



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0172572
(43) 공개일자 2023년12월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/06 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/725 (2006.01)
C07K 14/74 (2006.01) C12N 5/0783 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 7/06 (2013.01)
A61K 39/0011 (2023.05)
(21) 출원번호 10-2023-7039797
(22) 출원일자(국제) 2022년04월18일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년11월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/025223
(87) 국제공개번호 WO 2022/225852
국제공개일자 2022년10월27일
(30) 우선권주장
63/176,477 2021년04월19일 미국(US)

(71) 출원인
더 보드 오브 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 텍
사스 시스템
미국, 텍사스 78701, 오스틴, 210 웨스트 7 스트
리트
(72) 발명자
이 캐시안
미국 텍사스주 77030 휴스턴 홀콤 블러바드 1515
유.티.엠.디. 앤더슨 캔서 센터
관 커
미국 텍사스주 77030 휴스턴 홀콤 블러바드 1515
유.티.엠.디. 앤더슨 캔서 센터
츠우 위룬
미국 텍사스주 77030 휴스턴 홀콤 블러바드 1515
유.티.엠.디. 앤더슨 캔서 센터
(74) 대리인
장훈

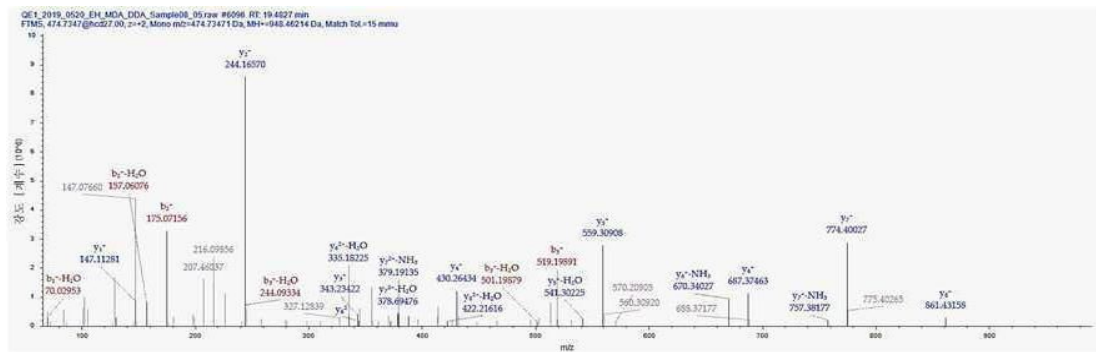
전체 청구항 수 : 총 236 항

(54) 발명의 명칭 MHC 부류 I 펩타이드를 포함하는 방법 및 조성물

(57) 요약

본 개시내용은 암에 대해 개체를 치료하고 백신접종하기 위한 방법 및 조성물을 제공하여 당해 기술 분야의 필요성을 충족시킨다. 따라서, 본 개시내용의 측면은 서열번호 1 또는 2의 펩타이드와 적어도 70% 서열 동일성을 포함하는 단리된 펩타이드에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드는 서열번호 1 또는 2의 펩타이드의 적어도 6개의 인접한 아미노산을 포함한다. 추가 측면은 단리된 펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물, 펩타이드를 암호화하는 핵산, 및 본 개시내용의 핵산을 포함하는 발현 벡터 및 숙주 세포에 관한 것이다. 또한 본 개시내용의 펩타이드, 핵산, 또는 발현 벡터를 포함하는 시험관내 단리된 수지상 세포가 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 39/4611 (2023.05)

A61K 39/4631 (2023.05)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 14/7051 (2013.01)

C07K 14/70539 (2013.01)

C12N 5/0636 (2023.05)

A61K 2039/572 (2013.01)

C07K 2319/03 (2013.01)

C12N 2510/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

IYNGKLFDL (서열번호 1) 또는 SSSQESVPK (서열번호 2)의 펩타이드와 적어도 70% 서열 동일성을 포함하는 펩타이드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 펩타이드가 서열번호 1 또는 2를 포함하는, 펩타이드.

청구항 3

제1 또는 제2항에 있어서, 상기 펩타이드가 서열번호 1 또는 2의 적어도 6개의 인접한 아미노산을 포함하는, 펩타이드.

청구항 4

제1항 또는 제3항에 있어서, 상기 펩타이드가 13개 이하의 아미노산 길이인, 펩타이드.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 펩타이드가 9개의 아미노산으로 이루어진, 펩타이드.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드가 면역원성인, 펩타이드.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드가 변형된, 펩타이드.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 변형이 분자에 대한 집합을 포함하는, 펩타이드.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서, 상기 분자가 항체, 지질, 보조제, 또는 검출 모이어티(moiety)를 포함하는, 펩타이드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드가 서열번호 1 또는 2의 펩타이드에 비해 1, 2 또는 3개의 치환을 갖는, 펩타이드.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드 및 MHC 폴리펩타이드를 포함하는 분자 복합물.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 단리된 펩타이드 또는 제11항의 분자 복합물 및 약제학적 담체를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 약제학적 조성물이 비경구 투여, 정맥내 주사, 근육내 주사, 흡입, 또는 피하 주사를 위

해 제형화되는, 약제학적 조성물.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 펩타이드가 리포솜, 지질-함유 나노입자, 또는 지질-기반 담체에 포함되는, 약제학적 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 약제학적 제제가 비강 스프레이로서 주입 또는 흡입을 위해 제형화되는, 약제학적 조성물.

청구항 16

제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 백신으로서 제형화되는, 약제학적 조성물.

청구항 17

제12항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 보조제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드를 암호화하는 핵산.

청구항 19

제18항의 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 20

제18항의 핵산 또는 제19항의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 21

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드, 제18항의 핵산, 또는 제19항의 발현 벡터를 포함하는 시험관내 단리된 수지상 세포.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 수지상 세포가 성숙 수지상 세포인, 수지상 세포.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 세포가 HLA-A 유형을 갖는 세포인, 수지상 세포.

청구항 24

펩타이드-특이적 결합 분자로서, 상기 분자가 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드 또는 제11항의 분자 복합물에 특이적으로 결합하는, 펩타이드-특이적 결합 분자.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 분자가 이-특이적인, 결합 분자.

청구항 26

제24항 또는 제25항에 있어서, 상기 결합 분자가 항체, TCR mimic 항체, scFV, 카멜리드(camellid), 압타머, 또는 DARPIN인, 결합 분자.

청구항 27

제18항의 핵산 또는 제19항의 발현 벡터를 세포 내로 전달함을 포함하는, 세포를 제조하는 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 방법이 상기 발현된 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 단리함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 29

(a) 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 수득하는 단계; 및

(b) 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드 또는 제11항의 분자 복합물과 접촉시켜, 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포를 생성하는 단계

를 포함하는 암-특이적 면역 이펙터 세포를 생성하는 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 접촉 단계가 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 항원 제시 세포 (APC), 인공 항원 제시 세포 (aAPC), 또는 인공 항원 제시 표면 (aAPS)과 함께 공-배양하는 것으로 추가로 정의되고; 여기서, 상기 APC, aAPC, 또는 aAPS는 이들의 표면에 상기 펩타이드를 제시하는, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 APC가 수지상 세포인, 방법.

청구항 32

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포가 T 세포, 말초 혈액 림프구, NK 세포, 불변 NK 세포, NKT 세포인, 방법.

청구항 33

제29항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포가 중간엽 줄기 세포 (MSC) 또는 유도 다능성 줄기 (iPS) 세포로부터 분화되는, 방법.

청구항 34

제32항에 있어서, 상기 T 세포가 $CD8^+$ T 세포, $CD4^+$ T 세포, $CD4^+$ Treg 세포, 또는 $\gamma\delta$ T 세포인, 방법.

청구항 35

제32항에 있어서, 상기 T 세포가 세포독성 T 림프구 (CTL)인, 방법.

청구항 36

제29항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수득하는 단계가 말초혈액 단핵 세포 (PBMC)로부터 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 단리함을 포함하는, 방법.

청구항 37

제29항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단이 대상자로부터 입수되는, 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 대상자가 사람인, 방법.

청구항 39

제37항 또는 제38항에 있어서, 상기 대상자가 암을 갖는, 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 암이 상기 펩타이드의 발현에 대해 양성인 종양 세포를 포함하는, 방법.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 백혈병, 폐 암, 또는 피부 암을 포함하는, 방법.

청구항 42

제29항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고형 종양을 포함하는, 방법.

청구항 43

제29항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 폐 암을 포함하는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 폐 암이 샘암종 또는 편평세포 암종을 포함하는, 방법.

청구항 45

제31항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이, 상기 공-배양 전에, 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산을 상기 수지상 세포 내로 도입함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산이 전기천공에 의해 도입되는, 방법.

청구항 47

제45항에 있어서, 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산이 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산을 상기 수지상 세포 배양 배지에 첨가하여 도입되는, 방법.

청구항 48

제45항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포가 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산이 도입된 수지상 세포의 두번째 집단으로 공-배양되는, 방법.

청구항 49

제45항에 있어서, CD8 또는 CD4-양성 및 펩타이드 MHC 사량체-양성 T 세포의 집단이 상기 공-배양 후 상기 면역 이펙터 세포로부터 정제되는, 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포의 클론 집단이 제한적인 또는 일련의 희석, 이어서, 신속한 확장 프로토콜에 의한 개별적인 클론의 확장에 의해 생성되는, 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 방법이 상기 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포의 클론 집단으로부터 T 세포 수용체 (TCR)를 클로닝함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 TCR의 클로닝이 TCR 알파 및 베타 체의 클로닝인, 방법.

청구항 53

제51항 또는 제52항에 있어서, 상기 TCR이 cDNA 말단의 5'-신속한 증폭 (RACE)법을 사용하여 클로닝되는, 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 클로닝된 TCR이 발현 벡터로 하위클로닝되는, 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 발현 벡터가 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터인, 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 숙주 세포가 상기 발현 벡터로 형질도입되어 상기 TCR을 발현하는 조작된 세포를 생성하는, 방법.

청구항 57

제56항에 있어서, 상기 숙주 세포가 면역 세포인, 방법.

청구항 58

제31항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 세포가 T 세포이고, 상기 조작된 세포가 조작된 T 세포인, 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 T 세포가 $CD8^+$ T 세포, $CD4^+$ T 세포, $CD4^+$ Treg 세포, 또는 $\gamma\delta$ T 세포이고, 상기 조작된 세포가 조작된 T 세포인, 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단이 암을 갖는 대상자로부터 입수되고, 상기 숙주 세포가 상기 대상자에 대해 동종이형 또는 자가인, 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 암이 상기 펩타이드의 발현에 대해 양성인, 방법.

청구항 62

제58항 또는 제59항에 있어서, CD8 또는 CD4-양성 및 펩타이드 MHC 사량체-양성 조작된 T 세포의 집단이 상기 형질도입된 숙주 세포로부터 정제되는, 방법.

청구항 63

제49항에 있어서, 펩타이드-특이적 조작된 T 세포의 클론 집단이 제한적인 또는 일련의 희석, 이어서, 신속한 확장 프로토콜에 의한 개별적인 클론의 확장에 의해 생성되는, 방법.

청구항 64

제29항 내지 제63항 중 어느 한 항의 방법에 따라 생성된 펩타이드-특이적 조작된 T 세포.

청구항 65

서열번호 9의 아미노산 서열 또는 서열번호 9와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 가변 영역이 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 가변 영역이 각각 서열번호 7 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖거나, 각각 서열번호 7 및 서열번호 8과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 CDR1 및/또는 CDR2를 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 68

제65항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가변 영역이 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 서열번호 5와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 69

제65항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 T 세포 수용체 알파 (TCR-α) 가변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 TCR-α 가변 및 불변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 71

제65항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 신호 펩타이드를 추가로 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 72

제71항에 있어서, 상기 신호 펩타이드가 서열번호 6의 아미노산 서열 또는 서열번호 6과 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 73

서열번호 16의 아미노산 서열 또는 서열번호 16과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 가변 영역이 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 가변 영역이 각각 서열번호 14 및 15의 아미노산 서열을 갖거나, 각각 서열번호 14 및 서열번호 15와 적어도 80% 서열 동일성인 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및/또는 CDR2를 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 76

제73항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가변 영역이 서열번호 12의 아미노산 서열 또는 서열번호 12와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 77

제73항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 T 세포 수용체 베타 (TCR-β) 가변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 78

제77항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 TCR-β 가변 및 불변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 79

제73항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 신호 펩타이드를 추가로 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 80

제79항에 있어서, 상기 신호 펩타이드가 서열번호 13의 아미노산 서열 또는 서열번호 13과 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 81

제65항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 TCR-a 및 TCR-b 가변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 82

제65항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 재조합인, 폴리펩타이드.

청구항 83

서열번호 23의 아미노산 서열 또는 서열번호 23과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드.

청구항 84

제83항에 있어서, 상기 가변 영역이 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 85

제84항에 있어서, 상기 가변 영역이 각각 서열번호 21 및 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖거나, 각각 서열번호 21 및 서열번호 22와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 CDR1 및/또는 CDR2를 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 86

제83항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가변 영역이 서열번호 19의 아미노산 서열 또는 서열번호 19와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 87

제83항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 T 세포 수용체 알파 (TCR-a) 가변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 88

제87항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 TCR-a 가변 및 불변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 89

제83항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 신호 펩타이드를 추가로 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 신호 펩타이드가 서열번호 20의 아미노산 서열 또는 서열번호 20과 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 91

서열번호 30의 아미노산 서열 또는 서열번호 30과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 가변 영역이 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 가변 영역이 각각 서열번호 28 및 29의 아미노산 서열을 갖거나, 각각 서열번호 28 및 서열번호 29와 적어도 80% 서열 동일성인 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및/또는 CDR2를 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 94

제91항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가변 영역이 서열번호 26의 아미노산 서열 또는 서열번호 26

과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 95

제91항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 T 세포 수용체 베타 (TCR-b) 가변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 96

제95항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 TCR-b 가변 및 불변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 97

제91항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 신호 펩타이드를 추가로 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 98

제83항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 TCR-a 및 TCR-b 가변 영역을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 99

제83항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드가 재조합되는, 폴리펩타이드.

청구항 100

제97항에 있어서, 상기 신호 펩타이드가 서열번호 27의 아미노산 서열 또는 서열번호 27과 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.

청구항 101

제65항 내지 제100항 중 어느 한 항의 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산.

청구항 102

제101항에 있어서, 상기 핵산이 cDNA인, 핵산.

청구항 103

TCR-a 영역 및 TCR-b 영역을 포함하는 조작된 T-세포 수용체 (TCR)로서, 상기 TCR-a 영역이 서열번호 9의 아미노산 서열 또는 서열번호 9와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 영역이 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 서열번호 16과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는, TCR.

청구항 104

제103항에 있어서, 상기 TCR이 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하는 TCR-a 영역 및 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하는 TCR-b 영역을 포함하는, TCR.

청구항 105

제104항에 있어서, 상기 TCR-a 영역이 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 7과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하고/하거나, 상기 TCR-b 영역이 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 14와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는, TCR.

청구항 106

제104항 또는 제105항에 있어서, 상기 TCR-a 영역이 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 8과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하고/하거나, 상기 TCR-b 영역이 서열번호 15의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 15와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는,

TCR.

청구항 107

제103항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TCR-a 영역의 CDR1, CDR2, 및 CDR3이 각각 서열번호 7, 8, 및 9의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 TCR-b 영역의 CDR1, CDR3, 및 CDR3이 각각 서열번호 14, 15, 및 16의 아미노산 서열을 포함하는, TCR.

청구항 108

제103항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TCR-a 영역이 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 서열번호 5와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 TCR-b 영역이 서열번호 12의 아미노산 서열 또는 서열번호 12와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, TCR.

청구항 109

TCR-a 영역 및 TCR-b 영역을 포함하는 조작된 T-세포 수용체 (TCR)로서, 상기 TCR-a 영역이 서열번호 23의 아미노산 서열 또는 서열번호 23과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 영역이 서열번호 30의 아미노산 서열 또는 서열번호 30과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는, TCR.

청구항 110

제109항에 있어서, 상기 TCR이 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하는 TCR-a 영역 및 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하는 TCR-b 영역을 포함하는, TCR.

청구항 111

제110항에 있어서, 상기 TCR-a 영역이 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 21과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하고/하거나, 상기 TCR-b 영역이 서열번호 28의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 28과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는, TCR.

청구항 112

제110항 또는 제111항에 있어서, 상기 TCR-a 영역이 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 22와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하고/하거나, 상기 TCR-b 영역이 서열번호 29의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 29와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는, TCR.

청구항 113

제109항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TCR-a 영역의 CDR1, CDR2, 및 CDR3이 각각 서열번호 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 TCR-b 영역의 CDR1, CDR3, 및 CDR3이 각각 서열번호 28, 29, 및 30의 아미노산 서열을 포함하는, TCR.

청구항 114

제109항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TCR-a 영역이 서열번호 19의 아미노산 서열 또는 서열번호 19와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 상기 TCR-b 영역이 서열번호 26의 아미노산 서열 또는 서열번호 26과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, TCR.

청구항 115

제103항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TCR이 단일쇄 TCR인, TCR.

청구항 116

제103항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TCR-a 영역 및 TCR-b 영역이 상이한 폴리펩타이드 상에 존재하는, TCR.

청구항 117

제103항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TCR-a 영역 및 TCR-b 영역이 동일한 폴리펩타이드 상에 존재하는, TCR.

청구항 118

제103항 내지 제117항 중 어느 한 항의 TCR을 포함하는 이-특이적인 폴리펩타이드.

청구항 119

제103항 내지 제118항 중 어느 한 항의 TCR 및 CD3 결합 영역을 포함하는 융합 단백질.

청구항 120

제119항에 있어서, 상기 CD3 결합 영역이 CD3-특이적 단편 항원 결합 (Fab), 단일쇄 가변 단편 (scFv), 단일 도메인 항체, 또는 단일쇄 항체를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 121

TCR-a 폴리펩타이드 및/또는 TCR-b 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산으로서, 상기 TCR-a 폴리펩타이드가 서열번호 9의 아미노산 서열 또는 서열번호 9와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 폴리펩타이드가 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 서열번호 16과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는, 핵산.

청구항 122

제121항에 있어서, 상기 핵산이 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 TCR-a 폴리펩타이드 및/또는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 TCR-b 폴리펩타이드를 암호화하는, 핵산.

청구항 123

제122항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 7과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-a 폴리펩타이드 및/또는 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 14와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-b 폴리펩타이드를 암호화하는, 핵산.

청구항 124

제122항 또는 제123항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 8과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-a 폴리펩타이드 및/또는 서열번호 15의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 15와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-b 폴리펩타이드를 암호화하는, 핵산.

청구항 125

제109항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 서열번호 5와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 가변 영역 및/또는 서열번호 12의 아미노산 서열 또는 서열번호 12와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 가변 영역을 암호화하는, 핵산.

청구항 126

제125항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 4의 아미노산 서열 또는 서열번호 4와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 폴리펩타이드 및/또는 서열번호 11의 아미노산 서열 또는 서열번호 11과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 폴리펩타이드쇄를 암호화하는, 핵산.

청구항 127

제126항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 3, 10, 및/또는 11의 단편을 포함하는, 핵산.

청구항 128

서열번호 23의 아미노산 서열 또는 서열번호 23과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 TCR-a 폴리펩타이드 및/또는 서열번호 30의 아미노산 서열 또는 서열번호 30과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 TCR-b 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산.

청구항 129

제128항에 있어서, 상기 핵산이 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 TCR-a 폴리펩타이드 및/또는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 TCR-b 폴리펩타이드를 암호화하는, 핵산.

청구항 130

제129항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 21과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-a 및/또는 서열번호 28의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 28과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-b 폴리펩타이드를 암호화하는, 핵산.

청구항 131

제129항 또는 제130항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 22와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-a 폴리펩타이드 및/또는 서열번호 29의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 29와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-b 폴리펩타이드를 암호화하는, 핵산.

청구항 132

제128항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 19의 아미노산 서열 또는 서열번호 19와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 가변 영역 및/또는 서열번호 26의 아미노산 서열 또는 서열번호 26과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 가변 영역을 암호화하는, 핵산.

청구항 133

제132항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 18의 아미노산 서열 또는 서열번호 18과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 폴리펩타이드 쇠 및/또는 서열번호 25의 아미노산 서열 또는 서열번호 25와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는, 핵산.

청구항 134

제133항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 17, 24, 및/또는 이의 단편을 포함하는, 핵산.

청구항 135

제121항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산이 적어도 하나의 TCR-a (TRA) 및 적어도 하나의 TCR-b (TRB) 유전자를 동일한 핵산 상에 포함하는, 핵산.

청구항 136

제121항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산이 폴리시스트론인, 핵산.

청구항 137

제136항에 있어서, 상기 핵산이 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 또는 2A 절단가능한 링커를 포함하는, 핵산.

청구항 138

제121항 내지 제137항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산이 상기 TCR-a 및/또는 TCR-b 유전자를 암호화하는 cDNA를 포함하는, 핵산(들).

청구항 139

제121항 내지 제138항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산이 CD3 결합 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 추가로 암호화하는, 핵산(들).

청구항 140

제139항에 있어서, 상기 CD3 결합 영역이 CD3-특이적 단편 항원 결합 (Fab), 단일쇄 가변 단편 (scFv), 단일 도메인 항체, 또는 단일쇄 항체를 포함하는, 핵산.

청구항 141

제121항 내지 제140항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산이 cDNA인, 핵산.

청구항 142

제101항, 제102항, 또는 제121항 내지 제141항 중 어느 한 항의 핵산(들)을 포함하는 핵산 벡터.

청구항 143

제142항에 있어서, 상기 벡터가 상기 핵산의 발현을 지시하는 프로모터를 포함하는, 벡터.

청구항 144

제143항에 있어서, 상기 프로모터가 무린 줄기 세포 바이러스 (MSCV) 프로모터를 포함하는, 벡터.

청구항 145

제142항 내지 제144항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 벡터가 상기 TCR-a 및 TCR-b 유전자를 포함하는, 벡터.

청구항 146

제65항 내지 제100항 중 어느 한 항의 폴리펩타이드, 제103항 내지 제114항 중 어느 한 항의 TCR, 제115항 또는 제118항의 융합 단백질, 제101항, 제102항, 또는 제121항 내지 제141항 중 어느 한 항의 핵산(들), 또는 제142항 내지 제145항 중 어느 한 항의 벡터를 포함하는 세포.

청구항 147

제146항에 있어서, 상기 세포가 줄기 세포, 선조 세포, 면역 세포, 또는 자연 킬러 (NK) 세포를 포함하는, 세포.

청구항 148

제147항에 있어서, 상기 세포가 조혈 줄기 또는 선조 세포, T 세포, 중간엽 줄기 세포 (MSC)로부터 분화된 세포 또는 유도 다능성 줄기 세포 (iPSC)를 포함하는, 세포.

청구항 149

제146항 또는 제147항에 있어서, 상기 세포가 말초혈액 단핵 세포 (PBMC)로부터 분리 또는 유도되는, 세포.

청구항 150

제148항 또는 제149항에 있어서, 상기 T 세포가 세포독성 T 림프구 (CTL), $CD8^+$ T 세포, $CD4^+$ T 세포, 불변 NK T (iNKT) 세포, 감마-델타 T 세포, NKT 세포, 조절 T 세포, 또는 $CD4^+$ 조절 세포를 포함하는, 세포.

청구항 151

제146항 내지 제150항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 암 환자로부터 분리되는, 세포.

청구항 152

제64항의 펩타이드-특이적 T 세포, 제65항 내지 제100항 또는 제118항 중 어느 한 항의 폴리펩타이드, 제103항

내지 제115항 중 어느 한 항의 TCR, 제119항 또는 제120항의 융합 단백질, 제101항, 제102항, 또는 제121항 내지 제141항 중 어느 한 항의 핵산(들) 또는 제142항 내지 제145항 중 어느 한 항의 벡터를 포함하는 조성물.

청구항 153

제152항에 있어서, 상기 조성물이 무-혈청, 미코플라스마-비함유, 내독소-비함유, 및/또는 멸균성인 것으로 측정된, 조성물.

청구항 154

제101항, 제102항, 또는 제121항 내지 제141항 중 어느 한 항의 핵산 또는 제142항 내지 제145항 중 어느 한 항의 벡터를 세포 내로 전달함을 포함하는 조작된 세포를 제조하는 방법.

청구항 155

제154항에 있어서, 상기 방법이 상기 세포를 배지에서 배양하고, 상기 세포의 분열을 가능하게 하는 조건하에 상기 세포를 인큐베이팅하고, 상기 세포를 선별하고/하거나, 상기 세포를 냉동시킴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 156

대상자에서 암을 치료 또는 예방하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드 또는 제11항의 분자 복합물, 제12항 내지 제17항 또는 제152항 내지 제155항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물, 제18항, 제19항, 또는 제142항 내지 제145항 중 어느 한 항의 핵산 또는 발현 벡터, 제21항 내지 제23항 중 어느 한 항의 수지상 세포, 또는 제64항의 펩타이드-특이적 T 세포, 제65항 내지 제100항 또는 제118항 중 어느 한 항의 폴리펩타이드, 제103항 내지 제115항 중 어느 한 항의 TCR, 제119항 또는 제120항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상자에게 투여함을 포함하는, 방법.

청구항 157

대상자에서 면역 반응을 자극하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드 또는 제11항의 분자 복합물, 제12항 내지 제17항 또는 제152항 내지 제155항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물, 제18항, 제19항, 또는 제142항 내지 제145항 중 어느 한 항의 핵산 또는 발현 벡터, 제21항 내지 제23항 중 어느 한 항의 수지상 세포, 또는 제64항의 펩타이드-특이적 T 세포, 제65항 내지 제100항 또는 제118항 중 어느 한 항의 폴리펩타이드, 제103항 내지 제115항 중 어느 한 항의 TCR, 제119항 또는 제120항의 융합 단백질의 유효량을 상기 대상자에게 투여함을 포함하는, 방법.

청구항 158

제156항 또는 제157항에 있어서, 상기 대상자가 사람인, 방법.

청구항 159

제156항 내지 제158항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드-특이적 T 세포가 자가 또는 동종이형인, 방법.

청구항 160

제156항 내지 제159항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 두번째 치료학적 제제를 투여함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 161

제160항에 있어서, 상기 두번째 치료학적 제제가 항-암제인, 방법.

청구항 162

제156항 내지 제161항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상자가 암으로 진단된, 방법.

청구항 163

제162항에 있어서, 상기 암이 상기 펩타이드의 발현에 대해 양성인 암을 포함하는, 방법.

청구항 164

제156항 내지 제163항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 백혈병, 폐 암, 또는 피부 암을 포함하는, 방법.

청구항 165

제156항 내지 제164항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고형 종양을 포함하는, 방법.

청구항 166

제156항 내지 제165항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 폐 암을 포함하는, 방법.

청구항 167

제166항에 있어서, 상기 폐 암이 샘암종 또는 편평세포 암종을 포함하는, 방법.

청구항 168

제156항 내지 제167항 중 어느 한 항에 있어서, 치료가 종양 크기를 감소시킴; 전반적 생존율을 증가시킴; 암의 재발 위험을 감소시킴; 진행 위험을 감소시킴; 및/또는 무진행 생존, 비재발성(relapse-free) 생존, 및/또는 비재발(recurrence-free) 생존의 가능성을 증가시킴 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 169

펩타이드-특이적 T 세포 수용체 (TCR)를 클로닝하는 방법으로서, 상기 방법은

- (a) 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 수득하는 단계;
 - (b) 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드와 접촉시켜, 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포를 생성하는 단계;
 - (c) 상기 펩타이드에 특이적인 면역 이펙터 세포를 정제하는 단계, 및
 - (d) 상기 정제된 면역 이펙터 세포로부터 TCR 서열을 단리하는 단계
- 를 포함하는, 방법.

청구항 170

제169항에 있어서, 접촉하는 단계가 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 항원 제시 세포 (APC), 인공 항원 제시 세포 (aAPC), 또는 인공 항원 제시 표면 (aAPS)과 공-배양하는 것으로 추가로 정의되고; 상기 APC, aAPC, 또는 aAPS가 이들의 표면에 상기 펩타이드를 제시하는, 방법.

청구항 171

제170항에 있어서, 상기 APC가 수지상 세포인, 방법.

청구항 172

제169항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포가 T 세포, 말초 혈액 림프구, NK 세포, 불변 NK 세포, NKT 세포인, 방법.

청구항 173

제169항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포가 중간엽 줄기 세포 (MSC) 또는 유도 다능성 줄기 (iPS) 세포로부터 분화된, 방법.

청구항 174

제172항에 있어서, 상기 T 세포가 $CD8^+$ T 세포, $CD4^+$ T 세포, $CD4^+$ Treg 세포, 또는 $\gamma \delta$ T 세포인, 방법.

청구항 175

제172항에 있어서, 상기 T 세포가 세포독성 T 림프구 (CTL)인, 방법.

청구항 176

제169항 내지 제176항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 획득하는 단계가 말초혈액 단핵 세포 (PBMC)로부터 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 분리함을 포함하는, 방법.

청구항 177

제169항 내지 제176항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포의 출발 집단이 대상자로부터 입수되는, 방법.

청구항 178

제177항에 있어서, 상기 대상자가 사람인, 방법.

청구항 179

제178항에 있어서, 상기 대상자가 암을 갖는, 방법.

청구항 180

제169항 내지 제179항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 백혈병, 폐 암, 또는 피부 암을 포함하는, 방법.

청구항 181

제169항 내지 제180항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 고형 종양을 포함하는, 방법.

청구항 182

제169항 내지 제181항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 폐 암을 포함하는, 방법.

청구항 183

제182항에 있어서, 상기 폐 암이 샘암종 또는 편평세포 암종을 포함하는, 방법.

청구항 184

제171항 내지 제182항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이, 상기 공-배양 전에, 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산을 상기 수지상 세포 내로 도입함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 185

제184항에 있어서, 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산이 전기천공에 의해 도입되는, 방법.

청구항 186

제184항에 있어서, 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산이 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산을 상기 수지상 세포의 배지에 첨가하여 도입되는, 방법.

청구항 187

제184항에 있어서, 상기 면역 이펙터 세포가, 상기 펩타이드 또는 상기 펩타이드를 암호화하는 핵산이 도입된 수지상 세포의 두번째 집단과 공-배양되는, 방법.

청구항 188

제184항에 있어서, 정제하는 단계가 상기 공-배양 후 상기 면역 이펙터 세포로부터 CD4- 또는 CD8-양성 및 펩타이드 MHC 사량체-양성 T 세포의 집단을 정제함으로 정의되는, 방법.

청구항 189

제188항에 있어서, 상기 CD4- 또는 CD8-양성 및 펩타이드 MHC 사량체-양성 T 세포의 집단이 형광 활성화된 세포

분류 (FACS)에 의해 정제되는, 방법.

청구항 190

제189항에 있어서, 상기 정제하는 단계가 분류된 세포의 제한적인 또는 일련의 희석에 의해 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포의 클론 집단을 생성하고, 이어서, 신속한 확장 프로토콜에 의한 개별적인 클론의 확장을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 191

제190항에 있어서, 상기 분리하는 단계가 상기 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포의 클론 집단으로부터 T 세포 수용체 (TCR)의 클로닝으로 정의되는, 방법.

청구항 192

제169항 내지 제191항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 상기 TCR 알파 및/또는 베타 유전자(들)을 서열분석하고/하거나, 파라토프 핫스팟에 의한 림프구 상호작용의 분류 (GLIPH) 분석을 수행하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 193

제191항 또는 제192항에 있어서, 상기 TCR의 클로닝이 TCR 알파 및 베타 쇄의 클로닝인, 방법.

청구항 194

제193항에 있어서, 상기 TCR 알파 및 베타 쇄가 cDNA 말단의 5'-신속한 증폭 (RACE)법을 사용하여 클로닝되는, 방법.

청구항 195

제194항에 있어서, 상기 클로닝된 TCR가 발현 벡터 내로 하위클로닝되는, 방법.

청구항 196

제195항에 있어서, 상기 발현 벡터가 상기 TCR 알파 서열 및 TCR 베타 서열 사이의 링커 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 197

제196항에 있어서, 상기 링커 도메인이 하나 이상의 펩타이드 절단 부위를 암호화하는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 198

제197항에 있어서, 상기 하나 이상의 절단 부위가 푸린 절단 부위 및/또는 P2A 절단 부위인, 방법.

청구항 199

제198항에 있어서, 상기 TCR 알파 서열 및 TCR 베타 서열이 IRES 서열에 의해 결합되는, 방법.

청구항 200

제195항 내지 제199항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 발현 벡터가 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터인, 방법.

청구항 201

제200항에 있어서, 숙주 세포가 상기 발현 벡터로 형질도입되어 상기 TCR 알파 및 베타 쇄를 발현하는 조작된 세포를 생성하는, 방법.

청구항 202

제201항에 있어서, 상기 숙주 세포가 면역 세포인, 방법.

청구항 203

제169항 내지 제202항 중 어느 한 항의 방법에 의해 생성된 TCR.

