ggaagcggg 19

<210> 255
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 255
 atatcttggt gaggtctcc 19
 <210> 256
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 256
 ataccaatga ccatgcctt 19
 <210> 257
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 257
 atgataccaa tgaccatgc 19
 <210> 258
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 258

atggtcattg gtatcatga 19

<210> 259

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 259

gccctagtgg gtatccctg 19

<210> 260

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 260

atgaggatgg acattgttc 19

<210> 261

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 261

gagcatgcag gctacagtt 19

<210> 262

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 262

ttccagcaca tgcaactgtt

19

<210> 263

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 263

agcacatgca ctgttgagt

19

<210> 264

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 264

ggccaggatg gttcttaga

19

<210> 265

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 265

gcttcgtgct aaactgta

19

<210> 266

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 266

gggcgtgact tccacatga

19

<210> 267

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 267

caggcctaga gaagtttca

19

<210> 268

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 268

cttgaaccc attcctgaa

19

<210> 269

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 269

ggaacccatt cctgaaatt 19

<210> 270

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 270

gaacccattc ctgaaatta 19

<210> 271

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 271

aacccattcc tgaaattat 19

<210> 272

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 272

acccattcct gaaattatt 19

<210> 273

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 273

cccattcctg aaattattt

19

<210> 274

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 274

ctgtggttct attatatta

19

<210> 275

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 275

aaatatgaga gcatgctaa

19

<210> 276

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 276

tctaagaacc atcctggcc

19

<210> 277

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 277

taccagttta gcacgaagc 19

<210> 278

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 278

tcatgtggaa gtcacgccc 19

<210> 279

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 279

tgaaacttct ctaggcctg 19

<210> 280

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 280

ttcaggaatg ggttccaag 19

<210> 281

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 281

aatttcagga atgggttcc 19

<210> 282

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 282

taatttcagg aatgggttc 19

<210> 283

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 283

ataatttcag gaatgggtt 19

<210> 284

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 284

aataatttca ggaatgggt

19

<210> 285

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 285

aaataatttc aggaatggg

19

<210> 286

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 286

taatataata gaaccacag

19

<210> 287

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 287

ttagcatgct ctcataattt

19

<210> 288

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 288

gcggccagga tggttcttag a

21

<210> 289

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 289

gagcttcgtg ctaaactgg a

21

<210> 290

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 290

acgggcgtga cttccacatg a

21

<210> 291

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 291

tcgaggccta gagaagtttc a 21

<210> 292

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 292

tccttggaac ccattcctga a 21

<210> 293

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 293

ttggaacca ttctgaaat t 21

<210> 294

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 294

tggaacccat tcctgaaatt a 21

<210> 295

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 295

ggaacccatt cctgaaatta t 21

<210> 296

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 296

gaacccattc ctgaaattat t 21

<210> 297

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 297

aacccattcc tgaattatt t 21

<210> 298

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 298

ccctgtggtt ctattatatt a 21

<210> 299

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 299

ttaaatatga gagcatgcta a 21

<210> 300

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 300

tctaagaacc atcctggccg c 21

<210> 301

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 301

taccagttta gcacgaagct c 21

<210> 302

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 302

tcatgtggaa gtcacgcccg t 21

<210> 303

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 303

tgaaacttct ctaggcctgc a 21

<210> 304

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 304

ttcaggaatg ggtccaagg a 21

<210> 305

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 305

aatttcagga atgggtcca a 21

<210> 306

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 306

taatttcagg aatgggttcc a

21

<210> 307

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 307

ataatttcag gaatgggttc c

21

<210> 308

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 308

aataatttca ggaatgggtt c

21

<210> 309

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 309

aaataatttc aggaatgggt t

21

<210> 310

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 310

taatataata gaaccacagg g 21

<210> 311

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 311

ttagcatgct ctcataattta a 21

<210> 312

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 312

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 150

<210> 313

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400>

313

Arg Gly Asp Ser

1

<210> 314

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 314

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 315

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 315

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 316

<211> 7

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 316

Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5

<210> 317

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 317

Ser Tyr Trp Met Ser

1 5

<210> 318

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 318

Ser Gly Ser His Tyr Trp Asn

1 5

<210> 319

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 319

Gly Tyr Tyr Trp Ser

1 5

<210> 320

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 320
 Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5

<210> 321
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 321
 Ser Tyr Glu Met Asn
 1 5

<210> 322
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 322
 Asp His Val Met His
 1 5

<210> 323
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 323

Ser Tyr Ser Met Asn

1 5

<210> 324

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 324

Ser Tyr Gly Leu His

1 5

<210> 325

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<

400> 325

Ser Asn Tyr Met Thr

1 5

<210> 326

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 326

Gly Tyr Tyr Ile Gln

1 5

<210> 327

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 327

Ser Tyr Glu Met Asn

1 5

<210> 328

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 328

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 329

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 329

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

1 5 10 15

Gly

<210> 330

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 330

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

1 5 10 15

<210> 331

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 331

Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 332

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 332

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Asn

1 5 10 15

<210> 333

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 333

Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 334

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 334

Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 335

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 335

Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 336

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 336

Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His Tyr Ser Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Asp