청구항 204

T 세포 결합 영역에 융합된 제203항의 TCR의 펩타이드 결합 영역을 포함하는 융합 단백질.

청구항 205

제204항에 있어서, 상기 TCR의 펩타이드 결합 영역이 상기 TCR의 알파 및 베타 가변 영역을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 206

제204항 또는 제205항에 있어서, 상기 T 세포 결합 영역이 CD3 결합 영역을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 207

제206항에 있어서, 상기 CD3 결합 영역이 항-CD3 Fab를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 208

환자를 예측하거나 환자에서 T 세포 반응을 검출하는 방법으로서, 상기 방법은: 상기 환자로부터 생물학적 샘플을 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드 또는 제11항의 분자 복합물과 접촉시킴을 포함하는, 방법.

청구항 209

제208항에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 혈액 샘플 또는 이의 분획을 포함하는, 방법.

청구항 210

제209항에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 림프구를 포함하는, 방법.

청구항 211

제210항에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 림프구를 포함하는 분획화된 샘플포함하는, 방법.

청구항 212

제208항 내지 제211항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩타이드가 고체 지지체에 결합되는, 방법.

청구항 213

제212항에 있어서, 상기 펩타이드가 상기 고체 지지체에 접합되거나, 상기 고체 지지체에 접합된 항체에 결합되는, 방법.

청구항 214

제212항에 있어서, 상기 고체 지지체가 마이크로플레이트, 비드, 유리 표면, 슬라이드, 또는 세포 배양 접시를 포함하는, 방법.

청구항 215

제208항 내지 제214항 중 어느 한 항에 있어서, T 세포 반응을 검출하는 것이 상기 T 세포 또는 TCR에 대한 상기 펩타이드의 결합을 검출하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 216

제208항 내지 제215항 중 어느 한 항에 있어서, T 세포 반응을 검출하는 것이 ELISA, ELISPOT, 또는 사량체 검정을 포함하는, 방법.

청구항 217

적어도 하나의 MHC 폴리펩타이드 및 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드를 포함하는 조성물.

청구항 218

제217항에 있어서, 상기 MHC 폴리펩타이드 및/또는 펩타이드가 검출 태그에 접합되는, 조성물.

청구항 219

제217항 또는 제218항에 있어서, 상기 MHC 폴리펩타이드 및 펩타이드가 작동적으로 결합되어 펩타이드-MHC 복합물을 형성하는, 조성물.

청구항 220

제219항에 있어서, 상기 MHC 폴리펩타이드 및 펩타이드가 펩타이드 결합을 통해 작동적으로 결합되는, 조성물.

청구항 221

제219항에 있어서, 상기 MHC 폴리펩타이드 및 펩타이드가 반 데르 발스 힘을 통해 작동적으로 결합되는, 조성물.

청구항 222

제219항 내지 제221항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 2개의 펩타이드-MHC 복합물이 서로에게 작동적으로 결합되는, 조성물.

청구항 223

제222항에 있어서, 적어도 3 또는 4개의 펩타이드-MHC 복합물이 서로에게 작동적으로 결합되는, 조성물.

청구항 224

제217항 내지 제223항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 폴리펩타이드 대 펩타이드의 평균 비가 1:1 내지 4:1인, 조성물.

청구항 225

제218항 내지 제224항 중 어느 한 항의 조성물을 T 세포를 포함하는 조성물과 접촉시키는 단계, 및 검출 태그를 검출하여 펩타이드 및/또는 MHC 폴리펩타이드와 결합된 T 세포를 검출하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 226

제225항에 있어서, 상기 방법이 펩타이드 및/또는 MHC와 결합된 T 세포의 수를 계수함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 227

제225항 또는 제226항에 있어서, 상기 T 세포를 포함하는 조성물이 암을 갖거나 암을 갖는 것으로 의심되는 환자로부터 분리되는, 방법.

청구항 228

제227항에 있어서, 상기 암이 펩타이드-특이적 암을 포함하는, 방법.

청구항 229

제227항에 있어서, 상기 펩타이드가 서열번호 1 또는 2의 펩타이드로부터 선택되는, 방법.

청구항 230

제225항 내지 제229항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 펩타이드 및/또는 MHC와 결합된 T 세포의 수를 분

류함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 231

제230항에 있어서, 상기 방법이 펩타이드 및/또는 MHC와 결합된 T 세포로부터 하나 이상의 TCR 유전자를 서열분석함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 232

제231항에 있어서, 상기 방법이 파라토프 핫스팟에 의한 림프구 상호작용의 분류 (GLIPH) 분석을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 233

컨테이너 중 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 펩타이드를 포함하는 키트.

청구항 234

제233항에 있어서, 상기 펩타이드가 약제학적 제제에 포함되는, 키트.

청구항 235

제234항에 있어서, 상기 약제학적 제제가 비경구 투여 또는 흡입을 위해 제형화되는, 키트.

청구항 236

제233항에 있어서, 상기 펩타이드가 세포 배양 배지에 포함되는, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 발명의 배경

[0002] 본 출원은 이의 전문이 본원에 참조로서 포함된 2021년 4월 19일에 출원된 미국 가특허 출원 번호 63/176,477에 대한 우선권을 주장한다.

[0003] I. 발명의 분야

[0004] 본 발명은 암 치료 분야에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] II. 배경

[0006] 입양 T 세포 요법 (ACT; 또한 "입양 세포 전달"로서 언급됨)은 흑색종을 치료하는 유의한 가능성을 나타내었지만; 불운하게도, 이러한 접근은 비-암성 조직에 대한 독성을 포함하는 제한에 의해 금지되었다. ACT는 일반적으로, 예를 들면, 암을 치료하기 위하기 위해 다수의 자가 활성화된 종양-특이적 T 세포를 환자 내에 주입함을 포함한다. ACT는 흑색종 환자에서 치료학적 임상적 반응을 야기하였다 (참조: Yee 2002; Dudley 2002; Yee 2014; Chapuis 2016). 일반적으로, 효과적인 항-종양 T 세포 반응을 개발하기 위해, 하기한 3개의 단계가 보통 요구된다: 항원-특이적 T 세포를 프라이밍 및 활성화함, 활성화된 T 세포를 종양 부위로 이동시킴, 및 항원-특이적 T 세포에 의해 종양을 인식하고 사멸시킴. 표적 항원의 선택은 효과적인 항원-특이적 T 세포의 유발에서 중요하다.

[0007] 수개의 종양-관련 항원이 흑색종 및 소수의 다른 고형 종양 악성종양에 대해서 확인되었지만, 췌장, 난소, 위, 폐, 자궁경부, 유방, 및 두경부 암에 대한 소수의 면역원성 표적이 존재한다. 이러한 흔하고 치료가 어려운 악성종양에 대한 신규한 에피토프 및 표적 항원의 확인 및 입증은 보증되어야 한다.

발명의 내용

[0008] 발명의 요지

- [0009] 본 개시내용은 암에 대해 개체를 치료하거나 백신접종하는 방법 및 조성물을 제공하여 당해 기술에서 필요한 것을 충족시킨다. 따라서, 본 개시내용의 측면은 IYNGKLFDL (서열번호 1) 또는 SSSQESVPK (서열번호 2)의 펩타이드와 적어도 70% 서열 동일성을 포함하는 단리된 펩타이드에 관한 것이다. 또한 본 개시내용의 펩타이드 및 MHC 폴리펩타이드를 포함하는 분자 복합물이 개시된다. 추가 측면은 단리된 펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물, 분자 복합물, 펩타이드를 암호화하는 핵산, 발현 벡터, 및 본 개시내용의 핵산 및 펩타이드를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다. 또한 본 개시내용의 펩타이드, 핵산, 또는 발현 벡터를 포함하는 시험관내 단리된 수지상 세포가 제공된다. 또한 본 개시내용의 하나 이상의 펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드가 고려된다.
- [0010] 추가 측면은 본 개시내용의 핵산 또는 발현 벡터를 세포, 예를 들면, 숙주 세포 내로 전달하는 것을 포함하는 세포를 제조하는 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 상기 방법은 추가로 발현된 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 단리함을 포함한다. 본 개시내용의 다른 측면은 다음을 포함하는 암-특이적 면역 이펙터 세포를 생성하는 방법에 관한 것이다: (a) 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 수득하는 단계; 및 (b) 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 본 개시내용의 펩타이드와 접촉시켜, 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포를 생성하는 단계.
- [0011] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 방법 및 조작된 T 세포를 포함하는 약제학적 조성물에 따라서 생성된 펩타이드-특이적 조작된 T 세포를 기재한다. 추가 측면은 대상자에서 암을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 본 개시내용의 펩타이드, 분자 복합물, 약제학적 조성물, 핵산, 발현 벡터, 수지상 세포, 펩타이드-특이적 T 세포, 폴리펩타이드, TCR, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상자에게 투여함을 포함한다. 또한 대상자에서 면역 반응을 자극하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 본 개시내용의 펩타이드, 분자 복합물, 약제학적 조성물, 핵산, 발현 벡터, 수지상 세포, 펩타이드-특이적 T 세포, 폴리펩타이드, TCR, 또는 융합 단백질의 유효량을 대상자에게 투여함을 포함한다. 또한 추가 측면은 펩타이드-특이적 T 세포 수용체 (TCR)를 클로닝하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 (a) 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 수득하는 단계; (b) 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 본 개시내용의 펩타이드와 접촉시켜, 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포를 생성하는 단계; (c) 펩타이드에 특이적인 면역 이펙터 세포를 정제하는 단계, 및 (d) 정제된 면역 이펙터 세포로부터 TCR 서열을 단리하는 단계를 포함한다. 또한 환자를 예측하거나 환자에서 T 세포 반응을 검출하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 환자로부터 생물학적 샘플을 본 개시내용의 펩타이드와 접촉시킴을 포함한다.
- [0012] 본 개시내용은 또한 서열번호 9의 아미노산 서열 또는 서열번호 9와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제공한다. 측면은 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 서열번호 16과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드에 관한 것이다. 또한 서열번호 23의 아미노산 서열 또는 서열번호 23과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드가 기재된다. 추가 측면은 서열번호 30의 아미노산 서열 또는 서열번호 30과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드에 관한 것이다. 추가 측면은 TCR-a 영역 및 TCR-b 영역을 포함하는 조작된 T-세포 수용체 (TCR)에 관한 것이고, 여기서, TCR-a 영역은 서열번호 9의 아미노산 서열 또는 서열번호 9와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 영역은 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 서열번호 16과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함한다. 추가 측면은 TCR-a 영역 및 TCR-b 영역을 포함하는 조작된 T-세포 수용체 (TCR)에 관한 것이고, 여기서, TCR-a 영역은 서열번호 23의 아미노산 서열 또는 서열번호 23과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 영역은 서열번호 30의 아미노산 서열 또는 서열번호 30과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함한다.
- [0013] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 TCR 및 CD3 결합 영역을 포함하는 융합 단백질에 관한 것이다. 일부 측면에서, CD3 결합 영역은 CD3-특이적 단편 항원 결합 (Fab), 단일쇄 가변 단편 (scFv), 단일 도메인 항체, 또는 단일쇄 항체를 포함한다.
- [0014] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 TCRs 및 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 뿐만 아니라 이러한 핵산, TCR, 및 폴리펩타이드를 포함하는 조성물 및 세포에 관한 것이다. 측면은 또한 본 개시내용의 핵산을 포함하는 발현 벡터를 제공한다.
- [0015] 본 개시내용의 측면은 또한 적어도 하나의 MHC 폴리펩타이드 및 본 개시내용의 펩타이드를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 개시내용의 추가 측면은 본 개시내용의 방법으로 제조된 T 세포 수용체 (TCRs) 및 T 세포 결합 영역에 융합된 TCR의 펩타이드 결합 영역을 포함하는 융합 단백질에 관한 것이다. 일부 측면에서, TCR의 펩타이드 결합 영역은 TCR의 알파 및 베타 가변 영역을 포함한다. 일부 측면에서, TCR의 펩타이드 결합 영역은 TCR의 감

마 및 델타 가변 영역을 포함한다. 일부 측면에서, T 세포 결합 영역은 CD3 결합 영역을 포함한다. 일부 측면에서, CD3 결합 영역은 항-CD3 Fab를 포함한다. 일부 측면에서, 펩타이드 결합 영역 및/또는 T 세포 결합 영역은 항원 결합 단편, 예를 들면, scFv, Fab, 단일쇄 항체 또는 TCR, TCR 모방 항체, 나노바디, 카멜리드, 압타머, 및/또는 DARPIN일 수 있다.

[0016] 또한 추가 측면은 본 개시내용의 펩타이드에 결합되거나 펩타이드-MHC 복합물에 결합된 펩타이드-특이적 결합 분자에 관한 것이다. 예시적인 결합 분자는 항체, TCR 모방 항체, scFvs, 나노바디, 카멜리드, 압타머, 및 DARPINs를 포함한다. 관련된 방법은 적어도 하나의 MHC 폴리펩타이드 및 본 개시내용의 펩타이드를 포함하는 조성물을 T 세포를 포함하는 조성물과 접촉하고, 검출 태그를 검출하여 T 세포를 결합된 펩타이드 및/또는 MHC 폴리펩타이드로 검출함을 포함하는 방법을 제공한다. 추가 측면은 본 개시내용의 펩타이드, 핵산, 발현 벡터, 또는 조성물을 포함하는 키트에 관한 것이다.

[0017] 일부 측면에서, 펩타이드는 서열번호 1 또는 2의 펩타이드의 적어도 6개의 인접한 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 펩타이드는 서열번호 1 또는 2의 펩타이드의 적어도 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9개의 인접한 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 펩타이드는 서열번호 1 또는 서열번호 2를 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 측면에서, 펩타이드는 13개의 아미노산 길이가거나 더 짧다. 일부 측면에서, 펩타이드는 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개의 아미노산 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위)을 적어도, 최대, 정확히 갖거나 이들로 이루어진다. 특정 측면에서, 펩타이드는 9개의 아미노산으로 이루어진다. 일부 측면에서, 펩타이드는 면역원성이다. 용어 면역원성은 면역 반응, 예를 들면, 보호 면역 반응의 생성을 언급할 수 있다. 일부 측면에서, 펩타이드는 변형된다. 일부 측면에서, 변형은 분자로의 접합을 포함한다. 분자는 항체, 지질, 보조제, 또는 검출 모이어티 (tag)일 수 있다. 일부 측면에서, 펩타이드는 서열번호 1 또는 2의 펩타이드와 100% 서열 동일성을 포함한다. 본 개시내용의 펩타이드는 또한 서열번호 1 또는 2의 펩타이드와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 것들을 포함한다. 본 개시내용의 펩타이드는 서열번호 1 또는 2의 펩타이드에 비해 1, 2, 또는 3개의 치환을 가질 수 있다. 일부 측면에서, 펩타이드는 서열번호 1 또는 2의 펩타이드에 비해 적어도 또는 최대 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 치환을 갖는다.

[0018] 본 개시내용의 폴리펩타이드 또는 TCR은 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 T 세포 수용체 알파 (TCR-a) 가변 영역을 포함한다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 TCR-a 가변 및 불변 영역을 포함한다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 신호 펩타이드를 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 동일한 폴리펩타이드 상에 TCR-a 가변 영역 및 TCR-b 가변 영역을 포함한다.

[0019] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 9의 아미노산 서열 또는 서열번호 9와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항원 결합 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드에 관한 것이다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 각각 서열번호 7 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖거나, 각각 서열번호 7 및 서열번호 8과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 CDR1 및/또는 CDR2을 포함하는 가변 영역을 포함한다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 각각 서열번호 7 및 서열번호 8과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산을 갖는 CDR1 및/또는 CDR2를 포함하는 가변 영역을 포함한다. 일부 측면에서, 가변 영역은 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 서열번호 5와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 서열번호 5와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가변 영역을 포함한다. 일부 측면에서, 신호 펩타이드는 서열번호 6의 아미노산 서열 또는 서열번호 6과 적어도 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 서열번호 6과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 신호 펩타이드를 포함한다.

[0020] 본 개시내용은 또한 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 서열번호 16과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86,

77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 신호 펩타이드를 포함한다.

[0023]

본 개시내용은 또한 TCR-a 영역 및 TCR-b 영역을 포함하는 조작된 T-세포 수용체 (TCR)를 기재하고, 여기서, TCR-a 영역은 서열번호 9의 아미노산 서열 또는 서열번호 9와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 영역은 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 서열번호 16과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, TCR-a 영역은 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 7과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하고/하거나, TCR-b 영역은 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 14와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 7과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 14와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, TCR-a 영역은 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 8과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하고/하거나, TCR-b 영역은 서열번호 15의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 15와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 8과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 15와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, TCR-a 영역의 CDR1, CDR2, 및 CDR3은 각각 서열번호 7, 8, 및 9의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서, TCR-b 영역의 CDR1, CDR3, 및 CDR3은 각각 서열번호 14, 15, 및 16의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, TCR-a 영역은 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 서열번호 5와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, TCR-b 영역은 서열번호 12의 아미노산 서열 또는 서열번호 12와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 5와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 12와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0024]

본 개시내용은 또한 TCR-a 영역 및 TCR-b 영역을 포함하는 조작된 T-세포 수용체 (TCR)를 기재하고, 여기서, TCR-a 영역은 서열번호 23의 아미노산 서열 또는 서열번호 23과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 영역은 서열번호 30의 아미노산 서열 또는 서열번호 30과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, TCR-a 영역은 서열번호 21의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 21과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하고/하거나, TCR-b 영역은 서열번호 28의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 28과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 21과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 28과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함한다. 일부 측면에서, TCR-a 영역은 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 22와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하고/하거나, TCR-b 영역은 서열번호 29의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 29와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 22와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 29와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함한다. 일부 측면에서, TCR-a 영역의 CDR1, CDR2, 및 CDR3은 각각 서열번호 21, 22, 및 23의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서, TCR-b 영역의 CDR1, CDR3, 및 CDR3은 각각 서열번호 28, 29, 및 30의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, TCR-a 영역은 서열번호 19의 아미노산 서열 또는 서열번호 19와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, TCR-b 영역은 서열번호 26의 아미노산 서열 또는 서열번호 26과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 19와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, TCR은 서열번호 26과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0025]

본 개시내용의 측면은 TCR-a 영역 및/또는 TCR-b 영역을 암호화하는 핵산에 관한 것이고, 여기서, TCR-a 영역은 서열번호 9의 아미노산 서열 또는 서열번호 9와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 영역은 서열번호 16의 아미노산 서열 또는 서열번호 16과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 9와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR3을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 16과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR3을 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 7과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 14와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 7과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 14와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 8과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 15의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 15와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 8과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 15와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 5의 아미노산 서열 또는 서열번호 5와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 가변 영역 및/또는 서열번호 12의 아미노산 서열 또는 서열번호 12와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 가변 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 5와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 가변 영역 및/또는 서열번호 12과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 가변 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 4의 아미노산 서열 또는 서열번호 4와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 11의 아미노산 서열 또는 서열번호 11과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 영역 쌍을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 4와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 11과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 3, 10, 및/또는 이의 단편을 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 3, 10, 및/또는 이의 단편과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0026]

본 개시내용의 측면은 TCR-a 영역 및/또는 TCR-b 영역을 암호화하는 핵산에 관한 것이고, 여기서, TCR-a 영역은 서열번호 23의 아미노산 서열 또는 서열번호 23과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하고, TCR-b 영역은 서열번호 30의 아미노산 서열 또는 서열번호 30과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 23과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR3을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 30과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CDR3을 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 21의 아미노산 서열 또는 서열번호 21과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 28의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 28과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 21과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 28과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 22와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 29의 아미노산 서열을 갖거나 서열번호 29와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 22와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 29와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 포함하는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 19의 아미노산 서열 또는 서열번호 19와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 가변 영역 및/또는 서열번호 26의 아미노산 서열 또는 서열번호 26과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 가변 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 19와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 가변 영역 및/또는 서열번호 26과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 가변 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 18의 아미노산 서열 또는 서열번호 18과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 25의 아미노산 서열 또는 서열번호 25와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 영역 전체를 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 18과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 서열번호 25와 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 TCR-b 영역을 암호화한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 17, 24, 및/또는 이의 단편을 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 17, 24, 및/또는 이의 단편과 적어도 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0027] 본 개시내용의 핵산은 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 TCR-a 영역 및/또는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 TCR-b 영역을 암호화할 수 있다. 일부 측면에서, 핵산은 동일한 핵산 상 적어도 하나의 TCR-a (TRA) 및 적어도 하나의 TCR-b (TRB) 유전자를 포함한다. 핵산은 또한 본 개시내용의 TCR 및 두번째 항원-결합 영역을 포함하는 이-특이적 폴리펩타이드를 암호화할 수 있다. 두번째 항원 결합 영역은, 예를 들면, scFv, 단일쇄 항체, 단일 도메인 항체, 또는 디아바디일 수 있다. 일부 측면에서, 핵산은 폴리시스트론이다. 일부 측면에서, 핵산은 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 또는 2A 절단가능한 링커를 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 TCR-a 및/또는 TCR-b 유전자를 암호화하는 cDNA를 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 추가로 CD3 결합 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 암호화한다. 일부 측면에서, CD3 결합 영역은 CD3-특이적 단편 항원 결합 (Fab), 단일쇄 가변 단편 (scFv), 단일 도메인 항체, 또는 단일쇄 항체를 포함한다. 일부 측면에서, 벡터는 핵산의 발현을 지시하는 프로모터를 포함한다. 일부 측면에서, 프로모터는 뮤린 줄기 세포 바이러스 (MSCV) 프로모터를 포함한다. 일부 측면에서, 벡터는 TCR-a 및 TCR-b 유전자를 포함한다. 본 개시내용의 핵산은 또한 추가로 cDNAs (상보 DNA)로 정의될 수 있다.

[0028] 또한 본 개시내용의 핵산 또는 벡터를 세포 내로 전달함을 포함하는 조작된 세포를 제조하는 방법이 개시된다. 일부 측면에서, 상기 방법은 추가로 세포를 배지에서 배양하고, 세포의 분열을 가능하게 하는 조건에서 세포를 인큐베이팅하고, 세포를 선별하고/하거나, 세포를 냉동하는 것을 포함한다.

[0029] 일부 측면에서, 본 개시내용의 세포는 줄기 세포, 선조 세포, 면역 세포, 또는 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 일부 측면에서, 세포는 조혈 줄기 또는 선조 세포, T 세포, 중간엽 줄기 세포 (MSCs)로부터 분화된 세포 또는 유도 다능성 줄기 세포 (iPSC)를 포함한다. 일부 측면에서, 세포는 말초혈액 단핵 세포 (PBMCs)로부터 분리 또는 유도된다. 일부 측면에서, T 세포는 세포독성 T 림프구 (CTL), $CD8^+$ T 세포, $CD4^+$ T 세포, 불변 NK T (iNKT) 세포, 감마-델타 T 세포, NKT 세포, 조절 T 세포, 또는 $CD4^+$ T 조절 세포를 포함한다. 일부 측면에서, 세포는 암 환자로부터 분리된다. 일부 측면에서, 조성물은 무-혈청, 미코플라스마-비함유, 내독소-비함유, 및/또는 멸균성인 것으로 측정되었다.

[0030] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 비경구 투여, 정맥내 주사, 근육내 주사, 흡입, 또는 피하 주사를 위해 제형화된다. 일부 측면에서, 펩타이드는 리포솜, 지질-함유 나노입자에, 또는 지질-기반 담체에 포함된다. 일부 측면에서, 약제학적 제제는 주사 또는 비강 스프레이로서 흡입을 위해 제형화된다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 조성물은 백신으로 제형화된다. 일부 측면에서, 조성물은 추가로 보조제를 포함한다.

[0031] 본 개시내용의 수지상 세포에 관한 일부 측면에서, 수지상 세포는 성숙 수지상 세포를 포함한다. 일부 측면에서, 세포는 HLA-A 유형을 갖는 세포이다. HLA는 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C일 수 있다. 일부 측면에서, 세포는 HLA-A24 유형이다. 일부 측면에서, 세포는 HLA-A11 유형이다. 일부 측면에서, 세포는 HLA-A01, HLA-A02, HLA-A11, HLA-A24, HLA-B07, HLA-B08, HLA-B15, 또는 HLA-B40이다.

[0032] 일부 측면에서, 상기 방법은 추가로 발현된 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 분리함을 포함한다. 일부 측면에서, T 세포는 $CD8^+$ T 세포를 포함한다. 일부 측면에서, T 세포는 $CD4^+$ T 세포, Th1, Th2, Th17, Th9, 또는 Tfh T 세포, 세포독성 T 세포, 기억 T 세포, 중추 기억 T 세포, 또는 이펙터 기억 T 세포이다.

- [0033] 본 개시내용의 방법 측면에서, 접촉은 추가로 항원 제시 세포 (APCs), 인공 항원 제시 세포 (aAPCs), 또는 인공 항원 제시 표면 (aAPSS)을 갖는 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 공-배양함으로 정의되고; 여기서, APCs, aAPCs, 또는 aAPSS는 이들의 표면에 펩타이드를 제시한다. 일부 측면에서, APCs는 수지상 세포이다.
- [0034] 본 개시내용의 측면에서, 면역 이펙터 세포는 T 세포, 말초 혈액 림프구, 자연 킬러 (NK) 세포, 불변 NK 세포, 또는 NKT 세포이다. 면역 이펙터 세포는 중간엽 줄기 세포 (MSC) 또는 유도 다능성 줄기 (iPS) 세포로부터 분화된 것일 수 있다. T 세포 측면은 T 세포를 포함하고, $CD8^+$ T 세포, $CD4^+$ T 세포, 또는 $\gamma \delta$ T 세포로서 추가로 정의된다. 특정 측면에서, T 세포는 세포독성 T 림프구 (CTLs)이다.
- [0035] 일부 측면에서, 본 개시내용의 방법에 기재된 대상자는 사람이다. 일부 측면에서, 대상자는 실험실 동물이다. 일부 측면에서, 대상자는 마우스, 래트, 돼지, 말, 토끼, 또는 기니피그이다. 당해 측면은 또한 적어도 하나의 두번째 치료학적 제제를 추가 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 두번째 치료학적 제제는 항-암제이다. 본 개시내용의 방법에서 정의된 치료는, 종양 크기를 감소시킴; 전반적 생존율을 증가시킴; 암의 재발 위험을 감소시킴; 진행 위험을 감소시킴; 및/또는 무진행 생존, 비재발성 생존, 및/또는 비재발생존의 가능성을 증가시킴 중 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0036] 본 개시내용의 방법에서 생물학적 샘플은 혈액 샘플 또는 이의 분획을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 생물학적 샘플은 림프구를 포함한다. 일부 측면에서, 생물학적 샘플은 림프구를 포함하는 분획화된 샘플을 포함한다. 일부 측면에서, 생물학적 샘플은 본원에 기재된 것이다.
- [0037] 본 개시내용의 TCR은 추가로 단일-쇄 TCR로 정의될 수 있다. 일부 측면에서, TCR-a 및 TCR-b 영역은 동일한 폴리펩타이드 상에 있다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 추가로 재조합으로 정의된다. 일부 측면에서, TCR-a 및 TCR-b 영역은 상이한 폴리펩타이드 상에 존재한다. 또한 본 개시내용의 TCR을 포함하는 폴리펩타이드가 제공된다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 이-특이적일 수 있다. 예를 들면, 폴리펩타이드는 TCR로부터 하나의 펩타이드 특이성 및 또다른 항원 결합 영역으로부터 두번째 특이성을 가질 수 있다. 추가 항원 결합 영역은, 예를 들면, 또다른 TCR, scFv, 디아바디, 또는 단일쇄 항체일 수 있다.
- [0038] 일부 측면에서, 본 개시내용의 조성물은 MHC 폴리펩타이드 및 본 개시내용의 펩타이드를 포함하고, MHC 폴리펩타이드 및/또는 펩타이드는 검출 태그에 접합된다. 이와 같이 적합한 검출 태그는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 방사성동위원소, 형광색소, 화학발광 화합물, 염료, 및 효소를 포함하는 단백질을 포함한다. 태그는 간단히 검출될 수 있거나, 정량화될 수 있다. 간단히 검출되는 반응은 일반적으로 이의 존재를 단지 확인하는 반응을 포함하는 반면, 정량화되는 반응은 일반적으로 정량화가능한 (예를 들면, 수치적으로 보고가능한) 값, 예를 들면, 강도, 편광, 및/또는 다른 성질을 갖는 반응을 포함한다. 발광 또는 형광 검정에서, 검출가능한 반응은 직접적으로 결합에 실제 연루되는 검정 성분과 회합된 발광단 또는 형광단을 사용하여, 또는 간접적으로 또다른 (예를 들면, 리포터 또는 지시자) 성분과 회합된 발광단 또는 형광단을 사용하여 생성될 수 있다. 신호를 생성하는 발광 태그의 예는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 생물발광 및 화학발광을 포함한다. 적합한 형광 태그의 예는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 플루오레세인, 로다민, 테트라메틸로다민, 에오신, 에리트로신, 쿠마린, 메틸-쿠마린, 피렌, 말라카이트 그린, 스틸벤, 루시퍼 엘로우, 케스케이드 블루.TM., 및 텍사스 레드를 포함한다. 다른 적합한 광학 염료는 문헌에 기재되어 있다 [참조: the Haugland, Richard P. (1996) Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals (6.sup.th ed.)]. 검출 태그는 또한 스트렙타비딘 또는 이의 결합 파트너, 비오틴을 포함한다.
- [0039] 일부 측면에서, MHC 폴리펩타이드 및 펩타이드는 작동적으로 결합된다. 용어 "작동적으로 결합된"은 2개의 성분이 조합되거나 조합가능하여 복합물을 형성하는 상황을 언급한다. 예를 들면, 성분은 동일한 폴리펩타이드 상에, 예를 들면, 융합 단백질에서 공유 부착될 수 있고/있거나, 성분은 서로에 대해 특정한 정도의 결합 친화도, 예를 들면, 반 데르 발스 힘을 통해 발생하는 결합 친화도를 가질 수 있다. 따라서, 본 개시내용의 측면은 MHC 폴리펩타이드 및 펩타이드는 펩타이드 결합을 통해 작동적으로 결합된다는 것에 관한 것이다. 추가 측면은 여기서, MHC 폴리펩타이드 및 펩타이드는 반 데르 발스 힘을 통해 작동적으로 결합된다는 것에 관한 것이다. 펩타이드-MHC는 작동적으로 결합하여 pMHC 복합물을 형성할 수 있다. 일부 측면에서, 적어도 2개의 pMHC 복합물은 함께 작동적으로 결합된다. 다른 측면은, 서로에게 작동적으로 결합되는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 pMHC 복합물을 포함하거나, 적어도 포함하거나, 최대를 포함한다. 일부 측면에서, 적어도 2개의 MHC 폴리펩타이드는 하나의 펩타이드에 결합된다. 다른 측면에서, MHC 폴리펩타이드 대 펩타이드의 평균 비는 1:1 내지 4:1이다. 일부 측면에서, 비 또는 평균 비는 적어도, 최대, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 대 약 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위)이다.

- [0040] 본 개시내용의 일부 측면에서, 펩타이드는 MHC와 복합화된다. 일부 측면에서, MHC는 HLA-A 유형을 포함한다. MHC는 추가로 HLA-A3 또는 HLA-A11 유형으로 정의될 수 있다. 펩타이드는 수지상 세포, 림프모구 세포, 말초혈액 단핵 세포 (PBMCs), 인공 항원 제시 세포 (aAPC) 또는 인공 항원 제시 표면 상에 적재될 수 있다. 일부 측면에서, 인공 항원 제시 표면은 표면에 접합 또는 결합된 MHC 폴리펩타이드를 포함한다. 예시적인 표면은 비드, 마이크로플레이트, 유리 슬라이드, 또는 세포 배양 플레이트를 포함한다.
- [0041] 본 개시내용의 방법은 펩타이드 및/또는 MHC와 결합된 T 세포의 수를 계수함을 추가로 포함할 수 있다. T 세포를 포함하는 조성물은 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 환자로부터 단리될 수 있다. 암은 서열번호 1 또는 2의 펩타이드 또는 본 개시내용의 펩타이드를 갖는 펩타이드-특이적 암을 포함할 수 있다. 대상자는 암을 갖는 것으로 진단 및/또는 결정된 대상자일 수 있다. 대상자 또는 환자는 또한 펩타이드-특이적 암, 예를 들면, 본 개시내용의 펩타이드 또는 서열번호 1 또는 2의 펩타이드를 갖는 것으로 특성화되는 환자일 수 있다. 일부 측면에서, 상기 방법은 추가로 펩타이드 및/또는 MHC와 결합된 T 세포의 수를 분류함을 포함한다. 본 개시내용의 방법은 또한 펩타이드 및/또는 MHC와 결합된 T 세포로부터 하나 이상의 TCR 유전자를 서열분석함을 포함하거나 추가로 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 상기 방법은 TCR, 예를 들면, 본 개시내용의 펩타이드에 결합한 TCR로부터 TCR 알파 및/또는 베타 유전자(들)를 서열분석함을 포함하거나 추가로 포함한다. 상기 방법은 또한 파라토프 핫스팟에 의한 림프구 상호작용의 분류 (GLIPH; grouping of lymphocyte interactions by paratope hotspots) 분석을 포함하거나 추가로 포함할 수 있다. 이는 본원에 참조로서 포함된 문헌[참조: Glanville *et al.*, Nature. 2017 Jul 6; 547(7661): 94-98]에 추가로 기재되어 있다.
- [0042] 본 개시내용의 조성물은 무-혈청, 미코플라스마-비함유, 내독소-비함유, 및/또는 멸균성일 수 있다. 상기 방법은 추가로 본 개시내용의 세포를 배지에서 배양하고, 세포의 분열을 가능하게 하는 조건에서 세포를 인큐베이팅하고, 세포를 선별하고/하거나, 세포를 냉동함을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 상기 방법은 추가로 본 개시내용의 세포로부터 발현된 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 단리함을 포함한다.
- [0043] 본 개시내용의 방법은 하나 이상의 세포 성질을 위해 수지상 세포를 선별함을 포함하거나 추가로 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 상기 방법은 추가로 세포를 하나 이상의 사이토킨 또는 성장 인자와 접촉시킴을 포함한다. 하나 이상의 사이토킨 또는 성장 인자는 GM-CSF를 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 세포 성질은 CD86, HLA, 및 CD14 중 하나 이상의 세포 표면 발현을 포함한다. 일부 측면에서, 수지상 세포는 CD34+ 조혈 줄기 또는 선조 세포로부터 유도된다.
- [0044] 본 개시내용의 방법에서 접촉 단계는 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 항원 제시 세포 (APCs)로 공-배양함으로써 정의될 수 있고, 여기서, APCs는 이들의 표면에 펩타이드를 제시한다. 특정 측면에서, APCs는 수지상 세포이다. 일부 측면에서, 수지상 세포는 말초혈액 단핵구 (PBMC)로부터 유도된다. 일부 측면에서, 수지상 세포는 PBMC로부터 단리된다. 일부 측면에서, 수지상 세포는 DC가 유도된 세포이고, 백혈구성분채집술로부터 단리된다.
- [0045] 본 개시내용의 측면에서 펩타이드-MHC (pMHC) 복합물은 본 개시내용의 펩타이드를 MHC 복합물과 접촉하여 제조할 수 있다. 일부 측면에서, 펩타이드는 세포에서 발현되고, 내인 MHC 복합물에 결합하여 pMHC을 형성한다. 일부 측면에서, 펩타이드 교환을 사용하여 pMHC 복합물을 제조한다. 예를 들면, 절단가능한 펩타이드, 예를 들면, 광절단가능한 펩타이드는 MHC에 결합하고 안정시키는 것으로 설계될 수 있다. 펩타이드의 절단 (예를 들면, 광절단가능한 펩타이드의 조사에 의한)은 펩타이드를 HLA 복합물로부터 해리하고, UV 노출이 "구출(rescue) 펩타이드"의 존재하에 수행되지 않는 한, 신속하게 봉쇄하는 빈(empty) HLA 복합물을 야기한다. 따라서, 본 개시내용의 펩타이드는 펩타이드 교환 절차에서 "구출 펩타이드"로서 사용될 수 있다. 본 개시내용의 추가 측면은 본 개시내용의 펩타이드를 포함하는 pMHC 복합물에 관한 것이다. pMHC 복합물은 고체 지지체에 작동적으로 결합될 수 있거나, 검출가능한 모이어티, 예를 들면, 형광 분자, 방사성동위원소, 또는 항체에 부착될 수 있다. 본 개시내용의 추가 측면은, 함께 작동적으로 결합된 최대 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 펩타이드-MHC 분자를 적어도 포함하거나 포함하는 펩타이드-MHC 다량체 복합물에 관한 것이다. 결합은, 예를 들면, 펩타이드 결합을 통한 공유 결합, 또는 비-공유 결합일 수 있다. 일부 측면에서, pMHC 분자는 비오틴 분자에 결합될 수 있다. 이러한 pMHC 분자는 결합을 통해 스트렙타비딘 분자에 다량체화될 수 있다. pMHC 다량체를 사용하여 조성물 내에 또는 조직 내에 있는 항원-특이적 T 세포 또는 TCR 분자를 검출할 수 있다. 일부 측면에서, 다량체를 사용하여 동일 계내 또는 생검 샘플에서 펩타이드-특이적 T 세포를 검출할 수 있다. 추가 측면에서, 다량체는 고체 지지체에 결합되거나, 고체 지지체, 예를 들면, 어레이 또는 슬라이드 상에 침착될 수 있다. 이어서, 세포를 슬라이드에 첨가하여, pMHC 다량체 및 세포 사이의 결합 검출을 수행할 수 있다. 따라서, 본 개시내용의 pMHC 분자 및 다량체를 사용하여 대상자에서 암을 검출 및 진단하거나, 암을 갖는 개체에서 면역 반응을 측정할 수 있다.

- [0046] 본 개시내용의 일부 측면에서, 본원에 기재된 방법에 정의된 입수는, 말초혈액 단핵 세포 (PBMCs)로부터 면역 이펙터 세포의 출발 집단을 분리함을 포함한다. 일부 측면에서, 면역 이펙터 세포의 출발 집단은 대상자로부터 입수된다. 대상자는 암, 예를 들면, 펩타이드-특이적 암을 갖는 대상자일 수 있다. 일부 측면에서, 대상자는 본 개시내용의 펩타이드를 발현하는 암을 갖는 것으로 결정되었다. 일부 측면에서, 암은 백혈병, 폐 암, 또는 피부 암을 포함한다. 암은 또한 고형 종양으로 추가로 정의될 수 있다. 특정 측면에서, 암은 폐 암을 포함한다. 폐 암은 샘암종 또는 편평세포 암종을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 방법은 공-배양 전에 펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 핵산을 수지상 세포 내로 도입함을 포함하거나 추가로 포함한다. 펩타이드의 도입은 수지상 세포를 펩타이드를 암호화하는 핵산으로 형질감염 또는 감염시켜 펩타이드를 수지상 세포로 인큐베이션하여 수행될 수 있다. 일부 측면에서, 펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 핵산은 전기천공에 의해 도입된다. 핵산 전달의 다른 방법은 당해 기술에 공지되어 있고, 예를 들면, 리포펙션, 인산칼슘 형질감염, DEAE-덱스트란을 사용한 형질감염, 미량주사, 및 바이러스-매개된 형질도입이다. 일부 측면에서, 펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 핵산은 펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 핵산을 수지상 세포 배양 배지에 첨가하여 도입된다. 일부 측면에서, 면역 이펙터 세포는 펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 핵산이 도입된 수지상 세포의 두번째 집단과 함께 공-배양된다. 일부 측면에서, CD4-양성 또는 CD8-양성 및 펩타이드 MHC 사랑체-양성 T 세포의 집단은 공-배양 후 면역 이펙터 세포로부터 정제된다. 일부 측면에서, CD4-양성 또는 CD8-양성 및 펩타이드 MHC 사랑체-양성 T 세포의 집단은 형광 활성화된 세포 분류 (FACS)로 정제된다. 일부 측면에서, 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포의 클론 집단은 제한적인 또는 일련의 희석, 이어서, 신속한 확장 프로토콜에 의한 개별적인 클론의 확장에 의해 생성된다.
- [0047] 일부 측면에서, 정제는 분류된 세포의 제한적인 또는 일련의 희석에 의한 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포의 클론 집단의 생성, 이어서, 신속한 확장 프로토콜에 의한 개별적인 클론의 확장을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 방법은 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포의 클론 집단으로부터 T 세포 수용체 (TCR)의 클로닝을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 방법에서 용어 단리는 펩타이드-특이적 면역 이펙터 세포의 클론 집단으로부터 T 세포 수용체 (TCR)의 클로닝으로 정의된다. 일부 측면에서, TCR의 클로닝은 TCR 알파 및 베타 쇄의 클로닝이다. 일부 측면에서, TCR은 cDNA 말단의 5'-신속한 증폭 (RACE; Rapid amplification of cDNA ends)법을 사용하여 클로닝된다. 일부 측면에서, TCR 알파 및 베타 쇄는 cDNA 말단의 5'-신속한 증폭 (RACE)법을 사용하여 클로닝된다. 일부 측면에서, 클로닝된 TCR은 발현 벡터로 하위클로닝된다. 일부 측면에서, 발현 벡터는 TCR 알파 서열 및 TCR 베타 서열 사이의 링커 도메인을 포함한다. 일부 측면에서, 발현 벡터는 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터이다. 벡터는 또한 본원에 기재된 발현 벡터일 수 있다. 링커 도메인은 하나 이상의 펩타이드 절단 부위를 암호화하는 서열을 포함할 수 있다. 하나 이상의 절단 부위는 퓨린 절단 부위 및/또는 P2A 절단 부위일 수 있다. 일부 측면에서, TCR 알파 서열 및 TCR 베타 서열은 IRES 서열에 의해 결합된다.
- [0048] 본 개시내용의 숙주 세포는 발현 벡터와 함께 형질도입되어 TCR 알파 및/또는 베타 쇄를 발현하는 조작된 세포를 생성할 수 있다. 일부 측면에서, 숙주 세포는 면역 세포이다. 면역 세포는 T 세포일 수 있고, 조작된 세포는 조작된 T 세포로서 언급될 수 있다. T 세포는 본원에 기재된 T 세포의 유형, 예를 들면, CD8⁺ T 세포, CD4⁺ T 세포, 또는 $\gamma\delta$ T 세포일 수 있다. 일부 측면에서, 면역 이펙터 세포의 출발 집단은 암 또는 펩타이드-특이적 암을 갖는 대상자로부터 입수되고, 숙주 세포는 대상자에 대해 동종이형 또는 자가이다. 일부 측면에서, 펩타이드-특이적 T 세포는 자가 또는 동종이형이다. 일부 측면에서, CD4-양성 또는 CD8-양성 및 펩타이드 MHC 사랑체-양성 조작된 T 세포의 집단은 형질도입된 숙주 세포로부터 정제된다. 일부 측면에서, 펩타이드-특이적 조작된 T 세포의 클론 집단은 제한적인 또는 일련의 희석, 이어서, 신속한 확장 프로토콜에 의한 개별적인 클론의 확장에 의해 생성된다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 방법에서 정제는 공-배양 후 면역 이펙터 세포로부터 CD4-양성 또는 CD8-양성 및 펩타이드 MHC 사랑체-양성 T 세포의 집단을 정제하는 것으로 정의된다.
- [0049] 일부 측면에서, 펩타이드는 고체 지지체에 결합된다. 일부 측면에서, 펩타이드는 고체 지지체에 접합되거나, 고체 지지체에 접합되는 항체에 결합된다. 일부 측면에서, 고체 지지체는 마이크로플레이트, 비드, 유리 표면, 슬라이드, 또는 세포 배양 접시를 포함한다. 일부 측면에서, 고체 지지체는 나노유체 칩을 포함한다. 일부 측면에서, T 세포 반응을 검출하는 것은 T 세포 또는 TCR에 대한 펩타이드의 결합을 검출하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, T 세포 반응을 검출하는 것은 ELISA, ELISPOT, 또는 사랑체 검정을 포함한다.
- [0050] 본 개시내용의 키트 측면은 컨테이너에 본 개시내용의 펩타이드를 포함할 수 있다. 펩타이드는 약제학적 제제에 포함될 수 있다. 일부 측면에서, 약제학적 제제는 비경구 투여 또는 흡입을 위해 제형화된다. 일부 측면에서,

펩타이드는 세포 배양 배지에 포함된다.

- [0051] 본 출원에 걸쳐서, 용어 "약"은 값이 값을 측정하기 위해 이용되는 장치 또는 방법에 대해 오차의 표준 편차를 포함한다는 것을 지시하기 위해 세포 및 분자 생물학 분야에서 이의 평범하고 일반적인 의미에 따라 사용된다.
- [0052] 단어 하나 ("a" 또는 "an")의 사용은, 용어 "포함하는(comprising)"과 함께 사용되는 경우, "하나"를 의미할 수 있으나, 이는 또한 "하나 이상", "적어도 하나", 및 "하나 또는 하나 초과"의 의미와 일치한다.
- [0053] 본원에 사용된 용어 "또는" 및 "및/또는"은 다중 성분을 조합하거나 서로 배타적으로 기술하기 위해 이용된다. 예를 들면, "x, y, 및/또는 z"는 "x" 단독, "y" 단독, "z" 단독, "x, y, 및 z", "(x 및 y) 또는 z", "x 또는 (y 및 z)", 또는 "x 또는 y 또는 z"를 언급할 수 있다. x, y, 또는 z가 실시형태 또는 측면으로부터 특히 배제될 수 있다는 것을 특히 고려한다.
- [0054] 단어 "포함하는(comprising)" (및 "포함한다(comprise)" 및 "포함한다(comprises)"와 같은 포함하는의 임의의 형태), "갖는(having)" (및 "갖다(have)" 및 "갖다(has)"와 같은 갖는의 임의의 형태), "포함하는(including)" (및 "포함한다(includes)" 및 "포함한다(include)"와 같은 포함하는의 임의의 형태), "를 특징으로 하는(characterized by)" (및 "를 특징으로 하는(characterized as)"와 같은 특징으로 하는의 임의의 형태), 또는 "포함하는(containing)" (및 "포함한다(contains)" 및 "포함한다(contain)"와 같은 포함하는의 임의의 형태)는 포괄적이거나 개방-말단이고, 추가의 언급되지 않은 요소 또는 방법 단계를 배제하지 않는다.
- [0055] 이들의 사용을 위한 조성물 및 방법은 본 명세서에 걸쳐서 개시된 성분 또는 단계 중 어느 것을 "포함하거나(comprise)", "이로서 본질적으로 이루어지거나(consist essentially of)", 또는 "이로서 이루어질 수 있다(consist of)". 구절 "로 이루어진(consisting of)"은 명시되지 않은 임의의 요소, 단계, 또는 성분을 배제한다. 구절 "로 본질적으로 이루어진(consisting essentially of)"은 기재된 주제의 범위를 명시된 물질 또는 단계 및 이의 기본적인 신규한 특성에 실제로 영향을 주지 않는 것들로 제한한다. 용어 "포함하는(comprising)"의 문맥에서 기재된 실시형태 및 측면은 또한 용어 "로 이루어진(consisting of)" 또는 "로 본질적으로 이루어진(consisting essentially of)"의 문맥을 구현할 수 있다는 것으로 고려한다.
- [0056] 치료학적, 진단적, 또는 생리학적 목적의 정황 또는 효과에서 임의의 방법은 또한 기재된 치료학적, 진단적, 또는 생리학적 목적의 정황 또는 효과를 성취 또는 실행하기 위한 본원에 논의된 임의의 화합물, 조성물, 또는 제제"의 용도"와 같은 "용도" 청구항 표현으로 기재될 수 있다.
- [0057] 하나 이상의 순서 또는 조성물의 사용은 본원에 기재된 방법 중 어느 것을 기초로 하여 이용될 수 있다. 다른 실시형태 및 측면은 본 출원에 걸쳐서 논의된다. 본 개시내용의 하나의 측면에 대해 논의된 임의의 실시형태 또는 측면은 또한 본 개시내용의 다른 측면에 적용되고, 이의 반대도 가능하다.
- [0058] 본 발명의 하나의 실시형태 또는 측면에 대해 논의된 임의의 제한사항은 본 발명의 임의의 다른 실시형태 또는 측면에 적용될 수 있음을 특히 고려한다. 추가로, 본 발명의 임의의 조성물은 본 발명의 임의의 방법에서 사용될 수 있고, 본 발명의 임의의 방법은 본 발명의 임의의 조성물을 제조 또는 이용하기 위해 사용될 수 있다. 실시예에 기재된 실시형태의 측면은 또한 상이한 실시예에서 그외에 다른 곳에서 논의된 실시형태, 본 출원에서 그외에 다른 곳에서, 예를 들면, 본 발명의 요지, 실시형태의 상세한 설명, 청구범위, 및 도면 범례의 설명에서 구현될 수 있는 실시형태이다.
- [0059] 본 발명의 다른 목적, 특성 및 이점은 하기한 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 상세한 설명 및 구체적인 실시예는, 본 발명의 구체적인 실시형태 및 측면을 지시하면서, 본 발명의 취지 및 범위내에서 다양한 변경 및 변형이 본원의 상세한 설명으로부터 당해 기술분야의 숙련자에게 명백해질 수 있기 때문에, 단지 설명하는 방식으로 제공된다는 것을 이해하여야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0060] 도면의 간단한 설명

하기한 도면은 본 명세서의 일부를 형성하고, 본 발명의 특정 측면을 추가로 예시하기 위해 포함된다. 본 발명은 본원에 제시된 특정 실시형태의 상세한 설명과 함께 이들 중 하나 이상 도면을 참조하여 더 잘 이해할 수 있다.

도 1. MHC 면역친화도 침전 및 질량 분광 분석을 사용하는 Hormad1 HLA-A1101 제한된 펩타이드 확인.

도 2. HORMAD1 HLA-A11 제한된 펩타이드 (HMD-375, SSSQESVPK - 서열번호 2) CTL 생성.

도 3. 펩타이드 적정 검정을 사용한 HMD-375 펩타이드 특이적 CTL 세포주 에피토프 인식 친화도 검출.

도 4A-D. HMD-375 펩타이드 특이적 CTL 세포주의 기능적 입증. 세포 표적은 하기를 포함한다: (A) K562-A11 세포주 강제 발현 eGFP 또는 HORMAD1; (B) H1299 (HLA-A2-, HORMAD1+) 및 H1299-A11 (HLA-A11 강제 발현) (C) H1623 (HLA-A11+, HORMAD1+) 및 H647 (HLA-A11+, HORMAD1-) (D) M14-eGFP (HLA-A11+, HORMAD1-, eGFP 강제 발현) 및 M14-HMD (HLA-A11+, HORMAD1 강제 발현).

도 5. HMD-375 특이적 TCR-T 세포주 생성.

도 6. 펩타이드 적정 검정을 사용한 HMD-375 특이적 TCR-T 세포주의 인식 친화도 검출.

도 7A-D. HMD-375 특이적 TCR-T 세포주의 기능적 입증. 세포 표적은 하기를 포함한다: (A) K562-A11 세포주 강제 발현 eGFP 또는 HORMAD1; (B) H1299 (HLA-A2-, HORMAD1+) 및 H1299-A11 (HLA-A11 강제 발현); (C) H1623 (HLA-A11+, HORMAD1+) 및 H647 (HLA-A11+, HORMAD1-); (D) M14-eGFP (HLA-A11+, HORMAD1-, eGFP 강제 발현) 및 M14-HMD (HLA-A11+, HORMAD1 강제 발현).

도 8a-b. IFN- γ (A) 및 TNF- α (B) 사이토킨 염색을 나타내는 세포내 사이토킨 염색 (ICS) 검정을 사용한 HMD-375 특이적 TCR-T 세포주의 기능적 입증.

도 9. 사람 정상 조직에서 KIF2C 발현 수준 (GTEx 데이터베이스).

도 10. 사람 암 조직에서 KIF2C 발현 수준 (TCGA 데이터베이스).

도 11. HLA-A2402 제한된 펩타이드 - IYNGKLFDL (서열번호 1)를, K562-A24 세포로부터 용리하고, 질량 분광법으로 확인하였다. 그래프 상 서열은 서열번호 1에 상응한다.

도 12. KIF2C-404 펩타이드 (IYNGKLFDL - 서열번호 2) 특이적 CTL 생성.

도 13. 펩타이드 적정 검정을 사용한 KIF2C-404 펩타이드 특이적 CTL 세포주 에피토프 인식 친화도 검출.

도 14A-E. KIF2C-404 펩타이드 특이적 CTL 세포주의 기능적 입증. 세포 표적은 (A) H650; (B) U118G; (C) LN18; (D) H1299; (E) Panc 03.27을 포함한다.

도 15. KIF2C-404 특이적 TCR-T 세포주 생성.

도 16. KIF2C-404 펩타이드 특이적 TCR T 세포주의 기능적 입증.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

발명의 상세한 설명

I. 본 개시내용의 펩타이드를 사용하는 면역요법

본원에 기재된 펩타이드 (예를 들면, 서열번호 1 또는 2의 펩타이드)는 암의 면역요법을 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, 서열번호 1 또는 2의 펩타이드는 T 세포의 집단과 접촉시키거나 T 세포의 집단을 자극하기 위해 사용하여 상기 펩타이드를 인식하고 이에 결합하는 T 세포의 증식을 유발할 수 있다. 다른 측면에서, 본 개시내용의 펩타이드는 암에 대해 대상자의 면역 반응을 향상시키기 위해 대상자, 예를 들면, 사람 환자에게, 투여할 수 있다.

본 개시내용의 펩타이드는 능동 면역요법 (예를 들면, 암 백신) 또는 수동 면역요법 (예를 들면, 입양 면역요법)에 포함될 수 있다. 능동 면역요법은 대상자를 정제된 펩타이드 항원 또는 면역우세 펩타이드 (네이티브(native) 또는 변형된)로 면역접종함을 포함하고; 대안적으로, 본 개시내용의 펩타이드로 펄스된 항원 제시 세포 (또는 펩타이드를 포함하는 항원을 암호화하는 유전자로 형질감염됨)는 대상자에게 투여될 수 있다. 펩타이드는 변형되거나 하나 이상의 돌연변이, 예를 들면, 치환 돌연변이를 포함할 수 있다. 수동 면역요법은 입양 면역요법을 포함한다. 입양 면역요법은 일반적으로 세포를 대상자에게 투여하는 것을 수반하고, 여기서, 세포 (예를 들면, 세포독성 T 세포)는 시험관내에서 본 개시내용의 펩타이드에 감작되었다 (예를 들면, 참조: US 7910109).

일부 측면에서, 유동세포분석은 입양 면역요법에서 카복시플루오레세인 석신이미딜 에스테르 (CFSE)-기반 증식 검정과 조합하여 예를 들면, T-세포 수용체 (TCR) V β 항체를 사용하여 사람 종양 항원-특이적 T-세포 클론의

신속한 단리를 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, 모든 목적을 위해 참조로서 포함된 문헌을 참조한다 [참조: Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods*, 331:13-26, 2008]. 일부 측면에서, 사랑체-가이드 세포 분류를 사용할 수 있고, 예를 들면, 모든 목적을 위해 본원에 참조로서 포함된 문헌 [참조: Pollack, *et al.*, *J Immunother Cancer*, 2014; 2: 36]에 기재된 방법을 사용할 수 있다. 다양한 배양 프로토콜이 또한 입양 면역요법을 위해 공지되어 있고, 본 개시내용의 측면에서 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 세포는 항원 제시 세포를 사용할 필요가 없는 조건하에 배양될 수 있다 (예를 들면, 문헌 참조: Hida *et al.*, *Cancer Immunol. Immunotherapy*, 51:219-228, 2002, 이는 참조로서 포함됨). 다른 측면에서, T 세포는 항원 제시 세포, 예를 들면, 수지상 세포를 사용하는 배양 조건하에 확장될 수 있고 (참조: Nestle *et al.*, 1998, 참조로서 포함됨), 일부 측면에서 인공 항원 제시 세포는 이러한 목적을 위해 사용될 수 있다 (참조: Maus *et al.*, 2002, 참조로서 포함됨). 본 개시내용의 측면으로 사용될 수 있는 추가 입양 면역요법 방법은 참조로서 포함된 문헌에 기재되어 있다 [참조: Dudley *et al.* (2003)]. 다양한 방법이 공지되어 있고, 사람 항원-특이적 T 세포를 클로닝 및 확장하기 위해 사용될 수 있다 (예를 들면, 참조: Riddell *et al.*, 1990, 본원에 참조로서 포함됨).

[0066] 특정 측면에서, 하기한 프로토콜을 사용하여 본 개시내용의 펩타이드를 선택적으로 인식하는 T 세포를 생성할 수 있다. 펩타이드-특이적 T-세포주를 정상 공여자 또는 HLA-제한된 정상 공여자 및 환자로부터 이전에 보고된 방법을 사용하여 생성할 수 있다 (참조: Hida *et al.*, 2002). 간단히, PBMC (1×10^5 세포/웰)를 약 10 μ g/ml의 각각의 펩타이드로 4중으로 96-웰, U-바닥-미세배양 플레이트 (Corning Incorporated, Lowell, MA)에서 약 200 μ l의 배양 배지에서 자극할 수 있다. 배양 배지는 50% AIM-V 배지 (Invitrogen), 50% RPMI1640 배지 (Invitrogen), 10% 사람 AB 혈청 (Valley Biomedical, Winchester, VA), 및 100 IU/ml의 인터류킨-2 (IL-2)로 이루어질 수 있다. 세포는 상응하는 펩타이드로 약 3 일마다 재자극할 수 있다. 5회 자극 후, 각각의 웰로부터 T 세포를 세척하고, 상응하는 펩타이드의 존재 또는 부재하에 T2 세포로 인큐베이팅할 수 있다. 약 18 시간 후, 인터페론 (IFN)- γ 의 생성을 상청액에서 ELISA에 의해 측정될 수 있다. 대량의 IFN- γ 를 분비하는 T 세포는 신속한 확장 프로토콜에 의해 추가로 확장될 수 있다 (참조: Riddell *et al.*, 1990; Yee *et al.*, 2002b).

[0067] 일부 측면에서, 면역요법은 세포 침투제, 예를 들면, 리포솜 또는 세포 침투 펩타이드 (CPP)와 회합된 본 개시내용의 펩타이드를 이용할 수 있다. 펩타이드로 펄스된 항원 제시 세포 (예를 들면, 수지상 세포)를 사용하여 항종양 면역을 향상시킬 수 있다 (참조: Celluzzi *et al.*, 1996; Young *et al.*, 1996). 리포솜 및 CPPs는 하기에 추가로 상세하게 기재된다. 일부 측면에서, 면역요법은 본 개시내용의 펩타이드를 암호화하는 핵산을 이용할 수 있고, 여기서, 핵산은, 예를 들면, 바이러스 벡터 또는 비-바이러스 벡터에서 전달된다.

[0068] 일부 측면에서, 본 개시내용의 펩타이드는 포유동물 대상자, 예를 들면, 사람 환자에서 암을 치료하기 위해 면역요법에서 사용될 수 있다.

[0069] II. 조작된 T 세포 수용체

[0070] T-세포 수용체는 디설파이드 결합에 의해 결합된 T-세포 수용체 α (TCR α) 및 β (TCR β) 쇠로 언급되는 2개의 상이한 폴리펩타이드 쇠를 포함한다. 이들 α : β 이형 이량체는 면역글로불린 분자의 Fab 단편과 구조가 매우 유사하고, 이들은 대부분 T 세포에 의해 항원 인식을 처리한다. 소수의 T 세포는 γ 및 δ 로 지정된 상이한 쌍의 폴리펩타이드 쇠로 구성되는 대안적이지만 구조적으로 유사한, 수용체를 포함한다. 둘 다의 유형의 T 세포 수용체는 B-세포 수용체로서 역할을 하는 막-결합된 면역글로불린이 상이하고: T 세포 수용체는 단지 하나의 항원-결합 부위를 갖는 반면, B-세포 수용체는 2개를 갖고, T-세포 수용체는 절대로 분비되지 않는 반면, 면역글로불린은 항체로서 분비될 수 있다.

[0071] T-세포 수용체의 둘 다의 쇠는 면역글로불린 V 도메인에 상동성인 아미노-말단 가변 (V) 영역, 면역글로불린 C 도메인에 상동성인 불변 (C) 영역, 및 쇠간 디설파이드 결합을 형성하는 시스테인 잔기를 포함하는 짧은 힌지 영역을 갖는다. 각각의 쇠는 소수성 막횡단 도메인에 의해 지질 이중층에 걸쳐 있고, 짧은 세포질 테일에서 말단화된다.

[0072] T-세포 수용체의 3-차원 구조를 측정하였다. 구조는 사실상, 이를 암호화하는 유전자에 대한 이전 연구에서 의심되었던 것처럼 항체 Fab 단편의 것과 유사하다. T-세포 수용체 쇠는 Fab 단편의 것들과 매우 동일한 방식으로 폴딩하지만, 최종 구조는 조금 더 짧고 더 광범위하게 나타낸다. 그러나, T-세포 수용체 및 Fab 단편 사이에 일부 뚜렷한 차이가 있다. 가장 눈에 띄는 차이는 C α 도메인에 있고, 여기서, 폴드는 임의의 다른 면역글로불린-유형 도메인의 것과 다르다. C β 도메인과 나란히 병치된 도메인의 반은 다른 면역글로불린-유형 도메인에서 발견되는 것과 유사한 β 시트를 형성하지만, 도메인의 나머지 반은 느슨하게 패킹된 가닥 및 짧은 분절의 α 나선으로 형성된다. 면역글로불린-유형 도메인에서 일반적으로 2개의 β 가닥을 연결하는, 분자내 디설파이드 결

합은, C α 도메인에서 β 가닥을 α 나선의 이러한 분절에 결합시킨다.

[0073] 도메인이 상호작용하는 방식에서 또한 차이가 있다. 둘 다의 T-세포 수용체 쌍의 V 및 C 도메인 사이의 계면은 항체에서보다 더 광범위하고, 이는 도메인 사이의 힌지 조인트를 덜 유연하게 만들 수 있다. 그리고, C α 및 C β 도메인 사이의 상호작용은, C α 도메인으로부터의 당 그룹이 C β 도메인에 대한 다수의 수소 결합을 만드는 탄수화물에 의해 원조된다는 점에서 구별된다. 최종적으로, 가변 결합 부위의 비교는, 상보성-결정 영역 (CDR) 루프가 항체 분자의 것들과 매우 근접하게 정렬되지만, 항체 분자의 것들에 비해 일부 변위가 있다는 것을 나타낸다. 이러한 변위는, 루프의 하나의 말단을 도메인의 하나의 면에서 다른 면까지 앵커링하는 β 가닥의 이동의 결과로서, 항체 V 도메인에서 등가 루프에 대해 대략 직각으로 배향되는 V α CDR2 루프에서 특히 표시된다. 가닥 변위는 또한 이의 구조가 공지된 7개의 V β 도메인 중 2개에서 V β CDR2 루프의 배향의 변화를 야기한다. 아직까지, 7개의 T 세포 수용체의 결정학적 구조는 이러한 분해능 수준으로 해결되었다.

[0074] 본 개시내용의 측면은 조작된 T 세포 수용체에 관한 것이다. 용어 "조작된"은 TCR 불변 영역 상에 이식되어 본 개시내용의 펩타이드 및 항원에 결합하는 키메라 폴리펩타이드를 제조하는 TCR 가변 영역을 갖는 T 세포 수용체를 언급한다. 특정 측면에서, TCR은, 클로닝, 향상된 발현, 검출, 또는 작제물의 치료학적 제어를 위해 사용되지만, 다중 클로닝 부위, 링커, 힌지 서열, 변형된 힌지 서열, 변형된 막횡단 서열, 검출 폴리펩타이드 또는 분자, 또는 TCR을 포함하는 세포의 선택 또는 선별을 가능하게 하는 치료학적 제어와 같은 내인 TCR에서 존재하지 않는 개재 서열을 포함한다.

[0075] 일부 측면에서, TCR은 비-TCR 서열을 포함한다. 따라서, 특정 측면은 TCR 유전자 유도가 아닌 서열을 갖는 TCR에 관한 것이다. 일부 측면에서, TCR는 키메라이고, TCR 유전자에서 정상적으로 발견되는 서열을 포함하지만, 자연에서 반드시 함께 발견되지는 않는 적어도 2개의 TCR 유전자로부터의 서열을 포함한다.