<210> 337

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 337

Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 338

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 338

Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 339

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 339

Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 340

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 340

Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 341

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 341

Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 342

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 342

Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr

1 5 10

<210> 343

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 343

Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val

1 5

<210> 344

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 344
Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro Phe Tyr
1 5 10 15
<210> 345
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"
<400> 345
Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr
1 5
<210> 346
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 346
Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser
1 5 10
<210> 347
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"
<400> 347

Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp Phe

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 348

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 348

Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 349

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 349

Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu

1 5

<210> 350

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 350

Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 351

<211

> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 351

Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 352

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 352

Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 353

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 353

Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 354
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 354
 Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 355
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 355
 Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 356
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 356
 Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 357
 <211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 357

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 358

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 358

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 359

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 359

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser Phe Leu Ala

1 5 10

<210> 360

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 360

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 361

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 361

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 362

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 362

Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln

1 5 10

<210> 363

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 363

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 364

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 364

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 365

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 365

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 366

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 366

Gln Ala Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn Leu Asn

1 5 10

<210> 367

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 367
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 368

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 368
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
 1 5 10

<210> 369

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 369
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 370

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 370

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 371

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 371

Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser

1 5

<210> 372

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 372

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 373

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 373

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 374

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 374

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 375

<211>

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 375

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 376

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 376

Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 377

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

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

<400> 377

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 378

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 378

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 379

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 379

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 380

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 380

Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 381

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 381

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 382

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 382

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 383

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 383

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 384

<211

> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 384

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp Val Val

1 5 10

<210> 385

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 385

Met Gln Gly Thr His Trp Ser Phe Thr

1 5

<210> 386

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 386

Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 387

<211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 387
 Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Thr
 1 5

<210> 388

<211> 9

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 388
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
 1 5

<210> 389

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 389
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp Thr
 1 5 10

<210> 390

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 390

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Gln Val Val

1 5 10

<210> 391

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 391

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 392

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 392

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 393

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 393

Gln Gln Ala Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5
 <210> 394
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

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

<400> 394
 Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu Thr

1 5
 <210> 395
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

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

<400> 395
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Leu Thr

1 5 10
 <210> 396
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

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

<400> 396
 Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro Leu Thr

1 5
 <210> 397
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 397

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 398

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 398

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 399

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 399

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

1 5

<210> 400

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 400

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr

1 5

<210> 401

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 401

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 402

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 402

Gly Gly Pro Val Arg Ser Gly Ser His

1 5

<210> 403

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 403

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

1 5

<210> 404

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 404

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 405

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 405

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 406

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 406

Ala Asn Thr Phe Ser Asp His

1 5

<210> 407

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"
 <400> 407
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 408
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 408
 Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
 1 5
 <210> 409
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 409
 Gly Phe Asn Val Ser Ser Asn
 1 5
 <210> 410
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

```

        peptide"
<400> 410
Gly Tyr Pro Phe Thr Gly Tyr
1           5
<210> 411
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 411
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1           5
<210> 412
<211>
> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 412
Ile Pro Ile Phe Gly Thr
1           5
<210> 413
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 413
Ser Gly Asp Gly Gly Ser
1           5

```

<210> 414

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 414

Tyr Tyr Ser Gly Ser

1 5

<210> 415

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 415

Asn Glu Asp Gly Ser Ala

1 5

<210> 416

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 416

Tyr Tyr Ser Gly Ser

1 5

<210> 417

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 417

Asn His Ser Gly Ser

1 5

<210> 418

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 418

Ser Ser Ser Ser Ser Tyr

1 5

<210> 419

<211

> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 419

Ser Ser Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 420

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 420

His Ala Ala Asn Gly Gly

1 5

<210> 421

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 421

Ser Ser Ser Ser Ser Thr

1 5

<210> 422

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 422

Glu Tyr Asp Gly Ser Asn

1 5

<210> 423

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 423

Tyr Ser Gly Gly Ala

1 5

<210> 424
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 424
 Asp Pro Asn Ser Gly Asn
 1 5

<210> 425
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 425
 Ser Ser Ser Gly Ser Thr
 1 5

<210> 426

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 426
 Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr
 1 5 10

<210> 427
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 427

Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val

1 5

<210> 428

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 428

Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro Phe Tyr

1 5 10 15

<210> 429

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 429

Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr

1 5

<210> 430

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 430

Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 431

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 431

Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp Phe

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 432

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 432

Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 433

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 433

Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu

1 5

<210> 434

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 434

Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 435

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 435

Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 436

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 436

Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 437
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 437
 Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15
 Met Asp Val

<210> 438
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 438
 Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 439
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 439
 Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 440

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 440

Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 441

<211> 12

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 441

Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 442

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 442

Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 443

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence


```

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      peptide"
<400> 443
Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser Phe
1           5
<210> 444
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      peptide"
<400> 444
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1           5
<210> 445
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      peptide"
<400> 445
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1           5
<210> 446
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      peptide"
<400> 446