[0076] 일부 측면에서 본 개시내용의 조작된 TCR은 하기 나타낸 측면을 포함한다:

표 1

표 1: TCR 측면

기술	서열	서열번호
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F-TRBV11-2*03F) DNA 서열: 알파 채	ATGGAGACCCTCTTGGGCCTGCTTATCCTTTGGCTGC AGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACA CAGATTCTGCAGCTCTGAGTGTCCCAGAAAGGAGAA AACTTGGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGATAGCGCT ATTTACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAGGACCCTGGG AAAGGTCTCACATCTCTGTTGCTTATTCAGTCAAGTC AGAGAGAGCAAACAAGTGAAGACTTAATGCCTCG CTGGATAAATCATCAGGACGTAGTACTTTATACATT GCAGCTTCTCAGCCTGGTGACTCAGCCACCTACCTC TGTGCTGTGGATACTGGAGCCAATAGTAAGCTGACA TTTGAAAAGGAATAACTCTGAGTGTTAGACCAGAT ATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGA GACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTC ACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTACAAAAGT AAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACCTGTG CTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGT GCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGT GCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGAC ACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTC AAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAA CCTAAACTTTCAAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCG AATCCTCCTCTGAAAGTGGCCGGGTTAATCTGCT CATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGCTAA	3
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F-TRBV11-2*03F) 단백질 서열 알파 채	METLLGLLLWLQLQWVSSKQEVTPAALSVPEGENL VLNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQSSQREQ TSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCVAVDTG ANSKLTFGKGITLSVRPDINPDPAVYQLRDSKSSDKS VCLFTDFDSQTNVSQSKDSVYTTDKTVLDMRSMDFK SNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDV KLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMT LRLWSS	4
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F-TRBV11-2*03F) 가변 영역: 알파 채	KQEVTPAALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQ DPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRLNASLDKSSGRSTLYI AASQPGDSATYLCVAVDTGANSKLTFGKGITLSVRPD	5
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F-TRBV11-2*03F) 리더 펩타이드: 알파 채	METLLGLLLWLQLQWVSS	6
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F-TRBV11-2*03F) 알파 채 CDR1	DSAIYN	7
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F-TRBV11-2*03F) 알파 채 CDR2	IQSSQRE	8

[0077]

KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F- TRBV11-2*03F) 알파 쇄 CDR3	AVDTGANSKLT	9
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F- TRBV11-2*03F) DNA 서열: 베타 쇄	ATGGGCACCAGGCTCCTCTGCTGGGCGGCCCTCTGT CTCCTGGGAGCAGAACTCACAGAAGCTGGAGTTGCC CAGTCTCCCAGATATAAGATTATAGAGAAAAGGCA GAGTGTGGCTTTTTGGTGCAATCCTATATCTGGCCAT GCTACCCTTTACTGGTACCAGCAGATCCTGGGACAG GGCCCAAAGCTTCTGATTTCAGTTTCAGAATAACGGT GTAGTGGATGATTACAGTTGCCTAAGGATCGATTT TCTGCAGAGAGGCTCAAAGGAGTAGACTCCACTCTC AAGATCCAACCTGCAAAGCTTGAGGACTCGGCCGTG TATCTCTGTGCCAGCAGCTATCATAGCTATGGCTAC ACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCCTTGTAGAG GACCTGAACAAGGTGTTCCCAACCGAGGTCGCTGTG TTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAA AAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTC CCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGG GAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGC AGCCCCCTCAAGGAGCAGCCGCCCTCAATGACTCCA GATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCA CCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTC AAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGT GGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATC GTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGG CTTTACCTCGGTGTCCTACCAGCAAGGGTCTCTGTC TGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGC CACCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTTG ATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCTCTAA	10
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F- TRBV11-2*03F) 단백질 서열 베타 쇄	MGTRLLCWAALCLLGAELTEAGVAQSPRYKIEKRQS VAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKLLIQFNNGVV DDSQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSAVYLC ASSYHSYGYTFGSGTRLTVVEDLNKVPPEVAVFEPSE AEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVNGKEVHSG VSTDPOPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRN HFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAL VLMAMVVRKDF	11
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F- TRBV11-2*03F) 가변 영역: 베타 쇄	EAGVAQSPRYKIEKRQSVAFWCNPISGHATLYWYQQI LGQGPKLLIQFNNGVVDDSQLPKDRFSAERLKGVD STLKIQPAKLEDSAVYLCASSYHSYGYTFGSGTRLTVV	12
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F- TRBV11-2*03F) 리더 펩타이드: 베타 쇄	MGTRLLCWAALCLLGAELT	13

[0078]

KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F- TRBV11-2*03F) 베타 쇄 CDR1	SGHAT	14
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F- TRBV11-2*03F) 베타 쇄 CDR2	FQNNGV	15
KIF2C-404 F11 TCR (TRAV21*02F- TRBV11-2*03F) 베타 쇄 CDR3	ASSYHSYGYT	16
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) DNA 서열: 알파 쇄	ATGGCATGCCCTGGCTTCTCTGTGGGCACTTGTGATC TCCACCTGTCTTGAATTTAGCATGGCTCAGACAGTC ACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGGCA GAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCACT GAGAGTGATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCT CCCAGCAGGCAGATGATTCTCGTTATTCGCCAAGAA GCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAGAATCGTTTC TCTGTGAACCTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGT CTCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCG ATGTATTTCTGTGCTTATAGGAGCGCGGTTTCGGCAG AAGCTGCTCTTTGCAAGGGGAACCATGTAAAGGTG GATCTTAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTAC CAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTC TGCCTATTACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGT CACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACA AAACTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGA GCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACT TTGCATGTGCAAAACGCCTTCAACAACAGCATTATT CAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCT GTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACA GATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATT GGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGCCCGGGTTT AATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGCTAA	17
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 단백질 서열 알파 쇄	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEAE TVTLSTYDTSSESDYYLFWYKQPPSRQMILVIRQEAYK QQNATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFC AYRSAVRQKLLFARGTMLKVLDNIQNPDPAVYQLRDS KSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDM RSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPS PESSCDVKLVKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAG FNLLMTLRLWSS	18
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 가변 영역: 알파 쇄	AQTVTQSQPEMSVQEAEVTLSTYDTSSESDYYLFWY KQPPSRQMILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAS FSLKISDSQLGDAAMYFCAYRSAVRQKLLFARGTMLK VDLN	19

[0079]

HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 리더 펩타이드: 알파 체	MACPGFLWALVISTCLEFSM	20
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 알파 체 CDR1	TSESDYY	21
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 알파 체 CDR2	QEAYKQQN	22
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 알파 체 CDR3	AYRSAVRQKLL	23
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) DNA 서열: 베타 체	ATGGGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGT CTCCTGGGGGCGAGATCACGCAGATACTGGAGTCTCC CAGGACCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGACA GAATGTAACTTTCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACA CAACCGCCTTTATTGGTACCGACAGACCCTGGGGCA GGGCCAGAGTTTCTGACTTACTTCCAGAATGAAGC TCAACTAGAAAAATCAAGGCTGCTCAGTGATCGGTT CTCTGCAGAGAGGCCTAAGGGATCTTTCTCCACCTT GGAGATCCAGCGCACAGAGCAGGGGGACTCGGCCA TGTATCTCTGTGCCAGCAGCTCCCCGGGGGGCCGGT CCTACAATGAGCAGTTCTTCGGGCCAGGGACACGGC TCACCGTGCTAGAGGACCTGAAAAACGTGTTCAC CCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGA TCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGG CCACAGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCT GGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTC AGCACGGACCCGACGCCCTCAAGGAGCAGCCCGC CCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCT GAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAA CCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTC GGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAAC CCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTA GAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGC AAGGGGTCCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCC TGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCA GCGCCCTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGG ATTCTAA	24
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 단백질 서열 베타 체	MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSDPRHKITKRQ NVTFRCDPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQ LEKSRLLSDRFSAERPFGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL ASSSPGGRSYNEQFFGPGTRLTVLEDLKNVPPEVAVF EPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVWNGKE VHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSAFWQ NPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVQTIVSAEA WGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL VSALVLMAMVKRKDF	25

[0080]

HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 가변 영역: 베타 쇠	DTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPSEHNRLYWYRQ TLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERP KGSFS TLEIQRTEQGDSAMYLCASSSPGGRSYNEQFFGPGTRL TVL	26
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 리더 펩타이드: 베타 쇠	MGTSLLCWMALCLLGADHA	27
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 베타 쇠 CDR1	SEHNR	28
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 베타 쇠 CDR2	FQNEAQ	29
HMD-375 CTL B5 TCR (TRAV38-2/DV8*01 F, TRBV7-9*03 F) 베타 쇠 CDR3	ASSSPGGRSYNEQF	30

[0081]

[0082]

III. 세포 침투 펩타이드

[0083]

본 개시내용의 펩타이드는 또한 세포 침투 펩타이드 (CPP)와 회합될 수 있거나, 이에 공유 결합될 수 있다. 본 개시내용의 펩타이드에 공유 결합될 수 있는 세포 침투 펩타이드는, 예를 들면, HIV Tat, 헤르페스 바이러스 VP22, 초파리 안테나피디아 호메오박스 유전자 생성물, 신호 서열, 융합 서열, 또는 프로테그린 I을 포함한다. CPP에 대한 펩타이드의 공유 결합은 수지상 세포에 의한 펩타이드의 체시를 연장시킬 수 있고, 이에 따라 항종양 면역을 향상시킨다 (참조: Wang and Wang, 2002). 일부 측면에서, 본 개시내용의 펩타이드 (예를 들면, 펩타이드 또는 폴리에피토프 스트링 내에 포함됨)는 (예를 들면, 펩타이드 결합을 통해) CPP에 공유 결합되어 융합 단백질을 생성할 수 있다. 다른 측면에서, 본 개시내용에 따른 펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 핵산은 리포솜 내에 캡슐화되거나 리포솜과 회합될 수 있고, 예를 들면, 다층, 소포, 또는 다소포 리포솜이다.

[0084]

본원에 사용된 "회합"은 물리적 회합, 화학적 회합 또는 이들 둘 다를 의미한다. 예를 들면, 회합은 공유 결합, 소수성 상호작용, 캡슐화, 표면 흡착 등을 수반할 수 있다.

[0085]

본원에 사용된 "세포 침투제"는 항원 제시 세포로의 펩타이드/폴리에피토프 스트링의 세포내 전달을 향상시키는 조성물 또는 화합물을 언급한다. 예를 들면, 세포 침투제는 펩타이드와 회합되는 경우, 형질 막을 가로지르는 이의 능력을 향상시키는 지질일 수 있다. 대안적으로, 세포 침투제는 펩타이드일 수 있다. 세포 침투 펩타이드 (CPPs)는 당해 기술에 공지되어 있고, 예를 들면, HIV의 Tat 단백질 (참조: Frankel and Pabo, 1988), HSV의 VP22 단백질 (참조: Elliott and O'Hare, 1997) 및 섬유모세포 성장 인자 (참조: Lin *et al.*, 1995)를 포함한다.

[0086]

세포-침투 펩타이드 (또는 "단백질 형질도입 도메인")은 초파리 안테나피디아 호메오박스 유전자 (Antp), HIV Tat, 및 헤르페스 바이러스 VP22의 세번째 나선으로부터 확인되고, 이들 모두는 아르기닌 및 리신 잔기가 풍부한 양성으로 하전된 도메인을 포함한다 (참조: Schwarze *et al.*, 2000; Schwarze *et al.*, 1999). 또한, 신호 서열로부터 유도된 소수성 펩타이드는 세포-침투 펩타이드로서 확인되었다. 문헌을 참조한다 (참조: Rojas *et al.*, 1996; Rojas *et al.*, 1998; Du *et al.*, 1998). 이들 펩타이드를 마커 단백질, 예를 들면, β -갈락토시다제에 커플링시키는 것은 세포 내로 마커 단백질의 효율적인 내재화를 부여하는 것으로 나타내고, 이들 펩타이드를 포함하는 키메라, 프레임내 융합 단백질을 사용하여 단백질을 넓은 범위의 세포 유형에 시험관내 및 생체내 둘 다에서 전달하였다 (참조: Drin *et al.*, 2002). 이들 세포 침투 펩타이드의 본 개시내용의 펩타이드로의 융합은 폴리펩타이드의 세포 흡수를 향상시킬 수 있다.

[0087]

일부 측면에서, 세포 흡수는 폴리펩타이드에 대한 지질, 예를 들면, 스테아레이트 또는 미리스틸레이트의 부착에 의해 촉진된다. 지질화는 세포 내로 펩타이드의 통과를 향상시키는 것으로 나타났다. 지질 모이어티의 부착은 본 발명이 세포에 의해 폴리펩타이드 흡수를 증가시키는 또다른 방식이다.

- [0088] 본 개시내용의 펩타이드는 리포솜 백신 조성물에 포함될 수 있다. 예를 들면, 리포솜 조성물은 프로테오리포솜 조성물일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 본 발명과 함께 사용할 수 있는 프로테오리포솜 조성물의 제조 방법은, 예를 들면, 문헌에 기재되어 있다 [참조: Neelapu *et al.* (2007) and Popescu *et al.* (2007)]. 일부 측면에서, 프로테오리포솜 조성물은 흑색종을 치료하기 위해 사용할 수 있다.
- [0089] 본 개시내용의 폴리펩타이드의 흡수를 향상시켜, 치료에 필요한 단백질 또는 펩타이드의 양을 감소시킬 수 있다. 이는 차례로 유의하게 치료 비용을 감소시키고, 치료학적 제제의 공급을 증가시킬 수 있다. 더 낮은 투여량은 또한 펩타이드의 잠재적 면역원성을 최소화시키고, 독성 부작용을 제한할 수 있다.
- [0090] 일부 측면에서, 본 개시내용의 펩타이드는 나노입자와 회합하여 나노입자-폴리펩타이드 복합물을 형성할 수 있다. 일부 측면에서, 나노입자는 리포솜 또는 다른 지질-기반 나노입자, 예를 들면, 지질-기반 소포 (예를 들면, DOTAP:콜레스테롤 소포)이다. 다른 측면에서, 나노입자는 초상자성 나노입자 기반 철-산화물이다. 직경 약 10 내지 100 nm 범위의 초상자성 나노입자는 비장에 의한 격리를 피하기 위해 충분히 작지만, 간의 청소를 예방하기 위해 충분히 크다. 이러한 크기의 입자는 매우 작은 모세혈관을 침투할 수 있고, 신체 조직에 효과적으로 분포될 수 있다. 초상자성 나노입자-폴리펩타이드 복합물은 MRI 조영제로서 사용되어 펩타이드를 흡수하는 이들 세포를 확인하고 추적할 수 있다. 일부 측면에서, 나노입자는 반도체 나노결정 또는 반도체 양자점이고, 이들 둘 다는 광학 영상화에 사용될 수 있다. 추가 측면에서, 나노입자는 나노셀일 수 있고, 이는 실리카 코어 위에 금 층을 포함한다. 나노셀의 하나의 이점은 폴리펩타이드가 표준 화학을 사용하여 금 층에 접합될 수 있다. 다른 측면에서, 나노입자는 풀러렌 또는 나노튜브일 수 있다 (참조: Gupta *et al.*, 2005).
- [0091] 펩타이드는 신장의 순환으로부터 신속하게 제거되고, 혈청에서 프로테아제에 의한 분해에 민감하다. 펩타이드를 나노입자와 회합하여, 본 발명의 나노입자-폴리펩타이드 복합물은 분해에 대해 보호될 수 있고/있거나, 신장에 의한 청소를 감소시킬 수 있다. 이는 폴리펩타이드의 혈청 반감기를 증가시키고, 이에 의해 효과적인 요법에 필요한 폴리펩타이드 용량을 감소시킬 수 있다. 추가로, 이는 치료비용을 감소시킬 수 있고, 면역학적 문제 및 요법의 독성 반응을 최소화한다.
- [0092] **IV. 폴리에피토프 스트링**
- [0093] 일부 측면에서, 펩타이드는 폴리에피토프 스트링에 포함되거나 이로 구성된다. 폴리에피토프 스트링은 함께 결합된 하나 이상의 항원으로부터 다수의 항원 에피토프를 포함하는 펩타이드 또는 폴리펩타이드이다. 폴리에피토프 스트링을 사용하여 대상자, 예를 들면, 사람 대상자에서 면역 반응을 유발할 수 있다. 폴리에피토프 스트링은 말라리아 및 다른 병원균을 표적화하기 위해 이전에 사용되었다 (참조: Baraldo *et al.*, 2005; Moorthy *et al.*, 2004; Baird *et al.*, 2004). 폴리에피토프 스트링은 핵산 (예를 들면, 본 개시내용의 펩타이드를 암호화하는 핵산) 또는 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 포함하는 다수의 항원 (예를 들면, 본 개시내용의 펩타이드를 포함하는 다수의 항원을 포함함)을 언급할 수 있다. 폴리에피토프 스트링은 암 백신 조성물에 포함될 수 있다.
- [0094] **V. 항원 펩타이드의 적용**
- [0095] 다양한 측면은 특정 암을 치료 및 예방하기 위해 유용한 항원 펩타이드의 개발 또는 사용을 지시한다. 다수의 측면에서, 항원 펩타이드는 화학적 합성에 의해 또는 숙주 세포에서 분자 발현에 의해 생성된다. 펩타이드는, (이에 제한되는 것은 아니지만) 펩타이드 면역원성을 결정하는 검정, T 세포에 의한 인식을 결정하는 검정, 암을 치료하기 위한 펩타이드 백신, T 세포의 변형된 TCR의 개발, 및 항체의 개발을 포함하는 다양한 적용으로 정제 또는 이용될 수 있다.
- [0096] 펩타이드는 다수의 방법에 의해 화학적으로 합성될 수 있다. 하나의 통상적인 방법은 고체-상 펩타이드 합성 (SPPS)을 사용하는 것이다. 일반적으로, SPPS는 교대 N-말단 탈보호 및 커플링 반응의 사이클을 반복하고, 펩타이드를 c-말단에서 n-말단으로 구축하여 수행한다. 첫번째 아미노산의 c-말단을 수지에 커플링하고, 여기서, 아민을 탈보호하고, 이어서, 두번째 아미노산의 유리 산과 커플링한다. 이러한 사이클을 펩타이드가 합성될 때까지 반복한다.
- [0097] 펩타이드는 또한 분자 틀 및 숙주 세포를 이용하여 합성될 수 있다. 항원 펩타이드에 부합하는 핵산 서열은 합성될 수 있다. 일부 측면에서, 합성 핵산은 시험관내 합성기 (예를 들면, 포스포르아미다이트 합성기), 박테리아 재조합 시스템, 또는 다른 적합한 방법으로 합성된다. 추가로, 합성된 핵산은 정제 및 동결건조되거나, 생물학적 시스템 (예를 들면, 박테리아, 효모)에서 저장 유지될 수 있다. 생물학적 시스템에서 사용하기 위해, 합성 핵산 분자는 플라스미드 벡터 내로, 또는 유사하게 삽입될 수 있다. 플라스미드 벡터는 또한 발현 벡터일 수 있고, 여기서, 적합한 프로모터 및 적합한 3'-폴리A 꼬리는 전사 서열과 조합된다.

- [0098] 측면은 또한 항원 펩타이드 또는 단백질을 생성하는 발현 벡터 및 발현 시스템을 지시한다. 이들 발현 시스템은 발현 벡터를 도입하여 적합한 발현 시스템에서 전사 및 단백질을 발현할 수 있다. 전형적 발현 시스템은 박테리아 (예를 들면, 이. 콜리), 곤충 (예를 들면, SF9), 효모 (예를 들면, 에스. 세레비시아(*S. cerevisiae*)), 동물 (예를 들면, CHO), 또는 사람 (예를 들면, HEK 293) 세포주를 포함한다. RNA 및/또는 단백질 분자를 표준 생명공학 생성 절차를 사용하여 이들 시스템으로부터 정제할 수 있다.
- [0099] 면역원성 및/또는 TCR 결합을 측정하는 검정을 수행할 수 있다. 예를 들면, 텍스트라머 유동세포분석 검정이 있다. 일반적으로, 주문-제작된 HLA-매칭된 MHC 부류 I 텍스트라머:펩타이드 (pMHC) 복합물은 개발되거나 판매된다 (Immudex, Copenhagen, Denmark). 말초혈액 단핵 세포 (PBMCs) 또는 종양-침윤 림프구 (TILs)로부터 T 세포를 pMHC 복합물을 인큐베이팅하고, 염색하고, 이어서, 펩타이드가 T 세포의 TCR에 결합할 수 있는지를 결정하는 유세포분석기를 통해 수행된다.
- [0100] 본 개시내용의 펩타이드를 사용하여 또한 펩타이드에 결합되는 T-세포 수용체를 분리 및/또는 확인할 수 있다. T-세포 수용체는 디설파이드 결합에 의해 결합된 T-세포 수용체 α (TCR α) 및 β (TCR β) 쇠로 언급되는 2개의 상이한 폴리펩타이드 쇠를 포함한다. 이들 α : β 이형 이량체는 면역글로불린 분자의 Fab 단편과 구조가 매우 유사하고, 이들은 대부분 T 세포에 의해 항원 인식을 처리한다. 소수의 T 세포는 γ 및 δ 로 지정된 상이한 쌍의 폴리펩타이드 쇠로 구성되는 대안적이지만 구조적으로 유사한, 수용체를 포함한다. 둘 다의 유형의 T 세포 수용체는 B-세포 수용체로서 역할을 하는 막-결합된 면역글로불린이 상이하고: T 세포 수용체는 단지 하나의 항원-결합 부위를 갖는 반면, B-세포 수용체는 2개를 갖고, T-세포 수용체는 절대로 분비되지 않는 반면, 면역글로불린은 항체로서 분비될 수 있다.
- [0101] T-세포 수용체의 둘 다의 쇠는 면역글로불린 V 도메인에 상동성인 아미노-말단 가변 (V) 영역, 면역글로불린 C 도메인에 상동성인 불변 (C) 영역, 및 쇠간 디설파이드 결합을 형성하는 시스테인 잔기를 포함하는 짧은 힌지 영역을 갖는다. 각각의 쇠는 소수성 막횡단 도메인에 의해 지질 이중층에 걸쳐 있고, 짧은 세포질 테일에서 말단화된다.
- [0102] T-세포 수용체의 3-차원 구조를 측정하였다. 구조는 사실상, 이를 암호화하는 유전자에 대한 이전 연구에서 의심되었던 것처럼 항체 Fab 단편의 것과 유사하다. T-세포 수용체 쇠는 Fab 단편의 것들과 매우 동일한 방식으로 폴딩하지만, 최종 구조는 조금 더 짧고 더 광범위하게 나타낸다. 그러나, T-세포 수용체 및 Fab 단편 사이에 일부 뚜렷한 차이가 있다. 가장 눈에 띄는 차이는 C α 도메인에 있고, 여기서, 폴드는 임의의 다른 면역글로불린-유형 도메인의 것과 다르다. C β 도메인과 나란히 병치된 도메인의 반은 다른 면역글로불린-유형 도메인에서 발견되는 것과 유사한 β 시트를 형성하지만, 도메인의 나머지 반은 느슨하게 패킹된 가닥 및 짧은 분절의 α 나선으로 형성된다. 면역글로불린-유형 도메인에서 일반적으로 2개의 β 가닥을 연결하는, 분자내 디설파이드 결합은, C α 도메인에서 β 가닥을 α 나선의 이러한 분절에 결합시킨다.
- [0103] 도메인이 상호작용하는 방식에서 또한 차이가 있다. 둘 다의 T-세포 수용체 쇠의 V 및 C 도메인 사이의 계면은 항체에서보다 더 광범위하고, 이는 도메인 사이의 힌지 조인트를 덜 유연하게 만들 수 있다. 그리고, C α 및 C β 도메인 사이의 상호작용은, C α 도메인으로부터의 당 그룹이 C β 도메인에 대한 다수의 수소 결합을 만드는 탄수화물에 의해 원조된다는 점에서 구별된다. 최종적으로, 가변 결합 부위의 비교는, 상보성-결정 영역 (CDR) 루프가 항체 분자의 것들과 매우 근접하게 정렬되지만, 항체 분자의 것들에 비해 일부 변위가 있다는 것을 나타낸다. 이러한 변위는, 루프의 하나의 말단을 도메인의 하나의 면에서 다른 면까지 앵커링하는 β 가닥의 이동의 결과로서, β 가닥의 이동의 결과로서, 항체 V 도메인에서 등가 루프에 대략 직각으로 배향되는 V α CDR2 루프에서 특히 표시된다. 가닥 변위는 또한 이의 구조가 공지된 7개의 V β 도메인 중 2개에서 V β CDR2 루프의 배향의 변화를 야기한다. 아직까지, 7개의 T 세포 수용체의 결정학적 구조는 이러한 분해능 수준으로 해결되었다.
- [0104] 본 개시내용의 측면은 본 개시내용의 펩타이드, 예를 들면, 서열번호 1 또는 2의 펩타이드에 결합하는 조작된 T 세포 수용체에 관한 것이다. 용어 "조작된"은 TCR 불변 영역 상에 이식되어 본 개시내용의 펩타이드 및 항원에 결합하는 키메라 폴리펩타이드를 제조하는 TCR 가변 영역을 갖는 T 세포 수용체를 언급한다. 특정 측면에서, TCR은, 클로닝, 향상된 발현, 검출, 또는 작제물의 치료학적 제어를 위해 사용되지만, 다중 클로닝 부위, 링커, 힌지 서열, 변형된 힌지 서열, 변형된 막횡단 서열, 검출 폴리펩타이드 또는 분자, 또는 TCR을 포함하는 세포의 선택 또는 선별을 가능하게 하는 치료학적 제어와 같은 내인 TCR에서 존재하지 않는 개제 서열을 포함한다.
- [0105] 일부 측면에서, TCR은 비-TCR 서열을 포함한다. 따라서, 특정 측면은 TCR 유전자 유도가 아닌 서열을 갖는 TCR에 관한 것이다. 일부 측면에서, TCR는 키메라이고, TCR 유전자에서 정상적으로 발견되는 서열을 포함하지만,

자연에서 반드시 함께 발견되지는 않는 적어도 2개의 TCR 유전자로부터의 서열을 포함한다.

[0106] VI. 항체

[0107] 본 개시내용의 측면은 본 개시내용의 펩타이드, 또는 이의 단편을 표적하는 항체에 관한 것이다. 용어 "항체"는 표적 항원에 대한 특이적 결합을 위해 무손상 항체와 경쟁할 수 있는 임의의 이의 이소타입 또는 단편의 무손상 면역글로불린을 언급하고, 키메라, 사람화, 완전한 사람, 및 이특이적 항체를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "항체" 또는 "면역글로불린"은 상호교환되어 사용되고, 동물의 면역 반응의 일부로서 기능하는 구조적으로 관련된 단백질의 수개의 부류 중 어느 것을 언급하고, IgG, IgD, IgE, IgA, IgM, 및 관련 단백질, 뿐만 아니라 항원-결합 활성을 보유하는 항체 CDR 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 언급한다.

[0108] 용어 "항원"은 항체와 같은 선택적 결합제에 의해 결합될 수 있는 분자 또는 분자의 부분을 언급한다. 항원은 상이한 항체와 상호작용할 수 있는 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다.

[0109] 용어 "에피토프"는 면역글로불린에 또는 T-세포 수용체에 결합하여 면역 반응을 도출할 수 있는 분자의 임의의 영역 또는 부분을 포함한다. 에피토프 결정인자는 화학적으로 활성 표면 그룹, 예를 들면, 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 또는 설포닐 그룹을 포함할 수 있고, 특정한 3-차원 구조 특성 및/또는 특이적 전하 특성을 가질 수 있다. 일반적으로, 특정 표적 항원에 대해 특이적인 항체는 우선적으로 복합 혼합물 내에서 표적 항원 상 에피토프를 인식할 것이다.

[0110] 제공된 폴리펩타이드의 에피토프 영역은 하기를 포함하는 당해 기술에 공지된 다수의 상이한 에피토프 매핑 기술을 사용하여 확인할 수 있다: x-선 결정학, 핵자기 공명 분광, 부위-지시된 돌연변이유발 맵핑, 단백질 디스플레이 어레이, 예를 들면, 문헌을 참조한다 [참조: Epitope Mapping Protocols, (Johan Rockberg and Johan Nilvebrant, Ed., 2018) Humana Press, New York, N.Y.]. 이러한 기술은 당해 기술에 공지되고, 예를 들면, 문헌에 기재되어 있다 [참조: 미국 특허 번호 4,708,871; Geysen *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002 (1984); Geysen *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:178-182 (1985); Geysen *et al.* Molec. Immunol. 23:709-715 (1986)]. 추가로, 단백질의 항원 영역은 또한 표준 항원성 및 수치요법 플롯을 사용하여 예측하고 확인할 수 있다.

[0111] 용어 "면역원성 서열"은 적어도 하나의 에피토프의 아미노산 서열을 포함하여 이에 따라 분자가 적합한 숙주에서 항체의 생성을 자극할 수 있는 분자를 의미한다. 용어 "면역원성 조성물"은 적어도 하나의 면역원성 분자를 포함하는 조성물을 의미한다 (예를 들면, 항원 또는 탄수화물).

[0112] 무손상 항체는 일반적으로 2개의 전체-길이 중쇄 및 2개의 전체 길이 경쇄로 구성되지만, 일부 경우, 더 소수의쇄, 예를 들면, 단지 중쇄만을 포함할 수 있는 카멜리드에서 천연 발생 항체를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 항체는 단일 공급원으로부터 단독으로 유도될 수 있거나, "키메라"일 수 있고, 즉, 항체의 상이한 부분은 2개의 상이한 항체로부터 유도될 수 있다. 예를 들면, 가변 또는 CDR 영역은 래트 또는 뮤린 공급원으로부터 유도될 수 있는 반면, 불변 영역은 상이한 동물 공급원, 예를 들면, 사람으로부터 유도된다. 항체 또는 결합 단편은 하이브리도마에서, 재조합 DNA 기술에 의해, 또는 무손상 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다. 달리 지시하지 않는 한, 용어 "항체"는 이의 유도체, 변종, 단편, 및 유도체를 포함하고, 이의 예는 하기 문헌에 기재된다 (참조: Sela-Culang *et al.*, Front Immunol. 2013; 4: 302; 2013).

[0113] 용어 "경쇄"는 결합 특이성을 부여하는 충분한 가변 영역 서열을 갖는 전체-길이 경쇄 및 이의 단편을 포함한다. 전체-길이 경쇄는 약 25,000 달톤의 분자량을 갖고, 가변 영역 도메인 (본원에서 VL로서 축약됨), 및 불변 영역 도메인 (본원에서 CL로서 축약됨)을 포함한다. 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 확인되는 경쇄의 2개의 부류가 존재한다. 용어 "VL 단편"은 CDR을 포함하는 경쇄 가변 영역의 전부 또는 일부를 포함하는 단클론 항체의 경쇄의 단편을 의미한다. VL 단편은 추가로 경쇄 불변 영역 서열을 포함할 수 있다. 경쇄의 가변 영역 도메인은 폴리펩타이드의 아미노-말단에 존재한다.

[0114] 용어 "중쇄"는 결합 특이성을 부여하기 위해 충분한 가변 영역 서열을 갖는 전체-길이 중쇄 및 이의 단편을 포함한다. 전체-길이 중쇄는 약 50,000 달톤의 분자량을 갖고, 가변 영역 도메인 (본원에서 VH로서 축약됨), 및 3개의 불변 영역 도메인 (본원에서 CH1, CH2, 및 CH3로서 축약됨)을 포함한다. 용어 "VH 단편"은 CDR을 포함하는 중쇄 가변 영역의 전부 또는 일부를 포함하는 단클론 항체의 중쇄의 단편을 의미한다. VH 단편은 추가로 중쇄 불변 영역 서열을 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역 도메인의 수는 이소타입에 좌우될 것이다. VH 도메인은 폴리펩타이드의 아미노-말단에 존재하고, CH 도메인은 카복시-말단에 존재하고, CH3은 -COOH 말단에 가장 근접한다. 항체의 이소타입은 IgM, IgD, IgG, IgA, 또는 IgE일 수 있고, 5개의 부류가 존재하는 중쇄로 정의된다:

각각 μ), 델타 (δ), 감마 (γ), 알파 (α), 또는 엡실론 (ϵ) 쇠. IgG는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 하기를 포함하는 수개의 하위유형을 갖는다: IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4. IgM 하위유형은 IgM1 및 IgM2를 포함한다. IgA 하위유형은 IgA1 및 IgA2를 포함한다.

[0115] VII. 항체 접합체

[0116] 본 개시내용의 측면은 적어도 하나의 제제에 결합되어 항체 접합체를 형성하는, 일반적으로 단클론 유형의 본 개시내용의 펩타이드에 대한 항체에 관한 것이다. 진단적 또는 치료학적 제제로서 항체 분자의 효능을 증가시키기 위해, 적어도 하나의 목적하는 분자 또는 모이어티에 연결 또는 공유 결합 또는 복합화하는 것이 통상적이다. 이러한 분자 또는 모이어티는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 적어도 하나의 이펙터 또는 리포터 분자일 수 있다. 이펙터 분자는 목적하는 활성, 예를 들면, 세포독성 활성을 갖는 분자를 포함한다. 항체에 부착된 이펙터 분자의 비-제한적인 예는 독소, 항-종양 제제, 치료학적 효소, 방사성-표지된 뉴클레오타이드, 항바이러스제, 킬레이트제, 사이토킨, 성장 인자, 및 올리고- 또는 폴리-뉴클레오타이드를 포함한다. 대조적으로, 리포터 분자는 검정을 사용하여 검출할 수 있는 임의의 모이어티로서 한정된다. 항체에 접합된 리포터 분자의 비-제한적인 예는 효소, 방사성표지, 합텐, 형광 표지, 인광 분자, 화학발광 분자, 발색단, 발광 분자, 광친화도 분자, 착색 입자 또는 리간드, 예를 들면, 비오틴을 포함한다.

[0117] 충분한 선택도, 특이성 또는 친화도의 임의의 항체는 항체 접합체에 대한 기초로서 이용될 수 있다. 이러한 성질은 당해 기술분야의 숙련자에게 공지된 종래의 면역학적 선별 방법론을 사용하여 평가하였다. 항체 분자에서 생물학적 활성 분자에 대한 결합을 위한 부위는, 정준 항원 결합 부위에 추가하여, 병원균, B-세포 초항원, T 세포 공동-수용체 CD4 및 HIV-1 외피에 결합될 수 있는 가변 도메인에 있는 부위를 포함한다 (참조: Sasso *et al.*, 1989; Shorki *et al.*, 1991; Silvermann *et al.*, 1995; Cleary *et al.*, 1994; Lenert *et al.*, 1990; Berberian *et al.*, 1993; Kreier *et al.*, 1991). 추가로, 가변 도메인은 항체 자가-결합에 연루되고 (참조: Kang *et al.*, 1988), 항-항체로 인식되는 에피토프 (유전형)를 포함한다 (참조: Kohler *et al.*, 1989).

[0118] 항체 접합체의 특정 예는 항체가 검출가능한 표지에 결합되는 이들 접합체이다. "검출가능한 표지"는 이들의 특이적 기능적 성질, 및/또는 화학적 특성, 목적하는 이들이 부착된 항체가 검출, 및/또는 추가로 정량화될 수 있게 하는 용도 때문에 검출될 수 있는 화합물 및/또는 요소이다. 또다른 이러한 예는 세포독성 또는 항 세포 제제에 결합되는 항체를 포함하는 접합체의 형성이고, "면역독소"로 칭명될 수 있다.

[0119] 항체 접합체는 일반적으로 진단제로서 사용하는 것이 바람직하다. 항체 진단은 일반적으로 2개의 부류가 있고, 예를 들면, 다양한 면역검정에서 시험관내 진단에서 사용하기 위한 것, 및/또는 일반적으로 "항체 지시 영상화"로 공지된 생체내 진단 프로토콜에서 사용하기 위한 것이다.

[0120] 다수의 적합한 영상화제는 이들이 항체에 부착하는 방법으로 당해 기술에 공지되어 있다 (예를 들면, 참조: 미국 특허 번호 5,021,236; 4,938,948; 및 4,472,509, 이들 각각은 본원에 참조로서 포함됨). 사용된 영상화 모이어티는 상자성 이온; 방사성 동위원소; 형광색소; NMR-검출가능한 물질; X-선 영상일 수 있다.

[0121] 상자성 이온의 경우, 하기 예시적인 이온의 예로서, 예를 들면, 크롬 (III), 망간 (II), 철 (III), 철 (II), 코발트 (II), 니켈 (II), 구리 (II), 네오네오디뮴 (III), 사마륨 (III), 이테르븀 (III), 가돌리늄 (III), 바나듐 (II), 테르븀 (III), 디스프로슘 (III), 홀름 (III) 및/또는 에르븀 (III)이 언급될 수 있고, 가돌리늄가 특히 바람직하다. 다른 정황, 예를 들면, X-선 영상화에서 유용한 이온은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 란타넘 (III), 금 (III), 납 (II), 및 특히 비스무트 (III)를 포함한다.

[0122] 치료학적 및/또는 진단적 적용을 위한 방사성 동위원소의 경우, 아스타틴²¹¹, ¹⁴탄소, ⁵¹크롬, ³⁶염소, ⁵⁷코발트, ⁵⁸코발트, 구리⁶⁷, ¹⁵²Eu, 갈륨⁶⁷, ³수소, 요오드¹²³, 요오드¹²⁵, 요오드¹³¹, 인듐¹¹¹, ⁵⁹철, ³²인, 레늄¹⁸⁶, 레늄¹⁸⁸, ⁷⁵셀레늄, ³⁵황, 테크니슘^{99m} 및/또는 이트륨⁹⁰을 언급할 수 있다. ¹²⁵I는 종종 특정 측면에서 사용하기 위해 바람직하고, 테크니슘^{99m} 및/또는 인듐¹¹¹은 또한 종종 이들의 낮은 에너지 및 긴 범위 검출에 대한 적합성 때문에 바람직하다. 본 발명의 방사성 표지화 단클론 항체는 당해 기술 분야에 잘 공지된 방법에 따라 제조할 수 있다. 예를 들어, 단클론 항체는 나트륨 및/또는 칼륨 요오다이드 및 화학적 산화제, 예를 들면, 나트륨 하이포클로라이트, 또는 효소적 산화제, 예를 들면, 락토퍼옥시다제와 접촉하여 요오드화될 수 있다. 본 발명에 따른 단클론 항체는 리간드 교환 프로세스에 의해, 예를 들면, 페테크네이트를 주석 용액으로 환원시키고, 환원된 테크네튬을 Sephadex 컬럼으로 킬레이팅하고, 항체를 이러한 컬럼에 적용하여 테크네튬^{99m}으로 표지화할 수 있다. 대안적으

로, 직접 표지화 기술을, 예를 들면, 퍼테르네이트, 환원제, 예를 들면, SNCI_2 , 완충액 용액, 예를 들면, 나트륨-칼륨 프탈레이트 용액, 및 항체를 인큐베이팅하여 사용할 수 있다. 항체에 대해 금속성 이온으로서 존재하는 방사성동위원소를 결합하기 위해 종종 사용되는 중간 기능적 그룹은 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA) 또는 에틸렌 디아민테트라아세트산 (EDTA)이다.

[0123] 접합체로서 사용하기 위해 고려되는 형광 표지는 Alexa 350, Alexa 430, AMCA, BODIPY 630/650, BODIPY 650/665, BODIPY-FL, BODIPY-R6G, BODIPY-TMR, BODIPY-TRX, 캐스케이드 블루, Cy3, Cy5, 6-FAM, 플루오레세인 이소티오시아네이트, HEX, 6-JOE, 오레곤 그린 488, 오레곤 그린 500, 오레곤 그린 514, 퍼시픽 블루, REG, 로다민 그린, 로다민 레드, 레노그라핀, ROX, TAMRA, TET, 테트라메틸로다민, 및/또는 텍사스 레드를 포함한다.

[0124] 본 발명에서 고려되는 또다른 유형의 항체 접합체는 시험관내 사용을 위해 주로 의도된 것들이고, 여기서, 항체는 유색 기관과 접촉시 착색 생성물을 생성하는 이차 결합 리간드에 및/또는 효소 (효소 태그)에 결합된다. 적합한 효소의 예는 우레아제, 알칼리성 포스파타제, (홀스래디쉬) 수소 퍼옥시다제 또는 글루코스 옥시다제를 포함한다. 바람직한 이차 결합 리간드는 비오틴 및/또는 아비딘 및 스트렙타비딘 화합물이다. 이러한 표지의 사용은 당해 기술분야의 숙련자에게 잘 공지되어 있고, 예를 들면, 미국 특허 3,817,837; 3,850,752; 3,939,350; 3,996,345; 4,277,437; 4,275,149 및 4,366,241에 기재되고; 이들 각각은 본원에 참조로서 포함된다.

[0125] 항체에 대한 분자의 부위-특이적 부착의 또한 또다른 공지된 방법은 항체를 합텐-기반 친화도 표지와 반응시킴을 포함한다. 본질적으로, 합텐-기반 친화도 표지는 항원 결합 부위에서 아미노산과 반응하여, 이에 의해 이러한 부위를 파괴하고, 특이적 항원 반응을 차단한다. 그러나, 이는 항체 접합체에 의한 항원 결합의 손실을 야기하기 때문에 유리하지 않을 수 있다.

[0126] 아지도 그룹을 포함하는 분자를 또한 사용하여, 저 강도 자외선 광에 의해 생성되는 반응 니트렌 중간체를 통해 단백질에 대한 공유 결합을 형성할 수 있다 (참조: Potter & Haley, 1983). 특히, 퓨린 뉴클레오티드의 2- 및 8-아지도 유사체는 부위-지시된 광프로브로서 사용되어 조 세포 추출물에서 뉴클레오티드 결합 단백질을 확인하였다 (참조: Owens & Haley, 1987; Atherton *et al.*, 1985). 2- 및 8-아지도 뉴클레오티드를 또한 사용하여 정제된 단백질의 뉴클레오티드 결합 도메인을 매핑하고 (참조: Khatoon *et al.*, 1989; King *et al.*, 1989; and Dholakia *et al.*, 1989) 항체 결합체로서 사용할 수 있다.

[0127] 이의 접합체 모이어티에 대한 항체의 부착 또는 접합을 위한 수개의 방법이 당해 기술에 공지되어 있다. 일부 부착 방법은 항체에 부착된, 예를 들면, 유기 킬레이트제, 예를 들면, 디에틸렌트리아민펜타아세트산 무수물 (DTPA); 에틸렌트리아민테트라아세트산; N-클로로-p-톨루엔설포아미드; 및/또는 테트라클로로-3 α -6 α -디페닐글리코유틸-3을 이용하는 금속 킬레이트 복합물의 사용을 포함한다 (미국 특허 번호 4,472,509 및 4,938,948, 이들 각각은 본원에 참조로서 포함됨). 단클론 항체는 또한 커플링제, 예를 들면, 글루타르알데히드 또는 페리오데이트의 존재하에 효소와 반응할 수 있다. 플루오레세인 마커와의 접합체를 이들 커플링제의 존재하에 또는 이소티오시아네이트와 반응시켜 제조한다. 미국 특허 번호 4,938,948에서, 유방 종양의 영상화는 단클론 항체를 사용하여 성취되고, 검출가능한 영상화 모이어티는 링커, 예를 들면, 메틸-p-하이드록시벤즈이미데이트 또는 N-석신이미딜-3-(4-하이드록시페닐)프로피오네이트를 사용하여 항체에 결합된다.

[0128] 다른 측면에서, 항체 조합 부위를 변경시키지 않는 반응 조건을 사용하는 면역글로불린의 Fc 영역에서 설포하이드릴 그룹을 선택적으로 도입함에 의한 면역글로불린의 유도체화가 고려된다. 이러한 방법론에 따라 제조된 항체 접합체는 개선된 수명, 특이성 및 민감성을 나타내는 것으로 기재되어 있다 (미국 특허 번호 5,196,066, 본원에 참조로서 포함됨). 리포터 또는 이펙터 분자가 Fc 영역에서 탄수화물 잔기에 결합된 이펙터 또는 리포터 분자의 부위-특이적 부착은, 또한 문헌에 기재되어 있다 (참조: O'Shannessy *et al.*, 1987). 이러한 접근은 현재 임상적 평가 중인 진단적으로 및 치료학적으로 전도유망한 항체를 제조하였다.

[0129] 본 개시내용의 또다른 측면에서, 항체는 반도체 나노결정, 예를 들면, 미국 특허 번호 6,048,616; 5,990,479; 5,690,807; 5,505,928; 5,262,357 (이들 모두는 이의 전문이 본원에 포함됨); 뿐만 아니라 PCT 공보 번호 99/26299 (1999년 5월 27일 공개)에서 기재된 것들에 결합될 수 있다. 특히, 본 발명의 생물학적 및 화학적 검정에서 반도체 나노결정로서 사용하기 위한 예시적인 물질은, 이에 제한되는 것은 아니지만, II-VI족, III-V족 및 IV족 반도체, 예를 들면, ZnS, ZnSe, ZnTe, CdS, CdSe, CdTe, MgS, MgSe, MgTe, CaS, CaSe, CaTe, SrS, SrSe, SrTe, BaS, BaSe, BaTe, GaN, GaP, GaAs, GaSb, InP, InAs, InSb, AlS, AlP, AlSb, PbS, PbSe, Ge 및 Si 및 이의 3원 및 4원 혼합물을 포함하는 상기한 것들을 포함한다. 반도체 나노결정을 항체에 결합하는 방법은 미국 특허 번호 6,630,307 및 6,274,323에 기재되어 있다.

[0130] 또한 추가 측면에서, 본 발명은 생물학적 성분, 예를 들면, T 세포 또는 본 개시내용의 펩타이드에 선택적으로 결합하거나 인식하는 것을 결합, 정제, 제거, 정량화 및/또는 그외에 일반적으로 검출하는 면역검출 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 사랑체 검정은 본 발명과 함께 사용될 수 있다. 사랑체 검정은 일반적으로 항원 특이적 T 림프구에 결합할 수 있는 가용성 펩타이드-MHC 사랑체를 생성하는 것에 연루되고, 사랑체 검정 방법은 예를 들면, 문헌에 기재되어 있다 [참조: Altman *et al.* (1996)]. 사용할 수 있는 일부 면역검출 방법은, 예를 들면, 효소 결합된 면역흡착 검정 (ELISA), 방사성면역검정 (RIA), 면역방사측정 검정, 형광면역검정, 화학발광 검정, 생물발광 검정, 사랑체 검정, 및 웨스턴 블롯을 포함한다. 다양한 유용한 면역검출 방법의 단계는, 예를 들면, 과학 문헌 [참조: Doolittle and Ben-Zeev, 1999; Gulbis and Galand, 1993; De Jager *et al.*, 1993; and Nakamura *et al.*, 1987]에 기재되어 있고, 이들 각각은 본원에 참조로서 포함된다.

[0131] **VIII. MHC 폴리펩타이드**

[0132] 본 개시내용의 측면은 MHC 폴리펩타이드를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 일부 측면에서, MHC 폴리펩타이드는 개별적인 폴리펩타이드로서 또는 융합 단백질로서 발현될 수 있는 적어도 2, 3, 또는 4 MHC 폴리펩타이드를 포함한다. T 세포로의 항원의 제시는 2개의 뚜렷한 부류의 분자 MHC 부류 I (MHC-I) 및 MHC 부류 II (MHC-II) (또한 본원에 "pMHC"로서 식별됨)에 의해 매개되고, 이는 뚜렷한 항원 프로세싱 경로를 이용한다. 세포내 항원으로부터 유도된 펩타이드는 사실상 모든 세포 상에서 발현되는 MHC 부류 I 분자에 의해 $CD8^+$ T 세포에 제시되는 반면, 세포외 항원-유도된 펩타이드는 MHC-II 분자에 의해 $CD4^+$ T 세포에 제시된다. 특정 측면에서, 특정 항원은 적합한 MHC 부류 I 또는 II 폴리펩타이드의 정황에서 항원-MHC 복합물에서 확인되고 제시된다. 특정 측면에서, 대상자의 유전적 구성은 어느 MHC 폴리펩타이드가 특정 환자 및 특정 세트의 펩타이드에 대해 사용되는지를 결정하여 평가할 수 있다. 특정 측면에서, MHC 부류 I 폴리펩타이드는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G 또는 CD-1 분자의 전부 또는 일부를 포함한다. MHC 폴리펩타이드가 MHC 부류 II 폴리펩타이드인 측면에서, MHC 부류 II 폴리펩타이드는 HLA-DR, HLA-DQ, 또는 HLA-DP의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다.

[0133] 비-분류 MHC 폴리펩타이드는 또한 본 발명의 MHC 복합물에서 사용하기 위해 고려된다. 비-분류 MHC 폴리펩타이드는 종 중에서 비-다형태, 보존되고, 협소한, 깊은, 소수성 리간드 결합 포켓을 갖는다. 이들 결합 포켓은 글리코실리피드 및 인지질을 자연 킬러 T (NKT) 세포 또는 특정 하위 세트의 $CD8^+$ T-세포, 예를 들면, Qa1, HLA-E-제한된 $CD8^+$ T-세포, 또는 MAIT 세포에 제시할 수 있다. NKT 세포는 NK 세포 마커 및 세미-불변 T 세포 수용체 (TCR)를 공발현하는 고유한 림프구 집단을 나타낸다. 이들은 광범위한 질환과 회합된 면역 반응의 조절에 포함된다.

[0134] **IX. 숙주 세포**

[0135] 본원에 사용된 용어 "세포", "세포주", 및 "세포 배양물"은 상호교환되어 사용될 수 있다. 이들 용어 모두는 또한 신선한 단리된 세포 및 생체의 배양, 활성화 또는 확장된 세포 둘 다를 포함한다. 이들 용어 모두는 또한 임의의 및 모든 후속적인 생성물인 이들의 자손을 포함한다. 모든 자손은 고의 또는 우발 돌연변이 때문에 동일하지 않을 수 있다는 것이 이해된다. 이중 핵산 서열을 발현하는 정황에서, "숙주 세포"는 원핵 또는 진핵 세포를 언급하고, 벡터를 복제하거나 벡터에 의해 암호화된 이중 유전자를 발현할 수 있는 임의의 형질전환 가능한 유기체를 포함한다. 숙주 세포는 벡터 또는 바이러스를 위한 수령자로서 사용될 수 있거나 사용되었다. 숙주 세포는 "형질감염" 또는 "형질전환"될 수 있고, 이는 외인 핵산, 예를 들면, 재조합 단백질-암호화 서열이, 숙주 세포 내에 전달 또는 도입되는 프로세스로 언급된다. 형질전환된 세포는 일차 대상자 세포 및 이의 자손을 포함한다.

[0136] 특정 측면에서 형질감염은 임의의 원핵 또는 진핵 세포에서 수행될 수 있다. 일부 측면에서 전기천공은 사람 세포의 형질감염을 수반한다. 다른 측면에서 전기천공은 동물 세포의 형질감염을 수반한다. 특정 측면에서 형질감염은 세포주 또는 하이브리드 세포 유형의 형질감염을 수반한다. 일부 측면에서 형질감염된 세포 또는 세포들은 암 세포, 종양 세포 또는 무한증식 세포이다. 일부 경우, 종양, 암, 무한증식 세포 또는 세포주가 유도되고, 다른 경우, 종양, 암, 무한증식 세포 또는 세포주는 이들의 각각의 상태 또는 조건을 자연적으로 도입한다. 특정 측면에서 세포 또는 세포주는 A549, B-세포, B16, BHK-21, C2C12, C6, CaCo-2, CAP/, CAP-T, CHO, CHO2, CHO-DG44, CHO-K1, COS-1, Cos-7, CV-1, 수지상 세포, DLD-1, 배아 줄기 (ES) 세포 또는 유도체, H1299, HEK, 293, 293T, 293FT, Hep G2, 조혈 줄기 세포, HOS, Huh-7, 유도 다능성 줄기 (iPS) 세포 또는 유도체, Jurkat, K562, L5278Y, LNCaP, MCF7, MDA-MB-231, MDCK, 중간엽 세포, Min-6, 단핵구 세포, Neuro2a, NIH 3T3, NIH3T3L1, K562, NK-세포, NS0, Panc-1, PC12, PC-3, 말초혈액 세포, 형질 세포, 일차 섬유모세포, RBL, Renca, RLE,

SF21, SF9, SH-SY5Y, SK-MES-1, SK-N-SH, SL3, SW403, 전분화능의 자극-유발 획득 (STAP) 세포 또는 유도체 SW403, T-세포, THP-1, 종양 세포, U2OS, U937, 말초 혈액 림프구, 확장된 T 세포, 조혈 줄기 세포, 또는 배로 세포일 수 있다.

[0137] **X. 추가 제제**

[0138] **A. 면역자극제**

[0139] 일부 측면에서, 상기 방법은 추가로 추가 제제의 투여를 포함한다. 일부 측면에서, 추가 제제는 면역자극제이다. 본원에 사용된 용어 "면역자극제"는 대상자에서 면역 반응을 자극할 수 있는 화합물을 언급하고, 보조제를 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 면역자극제는 특이적 항원을 구성하지 않지만, 항원에 대한 면역 반응의 강도 및 수명을 상승시킬 수 있는 제제이다. 이러한 면역자극제는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 패턴 인식 수용체의 자극제, 예를 들면, Toll-유형 수용체, RIG-1 및 NOD-유형 수용체 (NLR), 미네랄 염, 예를 들면, 백반, 엔테로박테리아, 예를 들면, 에세리아 콜리(*Escherichia coli*), 살모넬라 미네아소타(*Salmonella minnesota*), 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*), 또는 쉬겔라 플렉스네리(*Shigella flexneri*)의 모노포스포릴 지질 (MPL) A 또는 특히 MPL (AS04)와 조합된 백반, 개별적으로 상기 언급된 박테리아의 MPL A, 사포닌, 예를 들면, QS-21, Quil-A, ISCOMs, ISCOMATRIX, 에멀전, 예를 들면, MF59, Montanide, ISA 51 및 ISA 720, AS02 (QS21+스쿠알렌+MPL.), 리포솜 및 리포솜 제형, 예를 들면, AS01, 합성되거나 특이적으로 제조된 미세입자 및 마이크로캐리어, 예를 들면, 엔. 고노레에(*N. gonorrhoeae*), 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*) 및 다른 것들의 박테리아-유도된 외부 막 소포 (OMV), 또는 키토산 입자, 데포-형성제, 예를 들면, 플루로닉 차단 공-중합체, 특이적으로 변형된 또는 제조된 펩타이드, 예를 들면, 무라밀 디펩타이드, 아미노알킬 글루코사미나이드 4-포스페이트, 예를 들면, RC529, 또는 단백질, 예를 들면, 박테리아 변성독소 또는 독소 단편을 포함할 수 있다.

[0140] 일부 측면에서, 추가 제제는, 이에 제한되는 것은 아니지만, Toll-유형 수용체 (TLRs), 특히 TLRs 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 및/또는 이의 조합을 포함하는 패턴 인식 수용체 (PRR)를 위한 작용제를 포함한다. 일부 측면에서, 추가 제제는 Toll-유형 수용체 3에 대한 작용제, Toll-유형 수용체 7 및 8에 대한 작용제, 또는 Toll-유형 수용체 9에 대한 작용제를 포함하고; 바람직하게는 인공된 면역자극제는 이미다조퀴놀린; 예를 들면, R848; 아데닌 유도체, 예를 들면, 미국 특허 번호 6,329,381, 미국 공개 특허 출원 2010/0075995, 또는 WO 2010/018132에 기재된 것들; 면역자극 DNA; 또는 면역자극 RNA를 포함한다. 일부 측면에서, 추가 제제는 또한 면역자극 RNA 분자, 예를 들면, 이에 제한되는 것은 아니지만, dsRNA, 폴리 I:C 또는 폴리 I:폴리 C12U (Ampligen.RTM.로서 이용가능함, 폴리 I:C 및 폴리 I:폴리 C12U 둘 다는 TLR3 흥분제로서 공지됨), 및/또는 문헌에 기재된 것들을 포함할 수 있다 [참조: F. Heil *et al.*, "Species-Specific Recognition of Single-Stranded RNA via Toll-like Receptor 7 and 8" *Science* 303(5663), 1526-1529 (2004); J. Vollmer *et al.*, "Immune modulation by chemically modified ribonucleosides and oligoribonucleotides" WO 2008033432 A2; A. Forsbach *et al.*, "Immunostimulatory oligoribonucleotides containing specific sequence motif(s) and targeting the Toll-like receptor 8 pathway" WO 2007062107 A2; E. Uhlmann *et al.*, "Modified oligoribonucleotide analogs with enhanced immunostimulatory activity" U.S. Pat. Appl. Publ. US 2006241076; G. Lipford *et al.*, "Immunostimulatory viral RNA oligonucleotides and use for treating cancer and infections" WO 2005097993 A2; G. Lipford *et al.*, "Immunostimulatory G,U-containing oligoribonucleotides, compositions, and screening methods" WO 2003086280 A2]. 일부 측면에서, 추가 제제는 TLR-4 작용제, 예를 들면, 박테리아 리포폴리사카라이드 (LPS), VSV-G, 및/또는 HMGB-1일 수 있다. 일부 측면에서, 추가 제제는 TLR-5 작용제, 예를 들면, 플라젤린, 또는 이의 부분 또는 유도체를 포함할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니지만, 미국 특허 번호 6,130,082, 6,585,980, 및 7,192,725에 기재된 것들을 포함할 수 있다.

[0141] 일부 측면에서, 추가 제제는 피사 세포로부터 방출된 염증촉진 자극일 수 있다 (예를 들면, 요산염 결정). 일부 측면에서, 추가 제제는 보체 캐스케이드의 활성화된 성분 (예를 들면, CD21, CD35 등)일 수 있다. 일부 측면에서, 추가 제제는 면역 복합물의 활성화된 성분일 수 있다. 추가 제제는 또한 보체 수용체 작용제, 예를 들면, CD21 또는 CD35에 결합하는 분자를 포함한다. 일부 측면에서, 보체 수용체 작용제는 합성 나노캐리어의 내인 보체 흡수인화를 유도한다. 일부 측면에서, 면역자극제는 사이토킨이고, 이는 세포에 의해 방출되고 다른 세포의 세포-세포 상호작용, 소통 및 거동에 특정한 영향을 미치는 소 단백질 또는 생물학적 인자 (5 kD-20 kD의 범위)이다. 일부 측면에서, 사이토킨 수용체 작용제는 소분자, 항체, 융합 단백질, 또는 아파타머이다.

[0142] **B. 면역요법**

- [0143] 일부 측면에서, 추가 요법은 암 면역요법을 포함한다. 암 면역요법 (때때로 면역-종양학으로 칭명되고, IO로 축약됨)은 암을 치료하기 위한 면역계의 이용이다. 면역요법은 활성, 수동 또는 하이브리드 (능동 및 수동)로서 범주화될 수 있다. 이들 접근은 암 세포가 종종 종양-관련 항원 (TAAs)으로 공지된 면역계에 의해 검출될 수 있는 이들의 표면 상에 분자를 갖는다는 사실을 이용하고; 이들은 종종 단백질 또는 다른 거대분자 (예를 들면, 탄수화물)이다. 능동 면역요법은 TAA를 표적화하여 종양 세포를 공격할 것을 면역계에 지시한다. 수동 면역요법은 존재하는 항-종양 반응을 향상시키고, 단클론 항체, 림프구 및 사이토킨의 이용을 포함한다. 면역요법은 당해 기술에 공지되어 있고, 일부는 하기에 기재되어 있다.
- [0144] **1. 공동-자극 분자의 억제**
- [0145] 일부 측면에서, 면역요법은 공동-자극 분자의 억제제를 포함한다. 일부 측면에서, 억제제는 B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), CD28, ICOS, OX40 (TNFRSF4), 4-1BB (CD137; TNFRSF9), CD40L (CD40LG), GITR (TNFRSF18), 및 이의 조합의 억제제를 포함한다. 억제제는 억제 항체, 폴리펩타이드, 화합물, 및 핵산을 포함한다.
- [0146] **2. 수지상 세포 요법**
- [0147] 수지상 세포 요법은 수지상 세포가 종양 항원을 림프구에 제시하게 하여 항-종양 반응을 유발하고, 이들을 활성화시키고, 항원을 제시하는 다른 세포를 사멸시키도록 이들을 프라이밍한다. 수지상 세포는 포유동물 면역계에서 항원 제시 세포 (APCs)이다. 암 치료제에서 이들은 암 항원 표적화를 돕는다. 수지상 세포에 기반하는 세포 암 요법의 하나의 예는 시플류셀-T이다.
- [0148] 수지상 세포가 종양 항원을 제시하도록 유도하는 방법은 자가 종양 용해물 또는 짧은 펩타이드 (암 세포 상 단백질 항원에 상응하는 작은 부분의 단백질)의 백신접종에 의한 것이다. 이들 펩타이드는 종종 보조제 (고 면역원성 물질)과 함께 제공되어 면역 및 항-종양 반응을 증가시킨다. 다른 보조제는 수지상 세포를 유인 및/또는 활성화시키는 단백질 또는 다른 화학물질, 예를 들면, 과립구 마크로파지 콜로니-자극 인자 (GM-CSF)를 포함한다.
- [0149] 수지상 세포는 또한 종양 세포가 GM-CSF를 발현하게 하여 생체내 활성화될 수 있다. 이는 GM-CSF를 생성하는 유전적으로 조작된 종양 세포에 의해 또는 종양 세포를 GM-CSF를 발현하는 종양용해 바이러스로 감염시켜 성취할 수 있다.
- [0150] 또다른 전략은 환자의 혈액으로부터 수지상 세포를 제거하고, 이들을 신체 밖에서 활성화시키는 것이다. 수지상 세포는 단일 종양-특이적 펩타이드/단백질 또는 종양 세포 용해물 (붕괴된 종양 세포의 용액)일 수 있는 종양 항원의 존재하에 활성화된다. 이들 세포 (임의의 보조제와 함께)를 주입하고, 면역 반응을 유발한다.
- [0151] 수지상 세포 요법은 수지상 세포의 표면 상 수용체에 결합하는 항체의 사용을 포함한다. 항원을 항체에 첨가할 수 있고, 수지상 세포를 성숙하게 유도하고, 종양에 면역을 제공할 수 있다. 수지상 세포 수용체, 예를 들면, TLR3, TLR7, TLR8 또는 CD40을 항체 표적으로서 사용하였다.
- [0152] **3. CAR-T 세포 요법**
- [0153] 키메라 항원 수용체 (CAR, 또한 키메라 면역수용체, 키메라 T 세포 수용체 또는 인공 T 세포 수용체로도 공지됨)는 암 세포를 표적화하는 면역 세포와 함께 신규한 특이성을 겸비하는 조작된 수용체이다. 전형적으로, 이들 수용체는 단클론 항체의 특이성을 T 세포에 이식한다. 수용체는 이들이 상이한 공급원으로부터의 부분에 융합되기 때문에 키메라로 칭명된다. CAR-T 세포 요법은 암 요법에 대한 이러한 형질전환된 세포를 사용하는 치료를 언급한다.
- [0154] CAR-T 세포 설계의 기본 원리는 항원-결합 및 T-세포 활성화 기능을 겸비한 재조합 수용체를 수반한다. CAR-T 세포의 일반적 전제는 암 세포에서 발견되는 마커에 표적화된 T-세포를 인공적으로 생성하는 것이다. 과학자들은 사람으로부터 T-세포를 제거하여, 이들을 유전적으로 변경하고, 이들을 환자에게 다시 주입하여 이들이 암 세포를 공격하게 할 수 있다. T 세포가 조작되어 CAR-T 세포가 되는 경우, 이는 "살아있는 약물"로서 작용한다. CAR-T 세포는 세포내 신호화 분자에 대한 세포외 리간드 인식 도메인 간의 결합을 생성하고, 차례로 T 세포를 활성화시킨다. 세포외 리간드 인식 도메인은 보통 단일-쇄 가변 단편 (scFv)이다. CAR-T 세포 요법의 안전의 중요한 측면은 단지 양성 종양 세포만이 표적화되고, 정상 세포는 표적화되지 않는 것을 보장하는 방법이다. CAR-T 세포의 특이성은 표적화되는 분자의 선택에 의해 결정된다.
- [0155] 예시적인 CAR-T 요법은 티사겐렉류셀 (Kymriah) 및 악시카브타겐 실로류셀 (Yescarta)을 포함한다. 일부 측면에

서, CAR-T 요법은 CD19를 표적화한다.

[0156] 4. 사이토킨 요법

[0157] 사이토킨은 종양에 존재하는 세포의 다수의 유형에 의해 생성되는 단백질이다. 이들은 면역 반응을 조절할 수 있다. 종양은 종종 이들을 이용하여, 종양을 성장시키고 면역 반응을 감소시킨다. 이들 면역-조절 효과는 이들이 약물로서 사용되어 면역 반응을 유발하게 한다. 2개의 통상 사용되는 사이토킨은 인터페론 및 인터류킨이다.

[0158] 인터페론은 면역계에 의해 생성된다. 이들은 보통 항-바이러스 반응에 연루되지만, 또한 암에 대한 용도를 갖는다. 이들은 3개의 그룹으로 존재한다: 유형 I ($IFN\alpha$ 및 $IFN\beta$), 유형 II ($IFN\gamma$) 및 유형 III ($IFN\lambda$).

[0159] 인터류킨은 다수의 면역계 효과를 갖는다. IL-2는 예시적인 인터류킨 사이토킨 요법이다.

[0160] 5. 입양 T-세포 요법

[0161] 입양 T 세포 요법은 T-세포의 수혈 (입양 세포 전달)에 의한 수동 면역화의 형태이다. 이들은 혈액 및 조직에서 발견되고, 보통 이들이 외래 병원균을 발견하는 경화 활성화된다. 특히 이들은, T-세포의 표면 수용체가 이들의 표면 항원 상 외래 단백질의 부분을 나타내는 세포를 직면하는 경우 활성화된다. 이들은 감염된 세포, 또는 항원 제시 세포 (APCs) 중 어느 하나일 수 있다. 이들은 정상 조직에서 및 종양 조직에서 발견되고, 여기서, 이들은 종양 침윤 림프구 (TILs)로서 공지되어 있다. 이들은 APC, 예를 들면, 종양 항원을 제시하는 수지상 세포의 존재에 의해 활성화된다. 이들 세포는 종양을 공격할 수 있지만, 종양 내의 환경은 고도로 면역억압성이고, 면역-매개된 종양 사멸을 방지한다.

[0162] 종양 표적화된 T-세포를 생성하고 수득하는 다수의 방식이 개발되었다. 종양 항원에 특이적인 T-세포는 종양 샘플 (TILs)로부터 제거될 수 있거나, 혈액으로부터 여과될 수 있다. 후속적인 활성화 및 배양을 생체의 수행하고, 결과물이 재주입된다. 활성화는 유전자 요법을 통해, 또는 T 세포를 종양 항원에 노출시켜 수행할 수 있다.

[0163] 6. 체크포인트 억제제 및 병용 치료

[0164] 일부 측면에서, 추가 요법은 면역 체크포인트 억제제를 포함한다. 특정 측면은 하기 추가로 기재된다.