```

Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr

1 5

<210> 447

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 447

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 448

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 448

Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 449

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 449

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 450

<211>

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 450

Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn

1 5

<210> 451

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 451

Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 452

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

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

<400> 452

Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

1 5

<210> 453

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 453

Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr

1 5

<210> 454

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 454

Asp Val Ser

1

<210> 455

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 455

Lys Val Ser

1

<210> 456

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 456

Ala Ala Ser

1

<210> 457

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 457

Gly Ala Ser

1

<210> 458

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 458

Ala Ala Ser

1

<210> 459

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 459

Ala Ala Ser

1

<210> 460

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 460

Glu Asp Asn

1

<210> 461

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 461

Asp Ala Ser

1

<210> 462

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 462

Ala Ala Ser

1

<210> 463

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

```

        peptide"
<400> 463
Asp Ala Ser
1
<210> 464
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 464
Asp Ala Ser
1
<210> 465
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 465
Ala Ala Ser
1
<210> 466
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 466
Asp Ala Ser
1

```

<210> 467
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 467
 Gly Ala Ser

1
 <210> 468
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 468
 Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp Val

1 5
 <210> 469
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 469
 Gly Thr His Trp Ser Phe

1 5
 <210> 470
 <211> 6
 <212>
 > PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 470
 Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr
 1 5

<210> 471

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 471
 Tyr Gly Ser Ser Pro Pro
 1 5

<210> 472

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 472
 Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
 1 5

<210> 473

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 473

Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp

1 5

<210> 474

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 474

Tyr Asp Ser Ser Asn Gln Val

1 5

<210> 475

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 475

Tyr Asp Asn Leu Pro Leu

1 5

<210> 476

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 476

Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

1 5

<210> 477

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 477

Ala Tyr Ser Thr Pro Phe

1 5

<210> 478

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 478

His Asp Asn Leu Pro Leu

1 5

<210> 479

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 479

Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Leu

1 5

<210> 480

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 480

Phe Asn Asn Tyr Pro Leu

1 5

<210> 481

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 481

Tyr Gly Ser Ser Pro Leu

1 5

<210> 482

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 482

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 483

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 483

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc	60
gggccccccc gcaagcatta ccagccctat gcccaccac gcgacttcgc agcctatcgc	120
tcc	123

<210> 484

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 484

Thr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Ser	Ser	Ser	Val	His	Asp	Pro	Asn	Gly	Glu	Tyr
1				5					10					15	
Met	Phe	Met	Arg	Ala	Val	Asn	Thr	Ala	Lys	Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Asp
			20					25					30		
Val	Thr	Leu													
			35												

<210> 485

<211> 105

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 485

acaaaaaaga agtattcatc cagtgtgcac gaccctaacg gtgaatacat gttcatgaga	60
gcagtgaaca cagccaaaaa atccagactc acagatgtga cccta	105

<210> 486

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 486
 Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
 1 5 10 15
 Lys Gly

<210> 487
 <211> 521
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Unknown:

Wild-type PGK promoter polynucleotide"

<400> 487
 accctctct ccagccacta agccagttgc tcctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60
 ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgctcc ggggtgtgatg gcgggggtgtg 120
 gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180
 gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240
 cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300
 ttcttggaa gggctgaatc cccgcctcgt ccttcgcagc ggccccccgg gtgttcccat 360

 cgccgcttct agggccactg cgacgcttgc ctgcacttct tacacgtctt ggggtcccagc 420
 cgcggcgacg caaagggcct tggtcgggt ctgctcggcg cagggacgcg tttgggtccc 480
 gacggaacct tttccgcgtt ggggttgggg caccataagc t 521

<210> 488
 <211> 118
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 488
acccctctct ccagccacta agccagttgc tcctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60
ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgctcc gggtgtgatg gcgggggtg 118

<210> 489
<211> 221
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 489
acccctctct ccagccacta agccagttgc tcctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60
ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgctcc gggtgtgatg gcgggggtgtg 120
gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180
gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac g 221
<210> 490
<211> 324

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 490
acccctctct ccagccacta agccagttgc tcctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60
ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgctcc gggtgtgatg gcgggggtgtg 120
gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180
gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240
cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttgccg 300

ttccttgga gggctgaatc cccg 324
<210> 491

<211> 422

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 491

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct	60
ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgctcc ggggtgtgat gcgggggtgtg	120
gggcgggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc	180
gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga	240
cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggcctgtgc gcgcttggcg	300
ttccttgga gggctgaatc cccgcctcgt ccttcgcagc ggccccccgg gtgttcccat	360
cgccgttct aggccactg cgacgcttgc ctgcacttct tacacgtctt ggggtccagc	420
cg	422

<210> 492

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(3)

<223> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 492

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1	5	10	15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 493

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(3)

<223> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 493

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val

1

5

10

15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 494

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(3)

<223> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 494

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

1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 495

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(3)

<223> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 495

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala

1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20 25