[0165] a. PD-1, PDL1, 및 PDL2 억제제

[0166] PD-1은 T 세포가 감염 또는 종양을 직면하는 종양 미세환경에서 작용할 수 있다. 활성화된 T 세포는 PD-1을 상향조절하고, 말초 조직에서 이를 계속해서 발현한다. 사이토킨, 예를 들면, $IFN\gamma$ -감마는 상피 세포 및 종양 세포에서 PDL1의 발현을 유발한다. PDL2는 마크로파지 및 수지상 세포에서 발현된다. PD-1의 주요한 역할은 주변부에서 이펙터 T 세포의 활성을 제한하고, 면역 반응 동안 조직에 대한 과도한 손상을 예방하는 것이다. 본 개시 내용의 억제제는 PD-1 및/또는 PDL1 활성의 하나 이상의 기능을 차단할 수 있다.

[0167] "PD-1"에 대한 대안적인 명칭은 CD279 및 SLEB2를 포함한다. "PDL1"에 대한 대안적인 명칭은 B7-H1, B7-4, CD274, 및 B7-H를 포함한다. "PDL2"에 대한 대안적인 명칭은 B7-DC, Bt dc, 및 CD273을 포함한다. 일부 측면에서, PD-1, PDL1, 및 PDL2는 사람 PD-1, PDL1 및 PDL2이다.

[0168] 일부 측면에서, PD-1 억제제는 이의 리간드 결합 파트너에 대한 PD-1의 결합을 억제하는 분자이다. 특정 측면에서, PD-1 리간드 결합 파트너는 PDL1 및/또는 PDL2이다. 또다른 측면에서, PDL1 억제제는 이의 결합 파트너에 대한 PDL1의 결합을 억제하는 분자이다. 특정 측면에서, PDL1 결합 파트너는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또다른 측면에서, PDL2 억제제는 이의 결합 파트너에 대한 PDL2의 결합을 억제하는 분자이다. 특정 측면에서, PDL2 결합 파트너는 PD-1이다. 억제제는 항체, 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 또는 올리고펩타이드일 수 있다. 예시적인 항체는 미국 특허 번호 8,735,553, 8,354,509, 및 8,008,449에 기재되어 있고, 이들 모두는 본원에 참조로서 포함된다. 본원에 제공된 방법 및 조성물에 사용하기 위한 다른 PD-1 억제제는, 예를 들면, 미국 특허 출원 번호 US2014/0294898, US2014/022021, 및 US2011/0008369에 기재된 바와 같이 당해 기술 분야에 공지되어 있고, 이들 모두는 본원에 참조로서 포함된다.

[0169] 일부 측면에서, PD-1 억제제는 항-PD-1 항체 (예를 들면, 사람 항체, 사람화 항체, 또는 키메라 항체)이다. 일부 측면에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵, 펌브롤리주맵, 및 피딜리주맵으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 측면에서, PD-1 억제제는 면역접합체 (예를 들면, 면역접합체는 불변 영역 (예를 들면, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PDL1 또는 PDL2의 세포외 또는 PD-1 결합 부분을 포함함)이다. 일부 측면에서, PDL1 억제제는 AMP-224를 포함한다. 또한 MDX-1106-04, MDX-1106, ONO-4538, BMS-936558, 및 OPDIVO®로서 공지된 니볼루

맵은 WO2006/121168에 기재된 항-PD-1 항체이다. 또한 MK-3475, Merck 3475로서 공지된 램브롤리주맵, KEYTRUDA®, 및 SCH-900475로서 공지된 펌브롤리주맵은 WO2009/114335에 기재된 항-PD-1 항체이다. 또한 CT-011, hBAT, 또는 hBAT-1로서 공지된 피딜리주맵은 WO2009/101611에 공지된 항-PD-1 항체이다. 또한 B7-DCIg로서 공지된 AMP-224는 WO2010/027827 및 WO2011/066342에 기재된 PDL2-Fc 융합 가용성 수용체이다. 추가 PD-1 억제제는 또한 AMP-514로서 공지된 MEDI0680, 및 REGN2810을 포함한다.

[0170] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PDL1 억제제, 예를 들면, 또한 MEDI4736로서 공지된 두르발루맵, 또한 MPDL3280A로서 공지된 아테졸리주맵, 또한 MSB00010118C로서 공지된 아벨루맵, MDX-1105, BMS-936559 또는 이의 조합이다. 특정 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PDL2 억제제, 예를 들면, rHlgM12B7이다.

[0171] 일부 측면에서, 억제제는 니볼루맵, 펌브롤리주맵, 또는 피딜리주맵의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 VR을 포함한다. 따라서, 하나의 측면에서, 억제제는 니볼루맵, 펌브롤리주맵, 또는 피딜리주맵의 VH 영역의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 도메인, 및 니볼루맵, 펌브롤리주맵, 또는 피딜리주맵의 VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또다른 측면에서, 항체는 상기 언급된 항체와 PD-1, PDL1, 또는 PDL2 상 동일한 에피토프와의 결합에 대해 경쟁하고/하거나, 이에 결합한다. 또다른 측면에서, 항체는 상기 언급된 항체와 적어도 약 70, 75, 80, 85, 90, 95, 97, 또는 99% (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 가변 영역 아미노산 서열 동일성을 갖는다.

[0172] b. CTLA-4, B7-1, 및 B7-2

[0173] 본원에 제공된 방법으로 표적화될 수 있는 또다른 면역 체크포인트는, 또한 CD152로서 공지된 세포독성 T-림프구-관련 단백질 4 (CTLA-4)이다. 사람 CTLA-4의 완전 cDNA 서열은 유전자은행 등록번호 L15006을 갖는다. CTLA-4는 T 세포의 표면 상에서 발견되고, 항원-제시 세포의 표면 상 B7-1 (CD80) 또는 B7-2 (CD86)에 결합되는 경우, "오프" 스위치로서 작동한다. CTLA4는 헬퍼 T 세포의 표면 상에 발현되고, T 세포에 억제 신호를 전달하는 면역글로불린 상과의 구성원이다. CTLA4는 한 T-세포 공동-자극 단백질, CD28과 유사하고, 둘 다의 분자는 항원-제시 세포 상 B7-1 및 B7-2에 결합한다. CTLA-4는 T 세포에 억제 신호를 전달하는 반면, CD28은 자극 신호를 전달한다. 세포내 CTLA-4는 또한 조절 T 세포에서 발견되고, 이들의 기능에 중요할 수 있다. T 세포 수용체 및 CD28을 통한 T 세포 활성화는 증가된 발현의 CTLA-4, B7 분자에 대한 억제 수용체를 야기한다. 본 개시내용의 억제제는 CTLA-4, B7-1, 및/또는 B7-2 활성의 하나 이상의 기능을 차단할 수 있다. 일부 측면에서, 억제제는 CTLA-4 및 B7-1 상호작용을 차단한다. 일부 측면에서, 억제제는 CTLA-4 및 B7-2 상호작용을 차단한다.

[0174] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 항체 (예를 들면, 사람 항체, 사람화 항체, 또는 키메라 항체), 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 또는 올리고펩타이드이다.

[0175] 본원 방법에 사용하기 위해 적합한 항-사람-CTLA-4 항체 (또는 이로부터 유도된 VH 및/또는 VL 도메인)는 당해 기술에 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 당해 기술에서 인정된 항-CTLA-4 항체를 사용할 수 있다. 예를 들면, 하기 기재된 항-CTLA-4 항체: US 8,119,129, WO 01/14424, WO 98/42752; WO 00/37504 (CP675,206, 또한 트레멜리무맵로서 공지되고; 이전에 티실리무맵), 미국 특허 번호 6,207,156; Hurwitz *et al.*, 1998; 이는 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. 각각의 상기한 간행물의 교시는 참조로서 포함된다. CTLA-4에 대한 결합에 대해 이들 기술분야에-인식된 항체 중 하나와 경쟁하는 항체를 또한 사용할 수 있다. 예를 들면, 사람화 CTLA-4 항체는 국제 특허 출원 번호 WO2001/014424, WO2000/037504, 및 미국 특허 번호 8,017,114에 기재되어 있고; 이들 모두는 본원에 참조로서 포함된다.

[0176] 본 개시내용의 방법 및 조성물에서 체크포인트 억제제로서 유용한 추가 항-CTLA-4 항체는 이필리무맵 (또한 10D1, MDX- 010, MDX- 101, 및 Yervoy®로서 공지됨) 또는 항원 결합 단편 및 이의 변종 (예를 들면, 참조: W00 1/14424)이다.

[0177] 일부 측면에서, 억제제는 트레멜리무맵 또는 이필리무맵의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 VR을 포함한다. 따라서, 하나의 측면에서, 억제제는 트레멜리무맵 또는 이필리무맵의 VH 영역의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 도메인, 및 트레멜리무맵 또는 이필리무맵의 VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또다른 측면에서, 항체는 상기 언급된 항체와 PD-1, B7-1, 또는 B7-2 상 동일한 에피토프와의 결합에 대해 경쟁하고/하거나 이에 결합된다. 또다른 측면에서, 항체는 상기 언급된 항체와 적어도 약 70, 75, 80, 85, 90, 95, 97, 또는 99% (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 가변 영역 아미노산 서열 동일성을 갖는다.

[0178] C. 종양용해 바이러스

[0179] 일부 측면에서, 추가 요법은 종양용해 바이러스를 포함한다. 종양용해 바이러스는 우선적으로 암 세포를 감염

및 사멸시키는 바이러스이다. 감염된 암 세포가 종양용해에 의해 파괴되기 때문에, 이들은 신규한 감염 바이러스 입자 또는 비리온을 방출하여 남아있는 종양을 파괴하는 것을 돕는다. 종양용해 바이러스는 종양 세포의 직접 파괴를 야기하는 것 뿐만 아니라, 장기간 면역요법 동안 숙주 항-종양 면역 반응을 자극하는 것으로 고려된다.

[0180] D. 폴리삭카라이드

[0181] 일부 측면에서, 추가 요법은 폴리삭카라이드를 포함한다. 버섯에서 발견되는 특정 화합물, 주로 폴리삭카라이드는, 면역계를 상향-조절할 수 있고, 항-암 성질을 가질 수 있다. 예를 들면, 베타-글루칸, 예를 들면, 렌티난은 마크로파지, NK 세포, T 세포 및 면역계 사이토킨을 자극하는 실험실 연구에서 나타나고, 임상적 시도에서 면역학적 보조제로서 조사되었다.

[0182] E. 신생항원

[0183] 일부 측면에서, 추가 요법은 신생항원 투여를 포함한다. 다수의 종양은 돌연변이를 발현한다. 이들 돌연변이는 T 세포 면역요법에서 사용하기 위해 신규한 표적화가능한 항원 (신생항원)을 잠재적으로 생성한다. RNA 서열분석 데이터를 사용하여 확인되는, 암 병소에서 $CD8^+$ T 세포의 존재는 고 돌연변이 부하를 갖는 종양에서보다 높다. 자연 킬러 세포 및 T 세포의 세포용해 활성과 연관된 전사 수준은 다수의 사람 종양에서 돌연변이 적재와 포지티브하게 상호연관된다.

[0184] F. 화학요법

[0185] 일부 측면에서, 추가 요법은 화학요법을 포함한다. 적합한 부류의 화학요법 제제는 (a) 알킬화제, 예를 들면, 질소 머스타드 (예를 들면, 메클로레타민, 시클로포스파미드, 이포스파미드, 멜팔란, 클로람부실), 에틸렌이민 및 메틸멜라민 (예를 들면, 헥사메틸멜라민, 티오테라), 알킬 설포네이트 (예를 들면, 부셀판), 니트로소우레아 (예를 들면, 카무스틴, 로무스틴, 클로로조티신, 스트렙토조신) 및 트리아진 (예를 들면, 디카르바진), (b) 항대사성물질, 예를 들면, 엽산 유사체 (예를 들면, 메토평렉세이트), 피리미딘 유사체 (예를 들면, 5-플루오로우라실, 플록스우리딘, 시타라빈, 아자우리딘) 및 퓨린 유사체 및 관련 물질 (예를 들면, 6-머캅토피린, 6-티오구아닌, 펜토스타틴), (c) 천연 제품, 예를 들면, 빈카 알칼로이드 (예를 들면, 빈블라스틴, 빈크리스틴), 에피도도필로독신 (예를 들면, 에토평시드, 테니포시드), 항생제 (예를 들면, 닥티노마이신, 다우노루비신, 독소루비신, 블레오마이신, 필카마이신 및 미토크산트론), 효소 (예를 들면, L-아스파라기나제), 및 생물학적 반응 개질제 (예를 들면, 인터페론- α), 및 (d) 기타 제제, 예를 들면, 백금 배위 복합물 (예를 들면, 시스플라틴, 카보플라틴), 치환된 우레아 (예를 들면, 하이드록시우레아), 메틸하이드리아진 유도체 (예를 들면, 프로카르바진), 및 부신피질 억압제 (예를 들면, 탁솔 및 미토탄)를 포함한다. 일부 측면에서, 시스플라틴은 특히 적합한 화학요법 제제이다.

[0186] 시스플라틴은 암, 예를 들면, 전이 고환 또는 난소 암종, 진행성 방광 암, 두경부 암, 자궁경부 암, 폐 암 또는 다른 종양을 치료하기 위해 널리 사용된다. 시스플라틴은 경구로 흡수되지 않고, 따라서, 다른 경로, 예를 들면, 정맥내, 피하, 종양내 또는 복강내 주사를 통해 전달되어야 한다. 시스플라틴은 단독으로 다른 제제와 병용하여 사용될 수 있고, 임상적 적용에 사용되는 효과적인 용량은 약 15 mg/m² 내지 약 20 mg/m²을 5 일 동안 3 주마다 포함하고, 총 3개의 코스가 특정 측면에서 고려된다. 일부 측면에서, 치료학적 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에 작동적으로 결합되는 Egr-1 프로모터를 포함하는 작제물과 함께 세포 및/또는 대상자에 전달되는 시스플라틴의 양은, 시스플라틴을 단독으로 사용하는 경우 전달되는 양보다 적다.

[0187] 다른 적합한 화학요법 제제는 항미소관 제제, 예를 들면, 파클리탁셀 ("탁솔") 및 독소루비신 하이드로클로라이드 ("독소루비신")를 포함한다. 아데노바이러스 벡터 및 독소루비신을 통해 전달되는 Egr-1 프로모터/TNF α 작제물의 병용은 화학요법 및/또는 TNF- α 에 대한 내성을 극복하는데 효과적인 것으로 측정되고, 이에, 작제물 및 독소루비신을 사용한 병용 치료가 독소루비신 및 TNF- α 둘 다에 대한 내성을 극복한다고 제안된다.

[0188] 독소루비신은 열악하게 흡수되고, 바람직하게는 정맥내 투여된다. 특정 측면에서, 성인을 위해 적합한 정맥내 용량은 약 60 mg/m² 내지 약 75 mg/m² 약 21-일 간격으로 또는 약 25 mg/m² 내지 약 30 mg/m² 2 또는 3 연속일로 각각 약 3 주 내지 약 4 주 간격 또는 약 20 mg/m² 주 1회 반복함을 포함한다. 최저 용량은 노령 환자에서, 이전 화학요법에 의해 야기된 이전 골수 함몰 또는 신생물 골수 침범이 존재하는 경우, 또는 약물이 다른 골수 혈구형성 억압제 약물과 병용되는 경우, 사용되어야 한다.

[0189] 질소 머스타드는 본 개시내용의 방법에서 유용한 또다른 적합한 화학요법 제제이다. 질소 머스타드는, 이에 제

한되는 것은 아니지만, 메클로레타민 (HN2), 사이클로포스파미드 및/또는 이포스파미드, 멜팔란 (L-사르콜리신), 및 클로람부실을 포함할 수 있다. 사이클로포스파미드 (CYTOXAN®)는 Mead Johnson에서 이용가능하고, NEOSTAR®는 Adria에서 이용가능하고, 또다른 적합한 화학요법 제제이다. 성인을 위해 적합한 경구 용량은, 예를 들면, 약 1 mg/kg/일 내지 약 5 mg/kg/일, 정맥내 용량은, 예를 들면, 초기에 약 40 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 분할된 용량으로 약 2 일 내지 약 5 일의 기간 동안 또는 약 10 mg/kg 내지 약 15 mg/kg 약 7 일 내지 약 10 일마다 또는 약 3 mg/kg 내지 약 5 mg/kg 주 2회 또는 약 1.5 mg/kg/일 내지 약 3 mg/kg/일을 포함한다. 유해한 위장 효과 때문에, 정맥내 경로가 바람직하다. 약물은 또한 때때로 근육내, 침윤에 의해 또는 체강내로 투여된다.

[0190] 추가 적합한 화학요법 제제는 피리미딘 유사체, 예를 들면, 시타라빈 (시토신 아라비노시드), 5-플루오로우라실 (플루오로우라실; 5-FU) 및 플록스우리딘 (플루오로드-옥시우리딘; FudR)을 포함한다. 5-FU는 대상자에게 약 7.5 내지 약 1000 mg/m²의 투여량으로 투여될 수 있다. 추가로, 5-FU 투약 스케줄은 다양한 기간 동안, 예를 들면 6 주 이하일 수 있거나, 본 개시내용이 관련되는 기술분야의 숙련가에 의해 결정될 수 있다.

[0191] 캄시타빈 디포스페이트 (GEMZAR®, Eli Lilly & Co., "캄시타빈"), 또다른 적합한 화학요법 제제는, 진행성 및 전이 췌장 암의 치료를 위해 추천되고, 따라서, 또한 이들 암을 위해 본 개시내용에서 유용할 수 있다.

[0192] 환자에게 전달되는 화학요법 제제의 양은 가변적일 수 있다. 하나의 적합한 측면에서, 화학요법 제제는, 화학요법이 작제물과 함께 투여되는 경우, 숙주에서 암의 정지 또는 회귀를 야기하기 위해 효과적인 양으로 투여될 수 있다. 다른 측면에서, 화학요법 제제는 화학요법 제제의 화학요법 효과적인 용량보다 2 내지 10,000 배 미만의 양으로 투여될 수 있다. 예를 들면, 화학요법 제제는 화학요법 제제의 화학요법 효과적인 용량보다 약 20 배 미만, 약 500 배 미만 또는 심지어 약 5000 배 미만의 양으로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 화학요법은 생체내 작제물과 병용하여 목적하는 치료학적 활성을 위해, 뿐만 아니라 효과적인 투여량의 결정을 위해 시험될 수 있다. 예를 들면, 이러한 화합물을 사람에서 시험하기 전에, 이에 제한되는 것은 아니지만, 래트, 마우스, 닭, 소, 원숭이, 토끼 등을 포함하는 적합한 동물 모델 시스템에서 시험할 수 있고, 시험관내 시험을 또한 사용하여 예에서 기재된 적합한 병용 및 투여량을 측정할 수 있다.

[0193] G. 방사성요법

[0194] 일부 측면에서, 추가 요법 또는 이전 요법은 방사선, 예를 들면, 이온화방사선을 포함한다. 본원에 사용된 "이온화방사선"은 이온화 (전자의 획득 또는 손실)를 생성하도록 충분한 에너지를 갖거나 핵 상호작용을 통해 충분한 에너지를 생성할 수 있는 입자 또는 광자를 포함하는 방사선을 의미한다. 예시적인 및 바람직한 이온화방사선은 x-방사선이다. x-방사선을 표적 조직 또는 세포에 전달하는 수단은 당해 기술에 잘 공지되어 있다.

[0195] 일부 측면에서, 이온화방사선의 양은 20 Gy 초과이고, 1회 용량으로 투여된다. 일부 측면에서, 이온화방사선의 양은 18 Gy이고, 3회의 용량으로 투여된다. 일부 측면에서, 이온화방사선의 양은 적어도, 최대, 또는 정확히 2, 4, 6, 8, 10, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 18, 19, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 40 Gy (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위)이다. 일부 측면에서, 이온화방사선은 적어도, 최대, 또는 정확히 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 용량 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위)로 투여된다. 1회 초과 용량이 투여되는 경우, 용량은 약 1, 4, 8, 12, 또는 24 시간 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8 일 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 또는 16 주 간격으로, 또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위일 수 있다.

[0196] 일부 측면에서, IR의 양은 IR의 총 용량으로서 제시될 수 있고, 이어서, 분획 용량으로 투여된다. 예를 들면, 일부 측면에서, 총 용량은 50 Gy이고, 각각 5 Gy의 10회 분획 용량으로 투여된다. 일부 측면에서, 총 용량은 50-90 Gy이고, 각각 2-3 Gy의 20-60회 분획 용량으로 투여된다. 일부 측면에서, IR의 총 용량은 적어도, 최대, 또는 약 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 125, 130, 135, 140, 또는 150 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위)이다. 일부 측면에서, 총 용량은 적어도, 최대, 또는 정확히 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 또는 50 Gy (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위의 분획 용량으로 투여된다. 일부 측면에서, 적어도, 최대, 또는 정확히 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46,

47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100 분획 용량이 부여된다 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위). 일부 측면에서, 적어도, 최대, 또는 정확히 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 분획 용량이 매일 부여된다. 일부 측면에서, 적어도, 최대, 또는 정확히 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 분획 용량이 주당 부여된다.

[0197] H. 수술

[0198] 약 60%의 암을 갖는 사람이 수개 유형의 수술을 경험할 것이고, 여기에는 예방적, 진단적 또는 병기분류, 치유, 및 경감 수술을 포함된다. 치유 수술은 절제를 포함하고, 여기서, 암성 조직의 전부 또는 일부가 물리적으로 제거, 절개, 및/또는 파괴되고, 다른 요법, 예를 들면, 본원 측면의 치료, 화학요법, 방사선요법, 호르몬 요법, 유전자 요법, 면역요법, 및/또는 대안적인 요법과 함께 사용될 수 있다. 종양 절제는 종양의 적어도 일부의 물리적 제거를 언급한다. 종양 절제에 추가하여, 수술에 의한 치료는 레이저 수술, 저온수술, 전기외과, 및 현미경-제어 수술 (모스 수술)을 포함한다.

[0199] 암성 세포, 조직, 또는 종양의 부분 또는 전부의 절단시, 공동이 체내에 형성될 수 있다. 치료는 관류, 직접 주사, 또는 구역의 국소 적용에 의해 추가 항-암 요법과 함께 수행될 수 있다. 이러한 치료는, 예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7 일마다, 또는 1, 2, 3, 4, 및 5 주마다 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개월마다 반복할 수 있다. 이들 치료제는 또한 가변 투여량일 수 있다.

[0200] I. 다른 제제

[0201] 다른 제제가 치료의 치료학적 효능을 개선시키기 위해 본 발명의 측면의 특정 측면과 조합하여 사용될 수 있다는 것을 고려한다. 이들 추가 제제는 세포 표면 수용체 및 GAP 연결부의 상향조절에 영향을 주는 제제, 세포중식억제 및 분화제, 세포 부착 억제제, 아폽토시스 유발제에 대한 과증식성 세포의 민감성을 증가시키는 제제, 또는 다른 생물학적 제제를 포함한다. GAP 연결부의 수를 상승시켜 세포내 신호화를 증가시키는 것은 이웃 과증식성 세포 집단에 미치는 항-과증식성 효과를 증가시킬 것이다. 다른 측면에서, 세포중식억제 또는 분화 제제는 치료제의 항-과증식성 효능을 개선시키는 본 발명의 측면의 특정 측면과 조합하여 사용할 수 있다. 세포 부착 억제제는 본 발명의 측면의 효능을 개선시키는 것으로 고려된다. 세포 부착 억제제의 예는 국소 부착 키나제 (FAKs) 억제제 및 로바스타틴이다. 과증식성 세포의 아폽토시스에 대한 민감성을 증가시키는 다른 제제, 예를 들면, 항체 c225는, 치료 효능을 개선시키기 위해 본 발명의 측면의 특정 측면과 조합하여 사용될 수 있음을 추가로 고려한다.

[0202] XI. 단백질성 조성물

[0203] 본원에 사용된 "단백질" "펩타이드" 또는 "폴리펩타이드"는 적어도 5개의 아미노산 잔기를 포함하는 분자를 언급한다. 본원에 사용된 용어 "야생형"은 유기체에서 자연 발생하는 분자의 내인성 버전을 언급한다. 일부 측면에서, 단백질 또는 폴리펩타이드의 야생형 버전이 이용되지만, 그러나, 다수의 본 개시내용의 측면에서, 변형된 단백질 또는 폴리펩타이드는 이용되어 면역 반응을 생성한다. 상기한 용어는 상호교환되어 사용될 수 있다. "변형된 단백질" 또는 "변형된 폴리펩타이드" 또는 "변종"은 이의 화학적 구조, 특히 이의 아미노산 서열이, 야생형 단백질 또는 폴리펩타이드에 비해 변경된 단백질 또는 폴리펩타이드를 언급한다. 일부 측면에서, 변형된/변종 단백질 또는 폴리펩타이드는 적어도 하나의 변형된 활성 또는 기능을 갖는다 (단백질 또는 폴리펩타이드는 이 다중 활성 또는 기능을 가질 수 있음을 인식함). 변형된/변종 단백질 또는 폴리펩타이드는 하나의 활성 또는 기능에 대해 변경될 수 있지만, 다른 사항, 예를 들면, 면역원성에서 야생형 활성 또는 기능을 유지하는 것을 특히 고려한다.

[0204] 단백질이 본원에 구체적으로 언급되는 경우, 일반적으로 네이티브 (야생형) 또는 재조합 (변형된) 단백질 또는, 임의로, 임의의 신호 서열이 제거된 단백질에 대한 언급이다. 단백질은 재조합 DNA/외인 발현 방법으로 생성되거나 고상 펩타이드 합성 (SPPS) 또는 다른 시험관내 방법으로 생성된 네이티브인 유기체로부터 직접적으로 단리될 수 있다. 특정 측면에서, 폴리펩타이드 (예를 들면, 항체 또는 이의 단편)를 암호화하는 핵산 서열을 도입하는 단리된 핵산 분절 및 재조합 벡터가 있다. 용어 "재조합"은 폴리펩타이드 또는 특이적 폴리펩타이드의 명칭과 함께 사용될 수 있고, 이는 일반적으로 시험관내 처리되거나 이러한 분자의 복제 생성물인 핵산 분자로부터 생성된 폴리펩타이드를 언급한다.

[0205] 특정 측면에서 단백질 또는 폴리펩타이드 (야생형 또는 변형)의 크기는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 또는 2000 아미노산 잔기 또는 핵산 잔기 그 이상, 및 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위, 또는 본원에 기재되거나 언급된 상응하는 아미노 서열의 유도체를 포함할 수 있다. 폴리펩타이드는, 이를 더 짧게 만드는 이들의 상응하는 야생형 형태보다 절단에 의해 돌연변이될 수 있고, 또한, 이들은 이중 단백질 또는 폴리펩타이드 서열을 특정 기능 (예를 들면, 표적화 또는 국소화, 개선된 면역원성, 정제 목적을 위해 등)과 접합하여 융합 또는 접합에 의해 변경될 수 있음을 고려한다.

[0206] 본 개시내용의 폴리펩타이드 또는 단백질을 암호화하는 폴리펩타이드, 단백질, 또는 폴리뉴클레오티드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 또는 그 이상의 변종 아미노산 또는 핵산 치환을 포함할 수 있거나, 서열번호 1-34의 적어도, 또는 최대 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 300, 400, 500, 550, 1000개 이상 인접한 아미노산 또는 핵산, 또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위와 적어도 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 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%, 또는 100% (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 유사하거나 동일하거나 동종일 수 있다. 특정 측면에서, 펩타이드 또는 폴리펩타이드는 사람 서열이거나, 사람 서열을 기초로 한다. 특정 측면에서, 펩타이드 또는 폴리펩타이드는 천연 발생이 아니고/거나, 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 조합으로 존재할 수 있다.

[0207] 일부 측면에서, 단백질, 폴리펩타이드, 또는 핵산은 서열번호 1-34의 아미노산 또는 뉴클레오티드 1 내지 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 또는 320 (또는 그 내의 유도

할 수 있는 임의의 범위)을 포함할 수 있다.

[0208] 일부 측면에서, 단백질은, 폴리펩타이드는, 핵산은, 또는 핵산에 의해 암호화되는 폴리펩타이드 또는 단백질은 서열번호 1-34의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 또는 320 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 인접한 아미노산 또는 핵산을 포함할 수 있다.

[0209] 일부 측면에서, 단백질은, 폴리펩타이드는, 핵산은, 또는 핵산에 의해 암호화되는 폴리펩타이드 또는 단백질은, 서열번호 1-34 중 하나와 적어도, 최대, 또는 정확히 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 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%, 또는 100% (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 유사하거나 동일하거나 동종인 서열번호 1-34의 적어도, 최대, 또는 정확히 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 또는 320 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 인접한 아미노산을 포함할 수 있다.

[0210] 일부 측면에서 서열번호 1-34 중 어느 것의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233,

234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 또는 950에서 시작하는 핵산 분자 또는 폴리펩타이드가 있고, 서열번호 1-34 중 어느 것의 적어도, 최대, 또는 정확히 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306,

307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 또는 950 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 인접한 아미노산 또는 뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 분자 또는 폴리펩타이드가 있다.

[0211]

일부 측면에서, 서열번호 1-34 중 하나의 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 위치 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328,

329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 또는 400에서 아미노산은 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 또는 발린으로 치환된다.

[0212] 다양한 유전자에 대한 뉴클레오티드 뿐만 아니라 단백질, 폴리펩타이드, 및 펩타이드 서열은 이전에 개시되었고, 인지도된 컴퓨터 데이터베이스에서 발견될 수 있다. 2개의 공통 사용되는 데이터베이스는 국립 생명공학 정보 진뱅크 및 GenPept 데이터베이스 센터 (the National Center for Biotechnology Information's Genbank and GenPept databases) (범세계 통신망 ncbi.nlm.nih.gov/) 및 보편 단백질 자원 (The Universal Protein Resource) (UniProt; 범세계 통신망 uniprot.org). 이들 유전자에 대한 코딩 영역은 본원에 개시된 기술을 사용하여 또는 당해 기술분야의 숙련자에게 공지된 바와 같이 증폭 및/또는 발현될 수 있다.

[0213] 본 개시내용의 조성물에서, ml당 약 0.001 mg 내지 약 10 mg의 총 폴리펩타이드, 펩타이드, 및/또는 단백질이 존재함을 고려한다. 조성물에서 단백질의 농도는 약, 적어도 약 또는 최대 약 0.001, 0.010, 0.050, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0 mg/ml 이상 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위)일 수 있다.

[0214] 단백질의 아미노산 하위유닛을 변경시켜 등가이거나, 심지어 개선된, 두번째-생성 변종 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 생성하는 논의가 하기된다. 예를 들면, 특정 아미노산은, 기관 분자 상 항체 또는 결합 부위의 항원-결합 영역과 같은 구조를 갖는 상호작용 결합 능력의 인식할 수 있는 손실과 함께 또는 손실 없이 단백질 또는 폴리펩타이드 서열에서 다른 아미노산 대신에 치환될 수 있다. 단백질의 기능적 활성을 한정하는 단백질의 상호작용 능력 및 성질 때문에, 특정 아미노산 치환은 단백질 서열 및 이의 상응하는 DNA 코딩 서열에서 수행될 수 있고, 그럼에도 불구하고 유사하거나 바람직한 성질을 갖는 단백질을 생성할 수 있다. 이에 따라 발명자는, 다양한 변화가 이들의 생물학적 이용 또는 활성의 인식할 수 있는 손실 없이 단백질을 암호화하는 유전자의 DNA 서열에서 수행될 수 있다는 것을 고려한다.

[0215] 용어 "기능적으로 등가인 코돈"은 동일한 아미노산을 암호화하는 코돈, 예를 들면, 아르기닌에 대한 6개의 상이한 코돈을 언급하기 위해 본원에 사용된다. 또한 생물학적으로 등가인 아미노산을 암호화하는 코돈 또는 코돈들의 변형을 언급하는 "중성 치환" 또는 "중성 돌연변이"가 고려된다.

[0216] 본 개시내용의 아미노산 서열 변종은 치환, 삽입, 또는 결실 변종일 수 있다. 본 개시내용의 폴리펩타이드의 변형은, 야생형과 비교하여 (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위) 단백질 또는 폴리펩타이드의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 또는 그 이상의 비-인접한 또는 인접한 아미노산에 영향을 줄 수 있다. 변종은 본원에 제공되거나 언급된 임의의 서열과 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90%, 그 사이의 모든 값 및 범위를 포함하여, 상응하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 변종은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 또는 그 이상의 치환된 아미노산을 포함할 수 있다.

[0217] 아미노산 및 핵산 서열이 추가 잔기, 예를 들면, 추가 N- 또는 C-말단 아미노산, 또는 각각 5' 또는 3' 서열을 포함할 수 있고, 또한 서열이 단백질 발현이 관련되는 곳에서 생물학적 단백질 활성의 유지를 포함하는 상기 설정된 기준을 만족하는 한, 여전히 본원에 개시된 서열 중 하나에 기재된 것과 본질적으로 동일할 수 있다는 것을 또한 이해할 수 있다. 말단 서열의 추가는 특히, 예를 들면, 코딩 영역의 5' 또는 3' 부분의 어느 하나의 측면의 다양한 비-코딩 서열을 포함할 수 있는, 핵산 서열에 적용된다.

[0218] 결실 변종은 전형적으로 네이티브 또는 야생형 단백질 중 하나 이상의 잔기가 결핍된다. 개별적인 잔기는 결실될 수 있거나, 인접한 아미노산의 수는 결실될 수 있다. 정지 코돈은 암호화 핵산 서열 내로 (치환 또는 삽입에 의해) 도입되어 절단된 단백질을 생성할 수 있다.

[0219] 삽입 돌연변이는 전형적으로 폴리펩타이드 내 비-말단 지점에 아미노산 잔기의 추가를 수반한다. 이는 하나 이상의 아미노산 잔기의 삽입을 포함할 수 있다. 말단 추가는 또한 생성될 수 있고, 본원에 기재되고 언급된 하나 이상의 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 다량체 또는 연쇄동일서열인 융합 단백질을 포함할 수 있다.

[0220] 치환 변종은 전형적으로 단백질 또는 폴리펩타이드 내의 하나 이상의 부위에서 하나의 아미노산의 또다른 것으로

로 교환을 포함하고, 다른 기능 또는 성질의 손실없이 폴리펩타이드의 하나 이상의 성질을 조절하기 위해 설계될 수 있다. 치환은 보존적일 수 있고, 즉, 하나의 아미노산은 유사한 화학적 성질 중 하나와 대체된다. "보존적 아미노산 치환"은 하나의 아미노산 부류의 구성원의 동일한 부류의 또다른 구성원으로 교환을 수반할 수 있다. 보존적 치환은 당해 기술에 잘 공지되어 있고, 예를 들면, 하기 변화를 포함한다: 알라닌에서 세린; 아르기닌에서 리신; 아스파라긴에서 글루타민 또는 히스티딘; 아스파르테이트에서 글루타메이트; 시스테인에서 세린; 글루타민에서 아스파라긴; 글루타메이트에서 아스파르테이트; 글리신에서 프롤린; 히스티딘에서 아스파라긴 또는 글루타민; 이소류신에서 류신 또는 발린; 류신에서 발린 또는 이소류신; 리신에서 아르기닌; 메티오닌에서 류신 또는 이소류신; 페닐알라닌에서 티로신, 류신 또는 메티오닌; 세린에서 트레오닌; 트레오닌에서 세린; 트립토판에서 티로신; 티로신에서 트립토판 또는 페닐알라닌; 및 발린에서 이소류신 또는 류신. 보존적 아미노산 치환은 생물학적 시스템 내 합성보다는 화학적 펩타이드 합성에 의해 전형적으로 도입되는 비-천연 발생 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 이들은 펩티도미메틱 또는 다른 반전된 또는 역전된 형태의 아미노산 모이어티를 포함한다.

[0221] 대안적으로, 치환은 "비-보존적"일 수 있고, 이에 폴리펩타이드의 기능 또는 활성이 영향을 받는다. 비-보존적 변화는 전형적으로 아미노산 잔기를 화학적으로 유사하지 않은 것으로 치환되는 것, 예를 들면, 비극성 또는 하전되지 않은 아미노산에 대해 극성 또는 하전된 아미노산으로 치환되는 것을 포함하고, 그 반대도 가능하다. 비-보존적 치환은 아미노산 부류 중 하나의 구성원을 또다른 부류로부터 구성원으로 교환할 수반할 수 있다.

[0222] 당해 기술분야의 숙련가는 잘 공지된 기술을 사용하여 본원에 기재된 폴리펩타이드의 적합한 변종을 결정할 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가는 활성에 중요한 것으로 고려되지 않는 영역을 표적화하여 활성을 파괴하지 않고 변화될 수 있는 적합한 영역의 분자를 확인할 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가는 또한 유사한 단백질 또는 폴리펩타이드 중에서 보존되는 아미노산 잔기 및 분자의 부분을 확인할 수 있다. 추가 측면에서, 생물학적 활성 또는 구조에서 중요할 수 있는 영역은 유의하게 생물학적 활성을 변경시키지 않거나 단백질 또는 폴리펩타이드 구조에 유해한 영향을 주지 않고 보존적 아미노산 치환 대상일 수 있다.

[0223] 이러한 변화의 실행시, 아미노산의 수치요법 지수이 고려될 수 있다. 단백질의 수치요법 프로파일은 각각의 아미노산을 수치 값 ("수치요법 지수")으로 평가하고, 이어서, 펩타이드 쇄에 따른 이들 값을 반복적으로 평균하여 계산한다. 각각의 아미노산은 이의 소수성 및 하전 특성을 기초로 하는 값을 할당받았다. 이들은 다음과 같다: 이소류신 (+4.5); 발린 (+4.2); 류신 (+3.8); 페닐알라닌 (+2.8); 시스테인/시스테인 (+2.5); 메티오닌 (+1.9); 알라닌 (+1.8); 글리신 (-0.4); 트레오닌 (-0.7); 세린 (-0.8); 트립토판 (-0.9); 티로신 (-1.3); 프롤린 (1.6); 히스티딘 (-3.2); 글루타메이트 (-3.5); 글루타민 (-3.5); 아스파르테이트 (-3.5); 아스파라긴 (-3.5); 리신 (-3.9); 및 아르기닌 (-4.5). 단백질에 상호작용 생물학적 기능을 부여하는 수치요법 아미노산 지수의 중요성은 일반적으로 당해 기술 분야에서 이해된다 (참조: Kyte *et al.*, J. Mol. Biol. 157:105-131 (1982)). 아미노산의 상대적 수치요법 특징이 수득한 단백질 또는 폴리펩타이드의 이차 구조에 기여하고, 이는 차례로 단백질 또는 폴리펩타이드의 다른 분자, 예를 들면, 효소, 기관, 수용체, DNA, 항체, 항원, 및 기타와의 상호작용을 한정하는 것이 허용된다. 특정 아미노산이 유사한 수치요법 지수 또는 점수를 갖는 다른 아미노산에 대해 치환될 수 있고, 여전히 유사한 생물학적 활성을 유지하는 것으로 또한 공지된다. 수치요법 지수에 기초한 변화를 수행할 때, 특정 측면에서, 이의 수치요법 지수가 ± 2 이내인 아미노산의 치환이 포함된다. 본 발명의 일부 측면에서, ± 1 이내인 것이 포함되고, 본 발명의 다른 측면에서, ± 0.5 이내인 것이 포함된다.

[0224] 또한 유사 아미노산의 치환은 친수성을 기초로 하여 효과적으로 실행될 수 있다는 것이 당해 기술 분야에 이해된다. 본원에 참조로서 포함되는 미국 특허 4,554,101에서, 이의 인접한 아미노산의 친수성에 의해 제어되는 단백질의 최대 국소 평균 친수성이, 단백질의 생물학적 성질과 상호연관된다는 것이 기재된다. 특정 측면에서, 이의 인접한 아미노산의 친수성에 의해 제어되는 단백질의 최대 국소 평균 친수성이, 즉, 단백질의 생물학적 성질로서 이의 면역원성 및 항원 결합과 상호연관된다. 하기한 친수성 값은 이들 아미노산 잔기에 할당된다: 아르기닌 (+3.0); 리신 (+3.0); 아스파르테이트 (+3.0 $\pm$ 1); 글루타메이트 (+3.0 $\pm$ 1); 세린 (+0.3); 아스파라긴 (+0.2); 글루타민 (+0.2); 글리신 (0); 트레오닌 (-0.4); 프롤린 (-0.5 $\pm$ 1); 알라닌 (-0.5); 히스티딘 (-0.5); 시스테인 (-1.0); 메티오닌 (-1.3); 발린 (-1.5); 류신 (-1.8); 이소류신 (-1.8); 티로신 (-2.3); 페닐알라닌 (-2.5); 및 트립토판 (-3.4). 유사한 친수성 값을 기초로 한 변화의 실행시, 특정 측면에서, 친수성 값이 ± 2 이내인 아미노산의 치환이 포함된다. 다른 측면에서, ± 1 이내인 것이 포함되고, 또한 다른 측면에서, ± 0.5 이내인 것이 포함된다. 일부 경우, 또한 친수성을 기초로 하여 일차 아미노산 서열로부터 에피토프를 확인할 수 있다. 이들 영역은 또한 "에피토프 코어 영역"으로 언급된다. 아미노산이 유사한 친수성 값을 갖는 또다른 것으로 치환될 수 있고, 여전히 생물학적 등가 및 면역학적 등가 단백질을 제조하는 것으로 이해된다.

- [0225] 추가로, 당해 기술분야의 숙련가는 활성 또는 구조에 중요한 유사한 폴리펩타이드 또는 단백질에서 잔기를 확인하는 구조-기능 연구를 검토할 수 있다. 이러한 비교의 관점에서, 유사한 단백질에서 활성 또는 구조에 중요한 아미노산 잔기에 상응하는 단백질에서 아미노산 잔기의 중요성을 예측할 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가는 이러한 예측되는 중요한 아미노산 잔기에 대한 화학적으로 유사한 아미노산 치환을 선택할 수 있다.
- [0226] 당해 기술분야의 숙련가는 또한 유사한 단백질 또는 폴리펩타이드에서 당해 구조와 관련된 3-차원 구조 및 아미노산 서열을 분석할 수 있다. 이러한 정보의 관점에서, 당해 기술분야의 숙련가는 이의 3-차원 구조에 대한 항체의 아미노산 잔기의 정렬을 예측할 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가는, 이러한 잔기가 다른 분자와의 중요한 상호작용에 연관될 수 있기 때문에, 단백질의 표면에 있는 것으로 예측되는 아미노산 잔기에 변화를 실행하지 않도록 선택할 수 있다. 또한, 당해 기술분야의 숙련가는 각각의 목적하는 아미노산 잔기에서 단일 아미노산 치환을 포함하는 시험 변종을 생성할 수 있다. 이어서, 이들 변종은 결합 및/또는 활성을 위한 표준 검정을 사용하여 선별될 수 있고, 이에 따라 당해 기술분야의 숙련가가 추가 치환이 단독으로 다른 돌연변이와 함께 방지되어야 하는 아미노산 위치를 측정할 수 있도록 하는 이러한 일상적인 실험으로부터 수집된 정보를 수득한다. 이차 구조를 측정하는데 이용되는 다양한 툴은 범세계통신망 [expasy.org/proteomics/protein structure](http://expasy.org/proteomics/protein_structure)에서 발견될 수 있다.
- [0227] 본 발명의 일부 측면에서, 아미노산 치환은: (1) 프로테오용해에 대한 감수성을 감소시키고, (2) 산화에 대한 감수성을 감소시키고, (3) 단백질 복합물을 형성하기 위한 결합 친화도를 변화시키고, (4) 리간드 또는 항원 결합 친화도를 변경하고/하거나, (5) 이러한 폴리펩타이드에 다른 물리화학적 또는 기능적 성질을 부여 또는 변형하도록 실행된다. 예를 들면, 단일 또는 다중 아미노산 치환 (특정 측면에서, 보존적 아미노산 치환)은 천연 발생 서열에서 실행될 수 있다. 치환은 분자간 접촉을 형성하는 도메인(들) 밖에 있는 항체의 부분에서 실행될 수 있다. 이러한 측면에서, 보존적 아미노산 치환은 단백질 또는 폴리펩타이드의 구조적 특성을 실질적으로 변화시키지 않는 것을 사용할 수 있다 (예를 들면, 네이티브 항체를 특징으로 하는 이차 구조를 붕괴시키지 않는 하나 이상의 교체 아미노산).
- [0228] **XII. 핵산**
- [0229] 특정 측면에서, 핵산 서열은 하기와 같이 다양하게 존재할 수 있다: 도입된 서열의 단리된 분절 및 재조합 벡터 또는 본 개시내용의 펩타이드 및 폴리펩타이드를 암호화하는 재조합 폴리뉴클레오티드, 또는 이의 단편, 유도체, 뮤테인, 또는 변종, 하이브리드화 프로브로서 사용하기 위해 충분한 폴리뉴클레오티드, 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 확인, 분석, 돌연변이 또는 증폭시키기 위한 PCR 프라이머 또는 서열분석 프라이머, 폴리뉴클레오티드의 발현을 억제하기 위한 안티-센스 핵산, 및 본원에 상기한 것의 상보 서열. 이들 펩타이드를 포함하는 융합 단백질을 암호화하는 핵산이 또한 제공된다. 핵산은 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고, RNA 및/또는 DNA 뉴클레오티드 및 이의 인공 변종 (예를 들면, 펩타이드 핵산)을 포함할 수 있다.
- [0230] 용어 "폴리뉴클레오티드"는 재조합되거나 전체 게놈 핵산으로부터 단리된 핵산 분자를 언급한다. 용어 "폴리뉴클레오티드"에는 올리고뉴클레오티드 (핵산 100 잔기 이하의 길이), 재조합 벡터가 포함되고, 예를 들면, 플라스미드, 코스미드, 파지, 바이러스 등을 포함한다. 폴리뉴클레오티드는, 특정 측면에서, 이들의 천연 발생 유전자 또는 서열을 암호화하는 단백질로부터 실질적으로 단리된 조절 서열을 포함한다. 폴리뉴클레오티드는 단일-가닥 (코딩 또는 안티센스) 또는 이중-가닥일 수 있고, RNA, DNA (게놈, cDNA 또는 합성), 이의 유사체, 또는 이의 조합일 수 있다. 추가 코딩 또는 비-코딩 서열은, 반드시 필수적이지는 않지만, 폴리뉴클레오티드 내에 존재할 수 있다.
- [0231] 이와 관련하여, 용어 "유전자", "폴리뉴클레오티드", 또는 "핵산"을 단백질, 폴리펩타이드, 또는 펩타이드 (적합한 전사, 유전암호해독-후 변형, 또는 국소화를 위해 필요한 임의의 서열을 포함함)를 암호화하는 핵산을 언급하기 위해 사용한다. 당해 기술 분야의 숙련가가 이해할 수 있는 바와 같이, 이러한 용어는 단백질, 폴리펩타이드, 도메인, 펩타이드, 융합 단백질, 및 돌연변이를 발현하거나 발현하도록 개조될 수 있는, 게놈 서열, 발현 카세트, cDNA 서열, 및 더 작은 조작된 핵산 분절을 포함한다. 폴리펩타이드의 전부 또는 일부를 암호화하는 핵산은 이러한 폴리펩타이드의 전부 또는 일부를 암호화하는 인접한 핵산 서열을 포함할 수 있다. 특정 폴리펩타이드가 약간 상이한 핵산 서열을 갖는 변형을 포함하는 핵산에 의해 암호화될 수 있지만, 그럼에도 불구하고, 동일하거나 실질적으로 유사한 단백질을 암호화한다는 것을 또한 고려한다.
- [0232] 특정 측면에서, 본원에 개시된 서열과 상당한 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 변종; 본원에 기재된 방법 (예를 들면, 표준 파라미터를 사용하는 BLAST 분석)을 사용하여 본원에 제공된 폴리뉴클레오티드 서열과 비교하여, 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 이상의 서열 동일성, 그 사이의 모든 값 및 범

위를 포함하는 것이 있다. 특정 측면에서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 서열의 전체 길이에 걸쳐서 본원에 기재된 아미노산 서열과 적어도 90%, 바람직하게는 95% 및 그 초과와 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 것이다; 또는 뉴클레오티드 서열은 상기 단리된 폴리뉴클레오티드와 상보성이다.

[0233] 핵산 분절은, 코딩 서열 자체 길이에 상관없이, 다른 핵산 서열, 예를 들면, 프로모터, 아데닐중합체형성 신호, 추가 제한 효소 부위, 다중 클로닝 부위, 다른 코딩 분절 등과 조합할 수 있어서, 이들의 전반적 길이는 상당히 가변적일 수 있다. 핵산은 임의의 길이일 수 있다. 이들은, 예를 들면, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1000, 1500, 3000, 5000개 이상 뉴클레오티드 길이일 수 있고/있거나, 하나 이상의 추가 서열, 예를 들면, 조절 서열을 포함할 수 있고/있거나, 거대 핵산의 부분, 예를 들면, 벡터일 수 있다. 따라서, 대부분 임의의 길이의 핵산 단편이 이용될 수 있고, 총 길이는 바람직하게는 제조 용이성 및 의도된 재조합 핵산 프로토콜의 사용에 의해 제한된다는 것을 고려한다. 일부 경우, 핵산 서열은 추가 이중 코딩 서열을 갖는 폴리펩타이드 서열을 암호화할 수 있고, 이는 예를 들면 폴리펩타이드의 정제, 수송, 분비, 유전암호해독-후 변형을 가능하게 하거나, 치료학적 이득, 예를 들면, 표적화 또는 효능을 가능하게 한다. 상기 논의된 바와 같이, 태그 또는 다른 이중 폴리펩타이드는 변형된 폴리펩타이드-암호화 서열에 추가될 수 있고, 여기서, "이중"은 변형된 폴리펩타이드와 동일하지 않는 폴리펩타이드를 언급한다.

[0234] A. 하이브리드화

[0235] 핵산은 특정 하이브리드화 조건하에 다른 핵산에 하이브리드화한다. 핵산을 하이브리드화하는 방법은 당해 기술에 잘 공지되어 있다. 예를 들면, 문헌을 참조한다 [참조: Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6]. 본원에 정의된 바와 같이, 중등 엄격 하이브리드화 조건은 5x 나트륨 클로라이드/나트륨 시트레이트 (SSC), 0.5% SDS, 1.0 mM EDTA (pH 8.0), 약 50% 포름아미드의 하이브리드화 완충액, 6xSSC를 포함하는 사전 세척 용액, 및 55°C의 하이브리드화 온도를 사용한다. (또는 다른 유사한 하이브리드화 용액, 예를 들면, 약 50% 포름아미드를 포함하는 것, 42°C의 하이브리드화 온도 사용), 및 0.5xSSC, 0.1% SDS에서 60°C의 세척 조건. 세척한다. 엄격 하이브리드화 조건은 6xSSC에서 45°C에서 하이브리드화하고, 이어서, 0.1xSSC, 0.2% SDS에서 68°C에서 1회 이상 세척한다. 추가로, 당해 기술분야의 숙련가는 하이브리드화 및/또는 세척 조건을 조작하여 하이브리드화의 엄격성을 증가 또는 감소시킬 수 있고, 이에 서로와 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산은 전형적으로 서로에게 하이브리드화되어 유지된다.

[0236] 하이브리드화 조건의 선택에 영향을 미치는 파라미터 및 적합한 조건을 고안하기 위한 지침은, 예를 들면, 문헌에 기재되어 있고 [참조: Sambrook, Fritsch, and Maniatis (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., chapters 9 and 11 (1989); Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel *et al.*, eds., John Wiley and Sons, Inc., sections 2.10 and 6.3-6.4 (1995), 둘다 이들의 전문이 모든 목적을 위해 본원에 참조로서 포함됨), 예를 들면, DNA의 길이 및/또는 염기 조성을 기초로 하여, 당해 기술분야의 숙련가가 갖는 기술에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0237] B. 돌연변이

[0238] 변화는 돌연변이에 의해 핵산으로 도입될 수 있고, 이에 따라, 이를 암호화하는 폴리펩타이드 (예를 들면, 항원 펩타이드 또는 폴리펩타이드)의 아미노산 서열의 변화를 야기한다. 돌연변이는 당해 기술에 공지된 임의의 기술을 사용하여 도입될 수 있다. 하나의 측면에서, 하나 이상의 특정한 아미노산 잔기를, 예를 들면, 부위-지시된 돌연변이유발 프로토콜을 사용하여 변화시킨다. 또다른 측면에서, 하나 이상의 무작위 선택된 잔기를, 예를 들면, 랜덤 돌연변이유발 프로토콜을 사용하여 변화시킨다. 그러나, 돌연변이 폴리펩타이드는 목적하는 성질을 위해 발현 및 선별될 수 있도록 수행된다.

[0239] 돌연변이는 이를 암호화하는 폴리펩타이드의 생물학적 활성을 상당히 변화시키지 않고 핵산으로 도입될 수 있다. 예를 들면, 비-필수 아미노산 잔기에서 아미노산 치환을 야기하는 뉴클레오티드 치환을 수행할 수 있다. 대안적으로, 하나 이상의 돌연변이를 이를 암호화하는 폴리펩타이드의 생물학적 활성을 선택적으로 변화시키는 핵산으로 도입할 수 있다. 예를 들면, 문헌을 참조한다 [참조: Romain Studer *et al.*, Biochem. J. 449:581-594 (2013)]. 예를 들면, 돌연변이는 정량적으로 또는 정성적으로 생물학적 활성을 변화시킬 수 있다. 정량적인 변화의 예는 활성의 증가, 감소 또는 제거를 포함한다. 정성적인 변화의 예는 항체의 항원 특이성을 변화시킴을 포함한다.

[0240] **C. 프로브**

[0241] 또다른 측면에서, 핵산 분자는 핵산 서열의 검출을 위해 프라이머 또는 하이브리드화 프로브로서 사용하기 위해 적합하다. 핵산 분자는 전체-길이 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열의 부분만을, 예를 들면, 프로브 또는 프라이머로서 사용할 수 있는 단편 또는 제공된 폴리펩타이드의 활성 부분을 암호화하는 단편을 포함할 수 있다.

[0242] 또다른 측면에서, 핵산 분자는 특정 핵산 서열을 위한 프로브 또는 PCR 프라이머로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 핵산 분자 프로브를 진단 방법에서 사용할 수 있거나, 핵산 분자 PCR 프라이머를 그 중에서도 본 개시내용의 조작된 세포의 생성시 사용하기 위한 핵산 서열을 단리하기 위해 사용될 수 있는 DNA의 영역을 증폭하기 위해 사용할 수 있다. 바람직한 측면에서, 핵산 분자는 올리고뉴클레오타이드이다.

[0243] 핵산의 목적하는 서열을 기초로 하는 프로브는 핵산 또는 유사한 핵산, 예를 들면, 관심 대상 폴리펩타이드를 암호화하는 전사를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 프로브는 표지 그룹, 예를 들면, 방사성동위원소, 형광 화합물, 효소, 또는 효소 공동-인자를 포함할 수 있다. 이러한 프로브는 폴리펩타이드를 발현하는 세포를 확인하기 위해 사용할 수 있다.

[0244] **XIII. 폴리펩타이드 발현**

[0245] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리펩타이드 또는 펩타이드 (예를 들면, 항체, TCR 유전자, MHC 분자, 및 면역원성 펩타이드)를 암호화하는 핵산 분자가 있다. 이들은 당해 기술에 공지된 방법, 예를 들면, 면역집중되고 단리된 마우스의 B 세포로부터 단리되고, 파지 디스플레이되고, 임의의 적합한 재조합 발현 시스템에서 발현되고 조립되어 항체 분자를 형성하거나, 또는 재조합 방법에 의해 생성될 수 있다.

[0246] 핵산 분자는 대량의 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 사용할 수 있다. 핵산 분자가 비-사람, 비-유전자이식 동물로부터 유도되는 경우, 핵산 분자는 항체 또는 TCR 유전자의 사람화를 위해 사용할 수 있다.

[0247] **A. 벡터**

[0248] 일부 측면에서, 목적하는 서열의 폴리펩타이드 또는 이의 부분(예를 들면, 하나 이상의 CDRs 또는 하나 이상의 가변 영역 도메인을 포함하는 단편)을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터가 고려된다. 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터는 중쇄, 경쇄, 또는 이의 항원-결합 부분을 암호화할 수 있다. 일부 측면에서, 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터는 융합 단백질, 항원 펩타이드 및 폴리펩타이드, TCR 유전자, MHC 분자, 변형된 항체, 항체 단편, 및 이의 프로브를 암호화할 수 있다. 전사 및 유전암호해독을 지배하는 제어 서열에 추가하여, 벡터 및 발현 벡터는 다른 기능을 또한 수행하는 핵산 서열을 포함할 수 있다.

[0249] 본 개시내용의 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 발현시키기 위해, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 DNA가 발현 벡터 내로 삽입되어 유전자 영역은 전사 및 유전암호해독 제어 서열에 작동적으로 결합된다. 일부 측면에서, 적합한 제한 부위를 갖는 기능적으로 완전 사람 CH 또는 CL 면역글로불린 서열을 암호화하는 벡터를 조작하여 임의의 VH 또는 VL 서열을 용이하게 삽입 및 발현할 수 있다. 일부 측면에서, 적합한 제한 부위를 갖는 기능적으로 완전 사람 TCR 알파 또는 TCR 베타 서열을 암호화하는 벡터를 조작하여 임의의 가변 서열 또는 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3를 용이하게 삽입 및 발현할 수 있다. 전형적으로, 숙주 세포 중 어느 것에 사용되는 발현 벡터는 플라스미드 또는 바이러스 유지를 위한 및 외인 뉴클레오타이드 서열의 클로닝 및 발현을 위한 서열을 포함한다. 이러한 서열은, "인접 서열"로서 일괄적으로 언급되고, 전형적으로 하기한 작동적으로 결합된 뉴클레오타이드 서열 중 하나 이상: 프로모터, 하나 이상의 인핸서 서열, 복제의 기원, 전사 종료 서열, 공여자 및 수용체 슬라이스 부위를 포함하는 완전 인트론 서열, 폴리펩타이드 분비에 대해 리더 서열을 암호화하는 서열, 리보솜 결합 부위, 아데닐중합체형성 서열, 발현되는 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 삽입하기 위한 폴리링커 영역, 및 선택가능 마커 요소를 포함한다. 이러한 서열 및 이를 사용하는 방법은 당해 기술에 잘 공지되어 있다.

[0250] **B. 발현 시스템**

[0251] 상기 논의된 발현 벡터의 적어도 일부 또는 전부를 포함하는 다수의 발현 시스템이 존재한다. 원핵생물- 및/또는 진핵생물-기반 시스템은 핵산 서열, 또는 이들의 동족 폴리펩타이드, 단백질 및 펩타이드를 생성하는 측면을 이용하는 용도를 위해 이용될 수 있다. 시판되고 널리 이용가능한 시스템은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 박테리아, 포유동물, 효모, 및 곤충 세포 시스템을 포함한다. 상이한 숙주 세포는 단백질의 유전암호해독-후 프로세싱 및 변형 특성 및 특이적 기전을 갖는다. 적합한 세포주 또는 숙주 시스템을 선택하여 발현된 외래 단백질의 올바른 변형 및 프로세싱을 보장할 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가는 벡터를 발현시켜 적합한 발현 시스템

을 사용하여 핵산 서열 또는 이의 동족 폴리펩타이드, 단백질, 또는 펩타이드를 제조할 수 있다.

[0252] C. 유전자 전달 방법

[0253] 조성물의 발현에 영향을 주는 적합한 핵산 전달 방법은, 핵산 (예를 들면, 바이러스 및 비-바이러스 벡터를 포함하는 DNA)가 세포 내로, 조직 또는 유기체 내로, 본원에 기재된 바와 같이 또는 당해 기술분야의 숙련가에게 공지된 바와 같이, 도입될 수 있는 사실상 임의의 방법을 포함하는 것이 예상된다. 이러한 방법은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 예를 들면, 미량주사 (참조: Harland and Weintraub, 1985; 미국 특허 5,789,215, 본원에 참조로서 포함됨)를 포함하는 주사에 의해 (미국 특허 5,994,624, 5,981,274, 5,945,100, 5,780,448, 5,736,524, 5,702,932, 5,656,610, 5,589,466 및 5,580,859, 이들 각각은 본원에 참조로서 포함됨); 전기천공에 의해 (미국 특허 번호 5,384,253, 본원에 참조로서 포함됨); 인산칼슘 침전에 의해 (참조: Graham and Van Der Eb, 1973; Chen and Okayama, 1987; Rippe *et al.*, 1990); DEAE 텍스트란, 이어서, 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 (참조: Gopal, 1985); 직접 음과 적체에 의해 (참조: Fechtmeier *et al.*, 1987); 리포솜 매개된 형질감염에 의해 (참조: Nicolau and Sene, 1982; Fraley *et al.*, 1979; Nicolau *et al.*, 1987; Wong *et al.*, 1980; Kaneda *et al.*, 1989; Kato *et al.*, 1991); 미세투사물 충격에 의해 (PCT 출원 번호 WO 94/09699 및 95/06128; 미국 특허 5,610,042; 5,322,783, 5,563,055, 5,550,318, 5,538,877 및 5,538,880, 이들 각각은 본원에 참조로서 포함됨); 탄화규소 섬유로 교반에 의해 (참조: Kaeppler *et al.*, 1990; 미국 특허 5,302,523 및 5,464,765, 이들 각각은 본원에 참조로서 포함됨); 아그로박테륨(*Agrobacterium*) 매개된 변형에 의해 (미국 특허 5,591,616 및 5,563,055, 이들 각각은 본원에 참조로서 포함됨); 또는 원형질체의 PEG 매개된 변형에 의해 (참조: Omirulleh *et al.*, 1993; 미국 특허 4,684,611 및 4,952,500, 이들 각각은 본원에 참조로서 포함됨); 건조/억제 매개된 DNA 흡수에 의해 (참조: Potrykus *et al.*, 1985) DNA의 직접 전달을 포함한다. 다른 방법은 바이러스 형질도입, 예를 들면, 렌티바이러스 또는 레트로바이러스 형질도입에 의한 유전자 전달을 포함한다.

[0254] D. 숙주 세포

[0255] 또다른 측면에서, 재조합 발현 벡터가 도입되는 숙주 세포의 사용이 고려된다. 폴리펩타이드는 다양한 세포 유형에서 발현될 수 있다. 본 개시내용의 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 발현 작제물을 당해 기술에 공지된 다양한 방법에 따라 세포 내로 형질감염할 수 있다. 벡터 DNA를 원핵 또는 진핵 세포 내로 종래의 변형 또는 형질감염 기술을 통해 도입할 수 있다. 일부 벡터는 원핵 및 진핵 세포 둘 다에서 이를 복제 및/또는 발현 되도록 하는 제어 서열을 이용할 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가는 숙주 세포를 인큐베이팅하여 이를 유지하고 벡터의 복제를 허용하는 조건을 이해할 수 있다. 또한 벡터의 대규모 생성, 뿐만 아니라 벡터 및 이들의 동족 폴리펩타이드, 단백질, 또는 펩타이드에 의해 암호화된 핵산의 생성을 가능하게 하는 기술 및 조건이 이해되고 공지되어 있다.

[0256] 포유동물 세포의 안정한 형질감염을 위해, 사용되는 발현 벡터 및 형질감염 기술에 좌우되어, 단지 세포의 소분획만이 외래 DNA를 이들의 계놈 내로 통합할 수 있다는 것이 공지되어 있다. 이들 구성요소를 확인하고 선택하기 위해, 선택가능 마커 (예를 들면, 항생제에 대한 내성에 대해)는 일반적으로 관심 대상 유전자와 함께 숙주 세포 내로 도입된다. 도입된 핵산으로 안정하게 형질감염된 세포는 약물 선택 (예를 들면, 선택가능 마커 유전자가 도입된 세포는 생존하지만, 다른 세포는 사멸한다)에 의해, 당해 기술에 공지된 방법에 의해 확인될 수 있다.

[0257] XIV. 세포의 제형 및 배양

[0258] 특정 측면에서, 본 개시내용의 세포는 특이적으로 제형화할 수 있고/있거나 이들은 특정 배지에서 배양될 수 있다. 세포는 결실유해한 효과 없이 수령자에게 전달하기 위해 적합한 방식으로 제형화될 수 있다.

[0259] 배지는 특정 측면에서 이들의 기저 배지로서 동물 세포 배양을 위해 사용하기 위한 배지, 예를 들면, AIM V, X-VIVO-15, NeuroBasal, EGM2, TeSR, BME, BGJb, CMRL 1066, Glasgow MEM, 개선된 MEM 아연 옵션, IMDM, 배지 199, 이글 MEM, αMEM, DMEM, Ham, RPMI-1640, 및 피셔 배지, 뿐만 아니라 임의의 이의 조합 중 어느 것을 사용하여 제조할 수 있지만, 배지는 동물 세포 배양을 위해 사용될 수 있는 한 특히 이에 제한되지 않을 수 있다. 특히, 배지는 제노-프리 또는 화학적으로 한정될 수 있다.

[0260] 배지는 혈청-함유 또는 무-혈청 배지, 또는 제노-프리 배지일 수 있다. 이중 동물-유도된 성분으로의 오염을 방지하는 측면에서, 혈청은 줄기 세포(들)의 것과 동일한 동물로부터 유도될 수 있다. 무-혈청 배지는 비처리된 또는 비정제된 혈청 부재하에 배지를 언급하고, 따라서, 정제된 혈액-유도된 성분 또는 동물 조직-유도된 성분 (예를 들면, 성장 인자)을 갖는 배지를 포함할 수 있다.

- [0261] 배지는 혈청에 대한 임의의 대안을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있다. 혈청에 대한 대안은 알부민 (예를 들면, 지질-풍부 알부민, 소 알부민, 알부민 대체물, 예를 들면, 재조합 알부민 또는 사람화 알부민, 식물 전분, 텍스트란 및 단백질 가수분해물), 트랜스페린 (또는 다른 철 전달체), 지방 산, 인슐린, 콜라겐 전구체, 미량 요소, 2-머캅토에탄올, 3'-티올글리세롤, 또는 이의 등가물을 적합하게 포함하는 물질을 포함할 수 있다. 혈청에 대한 대안은, 예를 들면, 국제 공보 번호 98/30679 (이의 전문이 본원에 도입됨)에 개시된 방법으로 제조될 수 있다. 대안적으로, 임의의 시판되는 물질은 더욱 보다 용이성을 위해 사용될 수 있다. 시판되는 물질은 녹아웃 혈청 교체 (KSR), 화학적으로-한정된 지질 농축 (Gibco), 및 글루타막스 (Gibco)을 포함한다.
- [0262] 특정 측면에서, 배지는 하기 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상을 포함할 수 있다: 비타민, 예를 들면, 비오틴; DL 알파 토크페롤 아세테이트; DL 알파-토크페롤; 비타민 A (아세테이트); 단백질, 예를 들면, BSA (소 혈청 알부민) 또는 사람 알부민, 지방 산 비함유 분획 V; 카탈라아제; 사람 재조합 인슐린; 사람 트랜스페린; 과산화물 디스무타제; 다른 성분, 예를 들면, 코르티코스테론; D-갈락토스; 에탄올아민 HCl; 글루타티온 (환원된); L-카르니틴 HCl; 리놀레산; 리놀렌산; 프로게스테론; 푸트레신 2HCl; 나트륨 셀레나이트; 및/또는 T3 (트리오도-I-티로닌). 특정 측면에서, 이들 중 하나 이상은 명시적으로 제외될 수 있다.
- [0263] 일부 측면에서, 배지는 비타민을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 배지는 하기한 것 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 또는 13개를 포함한다 (및 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위): 비오틴, DL 알파 토크페롤 아세테이트, DL 알파-토크페롤, 비타민 A, 콜린 클로라이드, 칼슘 판토테네이트, 판토텐산, 엽산 니코틴아미드, 피리독신, 리보플라빈, 티아민, 이노시톨, 비타민 B12, 또는 배지는 이의 조합 또는 이의 염을 포함한다. 일부 측면에서, 배지는 비오틴, DL 알파 토크페롤 아세테이트, DL 알파-토크페롤, 비타민 A, 콜린 클로라이드, 칼슘 판토테네이트, 판토텐산, 엽산 니코틴아미드, 피리독신, 리보플라빈, 티아민, 이노시톨, 및 비타민 B12를 포함하거나 이로써 본질적으로 이루어진다. 일부 측면에서, 비타민은 비오틴, DL 알파 토크페롤 아세테이트, DL 알파-토크페롤, 비타민 A, 또는 이의 조합 또는 염을 포함하거나 이로써 본질적으로 이루어진다. 일부 측면에서, 배지는 단백질을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 단백질은 알부민 또는 소 혈청 알부민, BSA의 분획, 카탈라아제, 인슐린, 트랜스페린, 과산화물 디스무타제, 또는 이의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 배지는 하기한 것 중 하나 이상을 추가로 포함한다: 코르티코스테론, D-갈락토스, 에탄올아민, 글루타티온, L-카르니틴, 리놀레산, 리놀렌산, 프로게스테론, 푸트레신, 나트륨 셀레나이트, 또는 트리오도-I-티로닌, 또는 이의 조합. 일부 측면에서, 배지는 하기한 것 중 하나 이상을 포함한다: B-27® 보충물, 제노-프리 B-27® 보충물, GS21TM 보충물, 또는 이의 조합. 일부 측면에서, 배지는 아미노산, 모노삭카라이드, 무기 이온을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 아미노산은 아르기닌, 시스틴, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 글루타민, 페닐알라닌, 트레오닌, 트립토판, 히스티딘, 티로신, 또는 발린, 또는 이의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 무기 이온은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 질소, 또는 인, 또는 이의 조합 또는 염을 포함한다. 일부 측면에서, 배지는 하기한 것 중 하나 이상을 추가로 포함한다: 몰리브덴, 바나듐, 철, 아연, 셀레늄, 구리, 또는 망간, 또는 이의 조합. 특정 측면에서, 배지는 본원에 논의된 하나 이상의 비타민 및/또는 본원에 논의된 하나 이상의 단백질을 포함하거나 이로써 본질적으로 이루어지고/거나, 하기한 것 중 하나 이상을 포함한다: 코르티코스테론, D-갈락토스, 에탄올아민, 글루타티온, L-카르니틴, 리놀레산, 리놀렌산, 프로게스테론, 푸트레신, 나트륨 셀레나이트, 또는 트리오도-I-티로닌, B-27® 보충물, 제노-프리 B-27® 보충물, GS21TM 보충물, 아미노산 (예를 들면, 아르기닌, 시스틴, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 글루타민, 페닐알라닌, 트레오닌, 트립토판, 히스티딘, 티로신, 또는 발린), 모노삭카라이드, 무기 이온 (예를 들면, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 질소, 및/또는 인) 또는 이의 염, 및/또는 몰리브덴, 바나듐, 철, 아연, 셀레늄, 구리, 또는 망간. 특정 측면에서, 이들 중 하나 이상이 명시적으로 제외될 수 있다.
- [0264] 배지는 또한 하나 이상의 외부 첨가된 지방 산 또는 지질, 아미노산 (예를 들면, 비-필수 아미노산), 비타민(들), 성장 인자, 사이토킨, 항산화제 물질, 2-머캅토에탄올, 피루브산, 완충제, 및/또는 무기 염을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 이들 중 하나 이상이 명시적으로 제외될 수 있다.
- [0265] 배지 성분 중 하나 이상은 적어도, 최대, 또는 약 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 180, 200, 250 ng/L, ng/ml, µg/ml, mg/ml, 또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위의 농도로 첨가될 수 있다.
- [0266] 특정 측면에서, 본 개시내용의 세포는 특별히 제형화된다. 이들은 세포 현탁액로서 제형화될 수 있거나 제형화되지 않을 수 있다. 특정한 경우, 이들은 단일 용량 형태로 제형화된다. 이들은 전신 또는 국소 투여를 위해 제형화될 수 있다. 일부 경우 세포는 사용 전에 저장을 위해 제형화되고, 세포 제형은 하나 이상의 냉동보존제,

예를 들면, DMSO (예를 들면, 5% DMSO 중)를 포함할 수 있다. 세포 제형은 사람 알부민을 포함하는 알부민을 포함할 수 있고, 특정 제형은 2.5% 사람 알부민을 포함한다. 세포는 정맥내 투여를 위해 특히 제형화될 수 있고; 예를 들면, 이들은 1시간 미만 동안 정맥내 투여를 위해 제형화된다. 특정 측면에서 세포는 실온에서 해동 시간부터 1, 2, 3, 또는 4 시간 이상 동안 안정한 제형화된 세포 현탁액이다.

[0267] 일부 측면에서, 상기 방법은 추가로 T 세포를 프라이밍함을 포함한다. 일부 측면에서, T 세포는 항원 제시 세포로 프라이밍된다. 일부 측면에서, 항원 제시 세포는 종양 항원 또는 펩타이드, 예를 들면, 본원에 개시된 것들을 제시한다.

[0268] 특정 측면에서, 본 개시내용의 세포는 외인 TCR을 포함하고, 이는 한정된 항원 특이성, 예를 들면, 서열번호 1에 대해 한정된 항원 특이성일 수 있다. 일부 측면에서, TCR은 의도된 수령자에게 부재하거나 감소된 동종반응성을 기초로 하여 선택될 수 있다 (이의 예는 특정 바이러스-특이적 TCR, 외인-특이적 TCR, 또는 암-고환 항원-특이적 TCR을 포함함). 외인 TCR이 비-동종반응성인 예에서, T 세포 분화 동안 외인 TCR은 대립유전자 배제로 칭명되는 발달 과정을 통해 내인 TCR 유전자자리의 재배열 및/또는 발현을 억압하고, 단지 비-동종반응성 외인 TCR을 발현하고 이에 따라 비-동종반응성이 되는 T 세포를 야기한다. 일부 측면에서, 외인 TCR의 선택이 반드시 동종반응성의 결핍을 기초로 하여 한정될 수 있는 것은 아니다. 일부 측면에서, 내인 TCR 유전자는 게놈 편집에 의해 변형되어, 이들은 단백질을 발현하지 않는다. 유전자 편집 방법, 예를 들면, CRISPR/Cas9 시스템을 사용하는 방법은 당해 기술에 공지되고, 본원에 기재되어 있다.

[0269] XV. 치료학적 조성물의 투여

[0270] 본 개시내용의 방법은 대상자의 암의 치료에 관한 것이다. 일부 측면에서, 치료는 본 개시내용의 특정 펩타이드, 예를 들면, 서열번호 1 또는 2의 펩타이드에 대해 암을 갖거나 암을 갖는 것으로 측정된 대상자에게 지시될 수 있다. 일부 측면에서, 상기 방법을 이러한 암에 대해 양성으로 시험된 개체, 암의 하나 이상의 증상을 갖는 개체, 또는 이러한 암을 발병할 위험이 있는 것으로 간주되는 개체를 위해 이용할 수 있다.

[0271] 본 개시내용의 특정 측면은 암의 치료 및/또는 암 항원의 이용에 관한 것이다. 치료될 암 또는 항원은 당해 기술에 공지된 임의의 암 또는, 예를 들면, 상피 암, (예를 들면, 유방, 위장, 폐), 전립샘 암, 방광 암, 폐 (예를 들면, 소세포 폐) 암, 결장 암, 난소 암, 뇌 암, 위 암, 신장세포 암종, 췌장 암, 간 암, 식도 암, 두경부 암, 또는 결장직장 암과 연관된 항원일 수 있다. 일부 측면에서, 치료될 암 또는 항원은 하기의 암 중 하나이다: 부신피질 암종, 원인불명골수화생, AIDS-관련 암 (예를 들면, AIDS-관련 림프종), 항문 암, 충수 암, 별아교세포종 (예를 들면, 소뇌 및 뇌), 기저 세포 암종, 담관 암 (예를 들면, 간외), 방광 암, 골 암, (골육종 및 악성 섬유 조직구종), 뇌 종양 (예를 들면, 신경아교종, 뇌줄기신경아교종, 소뇌 또는 뇌 별아교세포종 (예를 들면, 털모양 별아교세포종, 미만성 별아교세포종, 역형성 (악성) 별아교세포종), 악성 신경아교종, 뇌실막종, 희소돌기아교세포종, 수막종, 수막육종, 두개인두종, 혈관모세포종, 수모세포종, 천막위 원시신경외배엽 종양, 시각 경로 및 시상하부 신경아교종, 및 아교모세포종), 유방 암, 기관지 샘종/카르시노이드, 카르시노이드 종양 (예를 들면, 위장 카르시노이드 종양), 미궁지 일차 암종, 중추신경계 림프종, 자궁경부 암, 결장 암, 결장직장 암, 만성 골수증식 장애, 자궁내막 암 (예를 들면, 자궁 암), 뇌실막종, 식도 암, 종양의 유인 패밀리, 눈 암 (예를 들면, 안내 흑색종 및 망막모세포종), 담낭 암, 위 (위장) 암, 위장 카르시노이드 종양, 위장 기질 종양 (GIST), 배아 세포 종양, (예를 들면, 두개의, 고환외, 난소), 임신 영양막 종양, 두경부 암, 간세포 (간) 암 (예를 들면, 간 암종 및 간암), 하인두 암, 섬 세포 암종 (내분비 췌장), 후두 암, 후두 암, 백혈병, 입술 및 구강 암, 경구 암, 간 암, 폐 암 (예를 들면, 소세포 폐 암, 비-소세포 폐 암, 폐의 샘암종, 및 폐의 편평암종), 림프구 신생물 (예를 들면, 림프종), 속질모세포종, 난소 암, 중피종, 전이 편평 경부 암, 구강 암, 다중 내분비 신생물 증후군, 골수형성이상 증후군, 골수형성이상/골수증식 질환, 비강 및 부비동 암, 코인두 암, 신경모세포종, 신경내분비 암, 입인두 암, 난소 암 (예를 들면, 난소 상피 암, 난소 배아 세포 종양, 난소 낮은 악성 가능성 종양), 췌장 암, 부갑상샘 암, 음경 암, 복막의 암, 인두 암, 크롬친화세포종, 송과체모세포종 및 천막위 원시신경외배엽 종양, 뇌하수체 종양, 가슴막폐 모세포종, 림프종, 일차 중추신경계 림프종 (미세아교세포종), 폐 림프관근종증, 직장 암, 신장 암, 신우 및 요관 암 (이행 세포 암), 횡문근육종, 침샘 암, 피부 암 (예를 들면, 비-흑색종 (예를 들면, 편평세포 암종), 흑색종, 및 메르켈 세포 암종), 소장 암, 편평세포 암, 고환 암, 인후 암, 가슴샘종 및 가슴샘 암종, 갑상샘 암, 결절성 경화증, 요도 암, 질 암, 외음 암, 윌름스 종양, 및 이식-후 림프구증식 장애 (PTLD), 모반증과 관련된 비정상 혈관 증식, 부종 (예를 들면, 뇌 종양과 연관됨), 또는 메이그 증후군.

[0272] 본원에 제공된 요법은 치료학적 제제의 병용물, 예를 들면, 첫번째 항-암 요법 및 두번째 항-암 요법의 투여를

포함할 수 있다. 요법은 당해 기술에 공지된 임의의 적합한 방식으로 투여할 수 있다. 예를 들면, 첫번째 및 두번째 암 치료제는 순차적으로 (상이한 시점에) 또는 동시에 (동일한 시점에) 투여될 수 있다. 일부 측면에서, 첫번째 및 두번째 암 치료제는 개별적인 조성물로 투여된다. 일부 측면에서, 첫번째 및 두번째 암 치료제는 동일한 조성물에 존재한다.

[0273] 본 개시내용의 측면은 치료학적 조성물을 포함하는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 상이한 요법은 하나의 조성물 또는 하나 초과 조성물, 예를 들면, 2개의 조성물, 3개의 조성물, 또는 4개의 조성물로 투여될 수 있다. 제제의 다양한 병용물이 이용될 수 있다.

[0274] 본 개시내용의 치료학적 제제를 동일한 투여 경로로 또는 상이한 투여 경로로 투여할 수 있다. 일부 측면에서, 암 요법은 정맥내, 근육내, 피하, 국소, 경구, 경피, 복강내, 안와내, 이식에 의해, 흡입에 의해, 경막내, 뇌실내, 또는 비내 투여된다. 일부 측면에서, 항생제는 정맥내, 근육내, 피하, 국소, 경구, 경피, 복강내, 안와내, 이식에 의해, 흡입에 의해, 경막내, 뇌실내, 또는 비내 투여된다. 적합한 투여량은 치료될 질환의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 개체의 임상 조건, 개체의 임상 병력 및 치료에 대한 반응, 및 담당 의사의 재량을 기초로 하여 결정할 수 있다.

[0275] 치료제는 다양한 "단위 용량"을 포함할 수 있다. 단위 용량은 치료학적 조성물의 미리결정된-수량을 포함하는 것으로 한정된다. 투여되는 수량, 및 특정 경로 및 제형은, 임상 기술에서 이들을 결정하는 기술 내에 있다. 단위 용량은 단일 주사로 투여될 필요는 없지만, 일정 기간 동안 연속 주입을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 단위 용량은 단일 투여가능 용량을 포함한다.

[0276] 투여되는 수량은, 치료제 및 단위 용량의 수 둘 다에 따라서, 목적하는 치료 효과에 좌우된다. 효과적인 용량은 특정한 효과를 성취하는데 필요한 양을 언급하는 것으로 이해된다. 특정 시행 측면에서, 10 mg/kg 내지 200 mg/kg 범위의 용량이 이들 제제의 보호 능력에 영향을 줄 수 있음을 고려한다. 따라서, 용량은 약 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 및 200, 300, 400, 500, 1000 μ g/kg, mg/kg, μ g/일, 또는 mg/일 또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위의 용량을 포함한다는 것을 고려한다. 추가로, 이러한 용량은 1 일 동안 다회로, 및/또는 수일, 수주, 또는 수개월로 투여될 수 있다.

[0277] 특정 측면에서, 약제학적 조성물의 효과적인 용량은 약 1 μ M 내지 150 μ M의 혈액 수준을 제공할 수 있는 것이다. 또다른 측면에서, 효과적인 용량은 약 4 μ M 내지 100 μ M; 또는 약 1 μ M 내지 100 μ M; 또는 약 1 μ M 내지 50 μ M; 또는 약 1 μ M 내지 40 μ M; 또는 약 1 μ M 내지 30 μ M; 또는 약 1 μ M 내지 20 μ M; 또는 약 1 μ M 내지 10 μ M; 또는 약 10 μ M 내지 150 μ M; 또는 약 10 μ M 내지 100 μ M; 또는 약 10 μ M 내지 50 μ M; 또는 약 25 μ M 내지 150 μ M; 또는 약 25 μ M 내지 100 μ M; 또는 약 25 μ M 내지 50 μ M; 또는 약 50 μ M 내지 150 μ M; 또는 약 50 μ M 내지 100 μ M (또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위)의 혈액 수준을 제공한다. 다른 측면에서, 용량은 대상자에게 투여된 치료학적 제제로부터 수득된 하기한 제제의 혈액 수준을 제공할 수 있다: 약, 적어도 약, 또는 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 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, 또는 100 μ M 또는 그 내의 유도할 수 있는 임의의 범위. 특정 측면에서, 대상자에게 투여되는 치료학적 제제는 대사된 치료학적 제제까지 체내에서 대사되고, 이러한 경우 혈액 수준은 당해 제제의 양을 언급할 수 있다. 대안적으로, 치료학적 제제가 대상자에 의해 대사되지 않는 범위까지, 본원에 논의된 혈액 수준은 대사되지 않은 치료학적 제제를 언급할 수 있다.

[0278] 치료학적 조성물의 정확한 양은 또한 실무자의 판단에 좌우되고, 각각의 개체에 고유하다. 용량에 영향을 주는 인자는 환자의 신체적 및 임상적 상태, 투여 경로, 의도된 치료 목표 (증상 완화 대 치료) 및 특정 치료학적 물질의 잠재력, 안정성 및 독성 또는 대상자가 경험할 수 있는 다른 요법을 포함한다.

[0279] μ g/kg 또는 mg/kg 체중의 투여량 단위가 μ g/ml 또는 mM (혈액 수준)의 유사한 농도 단위로, 예를 들면, 4 μ M 내지 100 μ M로 전환 또는 표현될 수 있다는 것을 당해 기술분야의 숙련가가 이해하고, 인식할 수 있다. 흡수가 중 및 기관/조직에 의존된다는 것이 또한 이해된다. 흡수 및 농도 측정에 관련하여 수행되는 적용가능한 전환 인자 및 생리학적 추정치는 잘 공지되어 있고, 당해 기술분야의 숙련가에게 하나의 농도 측정치를 또다른 것으로 전환하고, 본원에 기재된 용량, 효능 및 결과에 대한 합리적인 비교 결론을 수행하는 것이 허용된다.

- [0280] 선택적 측면에서, 본 개시내용의 펩타이드는 백신 조성물에 포함될 수 있고, 대상자에게 대상자에서 암에 대한 치료학적 면역 반응을 유발하기 위해 투여될 수 있음을 고려한다. 대상자에서 약제학적 사용을 위한 백신 조성물은 본원에 개시된 펩타이드 조성물 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다.
- [0281] 구절 "약제학적", "약제학적으로 허용되는", 또는 "약리학적으로 허용되는"은, 동물, 예를 들면, 적합한 경우 사람에게 투여되는 경우, 유해한, 알레르기 또는 다른 불리한 반응을 생성하지 않는 분자 실체 및 조성물을 언급한다. 본원에 사용된 "약제학적으로 허용되는 담체"는 당해 기술분야의 숙련자에게 공지되는 임의의 및 모든 용매, 분산 배지, 코팅, 계면활성제, 항산화제, 보존제 (예를 들면, 항박테리아제, 항진균제), 등장화제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 약물, 약물 안정화제, 겔, 결합제, 부형제, 붕해제, 윤활제, 감미제, 향미제, 염료, 이와 유사한 물질 및 이의 조합을 포함한다 (예를 들면, 참조: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st edition, Pharmaceutical Press, 2011, 본원에 참조로서 포함됨). 임의의 종래의 담체가 활성 성분과 비혼화성인 것을 제외하고는, 본 발명의 백신 조성물에서 이의 사용이 고려된다.
- [0282] 본원에 사용된 "보호 면역 반응"은 암에 대한 포유동물 숙주의 면역계에 의한 반응을 언급한다. 보호 면역 반응은 암의 치료를 위한 치료학적 효과, 예를 들면, 종양 크기 감소, 생존 증가 등을 제공할 수 있다.
- [0283] 일부 측면에서, 백신 조성물은 미세구조화 경피 또는 탄도 미립자 전달로 투여될 수 있다. 백신 제형을 위한 담체로서 미세구조는 백신 적용을 위한 바람직한 배치이고, 당해 기술에 널리 공지되어 있다 (참조: Gerstel and Place 1976 (미국 특허 3,964,482); Ganderton and McAlinsh 1974 (미국 특허 3,814,097); 미국 특허 5,797,898, 5,770,219 및 5,783,208, 및 미국 특허 출원 2005/0065463). 탄도 미립자 전달을 위해 제형화된 이러한 백신 조성물은 지지체 기관의 표면 상에 고정된 본원에 개시된 단리된 펩타이드를 포함할 수 있다. 이들 측면에서, 지지체 기관은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 미세캡슐, 미세입자, 미소구, 나노캡슐, 나노입자, 나노구, 또는 이의 조합을 포함할 수 있다.
- [0284] 다른 측면에서, 본원에 개시된 백신 조성물은 고정되거나 캡슐화된 펩타이드 또는 항체 및 지지체 기관을 포함한다. 이들 측면에서, 지지체 기관은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 지질 미소구, 지질 나노입자, 에토솜, 리포솜, 니오솜, 인지질, 스핑고솜, 계면활성제, 트랜스퍼솜, 에멀전, 또는 이의 조합을 포함할 수 있다. 리포솜 및 다른 지질 나노- 및 마이크로캐리어 제형의 제형 및 사용은 일반적으로 당해 기술분야의 숙련자에게 공지되어 있고, 리포솜, 미세입자, 나노캡슐 등의 사용은 치료제의 전달에서 광범위한 용도를 획득하였다 (예를 들면, 미국 특허 5,741,516, 특허 이의 전문이 본원에 참조로서 포함됨). 펩타이드의 캡슐화를 포함하는, 잠재적 약물 담체로서 다개의 리포솜 및 리포솜-유형의 제조 방법을 평가하였다 (미국 특허 5,567,434; 5,552,157; 5,565,213; 5,738,868 및 5,795,587, 이들 각각은 특허 이의 전문이 참조로서 포함됨).
- [0285] 본원에 기재된 전달 방법에 추가하여, 개시된 백신 조성물을 투여하기 위한 다수의 대안적인 기술이 또한 고려된다. 비제한적인 예의 방식으로, 백신 조성물은 초음파와동 (즉, 초음파)에 의해 투여될 수 있고, 이는 미국 특허 5,656,016에서 순화 시스템으로 및 순화 시스템; 골내 주사 (미국 특허 5,779,708), 또는 피드백-제어 전달 (미국 특허 5,697,899)을 통한 약물 침투의 속도 및 효능을 개선하기 위해 사용되고 기재되고, 당해 단락에서 이들 특허 각각은 특허 이의 전문이 본원에 참조로서 포함된다.
- [0286] **XVI. 샘플 제조**
- [0287] 특정 측면에서, 상기 방법은 대상자로부터 샘플을 입수하는 것을 수반한다. 본원에 제공된 입수 방법은 생검 방법, 예를 들면, 세침 흡인, 중심부바늘 생검, 진공 보조 생검, 절개 생검, 절제 생검, 펀치 생검, 표층 생검 또는 피부 생검을 포함할 수 있다. 특정 측면에서 샘플은 이전에 언급된 생검 방법 중 어느 것에 의해 난소 또는 자궁내막 조직으로부터의 생검으로부터 입수된다. 다른 측면에서 샘플은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 비-암성 또는 암성 조직 및 난소 상피, 자궁관 상피, 난소, 자궁경부, 자궁관, 또는 자궁으로부터의 비-암성 또는 암성 조직을 포함하는 본원에 제공된 조직 중 어느 것으로부터 입수할 수 있다. 대안적으로, 샘플은 임의의 다른 공급원으로부터 입수할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니지만, 혈액, 혈청, 형질, 땀, 모낭, 협착 조직, 눈물, 월경, 대변, 또는 타액을 포함한다. 본원 방법의 특정 측면에서, 임의의 의료 전문가, 예를 들면, 의사, 간호사 또는 의료기사는 시험을 위한 생물학적 샘플을 입수할 수 있다. 또한 추가로, 생물학적 샘플은 의료 전문가의 도움없이 입수할 수 있다.
- [0288] 샘플은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 조직, 세포, 또는 세포로부터 또는 대상자의 세포로부터 유도된 생물학적 물질을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플은 세포 또는 조직의 이종 또는 동종 집단일 수 있다. 생물학적 샘플은 본원에 기재된 분석 방법에 적합한 샘플을 제공할 수 있는 당해 기술 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여

수득할 수 있다. 샘플은, 이에 제한되는 것은 아니지만, 하기를 포함하는 비-침습적 방법으로 수득할 수 있다: 피부 또는 자궁경부의 찰과표본, 불의 면봉채취, 타액 수집, 소변 수집, 대변 수집, 월경의 수집, 눈물, 또는 정액.

[0289] 샘플은 당해 기술에 공지된 방법에 의해 입수될 수 있다. 특정 측면에서 샘플은 생검에 의해 입수된다. 다른 측면에서 샘플은 면봉채취, 내시경술, 찰과표본, 정맥절개, 또는 당해 기술에 공지된 임의의 다른 방법으로 입수된다. 일부 경우, 샘플은 본원 방법의 키트의 성분을 사용하여 입수, 저장, 또는 수송될 수 있다. 일부 경우, 다중 샘플, 예를 들면, 다중 형상 또는 혈청 샘플은 본원에 기재된 방법에 의해 진단을 위해 입수될 수 있다. 다른 경우, 다중 샘플, 예를 들면, 하나의 조직 유형 (예를 들면 난소 또는 관련 조직)으로부터 하나 이상의 샘플 및 또다른 표본 (예를 들면 혈청)으로부터 하나 이상의 샘플은 본원 방법에 의한 진단을 위해 입수될 수 있다. 샘플은 상이한 시점에 입수될 수 있고, 상이한 방법에 의해 저장 및/또는 분석된다. 예를 들면, 샘플은 일상적인 염색 방법 또는 임의의 다른 세포학적 분석 방법으로 입수 및 분석될 수 있다.

[0290] 일부 측면에서 생물학적 샘플은 의사, 간호사, 또는 의료 전문가, 예를 들면, 의료기사, 내분비학자, 세포학자, 사혈전문의사, 방사선전문의, 또는 흉부외과전문의에 의해 입수될 수 있다. 의료 전문가는 샘플에 대해 수행하는 적합한 시험 또는 검정을 지시할 수 있다. 특정 측면에서 분자 프로파일링 사업은 어느 검정 또는 시험이 가장 적합하게 지시되는지를 상담할 수 있다. 본원 방법의 추가 측면에서, 환자 또는 대상자는 의료 전문가의 도움 없이 시험을 위한 생물학적 샘플을 입수할 수 있고, 예를 들면, 전혈 샘플, 소변 샘플, 대변 샘플, 혈액 샘플, 또는 타액 샘플을 입수할 수 있다.

[0291] 다른 경우, 샘플은 침습적 절차에 의해 입수되고, 이에 제한되는 것은 아니지만, 다음을 포함한다: 생검, 바늘 흡인, 혈액 채취, 내시경술, 또는 정맥절개. 상기 바늘 흡인 방법은 추가로 세침 흡인, 중심부바늘 생검, 진공 보조 생검, 또는 거대 중심부 생검을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 다중 샘플은 생물학적 물질의 충분량을 보장하기 위해 본원의 방법에 의해 입수될 수 있다.

[0292] 생물학적 샘플을 입수하는 일반적인 방법은 또한 당해 기술에 공지되어 있다. 본원에 이의 전문이 참조로서 포함된 간행물, 예를 들면, 문헌[참조: Ramzy, Ibrahim Clinical Cytopathology and Aspiration Biopsy 2001]은, 생검 및 세포학적 방법을 위한 일반적인 방법을 기재한다.

[0293] 본원 방법의 일부 측면에서, 분자 프로파일링 사업은 생물학적 샘플을 대상자로부터 직접적으로, 의료 전문가로부터, 제삼자로부터, 또는 분자 프로파일링 사업 또는 제삼자에 의해 제공된 키트로부터 입수될 수 있다. 일부 경우, 생물학적 샘플은, 대상자, 의료 전문가, 또는 제삼자가 생물학적 샘플을 획득하고 분자 프로파일링 사업에 보낸 후, 분자 프로파일링 사업에 의해 입수될 수 있다. 일부 경우, 분자 프로파일링 사업은 적합한 컨테이너, 및 생물학적 샘플의 저장 및 수송을 위한 부형제를 분자 프로파일링 사업에 제공할 수 있다.

[0294] 본원에 기재된 방법의 일부 측면에서, 의료 전문가는 초기 진단 또는 샘플 획득에 개입될 필요는 없다. 개체는 대안적으로 샘플을 처방전 없이 살 수 있는 (OTC) 키트의 사용을 통해 입수할 수 있다. OTC 키트는 본원에 기재된 상기 샘플을 입수하는 수단, 점검을 위해 상기 샘플을 저장하는 수단, 및 키트의 적합한 사용을 위한 지시서를 포함할 수 있다. 일부 경우, 분자 프로파일링 서비스는 키트의 구매 가격에 포함된다. 다른 경우, 분자 프로파일링 서비스는 개별적으로 청구된다. 분자 프로파일링 사업에 의한 사용을 위해 적합한 샘플은 시험되는 개체의 조직, 세포, 핵산, 유전자, 유전자 단편, 발현 생성물, 유전자 발현 생성물, 또는 유전자 발현 생성물 단편을 포함하는 임의의 물질일 수 있다. 샘플 적합성 및/또는 적절성을 결정하는 방법이 제공된다.

[0295] 일부 측면에서, 대상자는 전문가, 예를 들면, 종양학자, 외과의사, 또는 내분비학자를 언급할 수 있다. 전문가는 또한 시험을 위해 생물학적 샘플을 입수할 수 있거나, 생물학적 샘플의 제출을 위해 개체에게 시험 센터 또는 실험실을 지시한다. 일부 경우 의료 전문가는 생물학적 샘플의 제출을 위해 대상자에게 시험 센터 또는 실험실을 지시할 수 있다. 다른 경우, 대상자는 샘플을 제공할 수 있다. 일부 경우, 분자 프로파일링 사업은 샘플을 입수할 수 있다.

[0296] XVII. 검출 및 백신접종 키트

[0297] 본 개시내용의 펩타이드 또는 항체는 키트에 포함될 수 있다. 키트 내에 펩타이드 또는 항체는 검출가능하게 표지화되거나 또한 키트에 포함된 지지체 기관의 표면에 고정될 수 있다. 펩타이드(들) 또는 항체는, 예를 들면, 키트 내에 적합한 형태로, 예를 들면, 멸균성, 동결건조된 또는 이들 둘 다의 형태로 제공될 수 있다.

[0298] 본 발명의 키트에 포함된 지지체 기관은 수행되는 방법을 기초로 하여 선택될 수 있다. 비제한적인 예의 방식으로, 지지체 기관은 다중-웰 플레이트 또는 마이크로플레이트, 막, 필터, 종이, 에멀전, 비드, 마이크로비드, 미

소구, 나노비드, 나노구, 나노입자, 에토솜, 리포솜, 니오솜, 트랜스퍼솜, 딥스틱, 카드, 셀룰로이드 스트립, 유리 슬라이드, 마이크로슬라이드, 바이오센서, 측면 유동 장치, 마이크로칩, 빗, 실리카 입자, 자기 입자, 또는 자가-조립 단층일 수 있다.

[0299] 수행되는 방법에 적합하도록, 키트는 대상자에게 조성물의 전달을 위해 또는 그외에 본 발명의 조성물을 취급하기 위해 하나 이상의 장치를 추가로 포함할 수 있다. 비제한적인 예의 방식으로, 키트는, 주사기, 점안기, 탄도 입자 어플리케이터 (예를 들면, 미국 특허 5,797,898, 5,770,219 및 5,783,208, 및 미국 특허 출원 2005/0065463에 기재된 어플리케이터), 스쿠폴라, 마이크로슬라이드 커버, 시험 스트립 홀더 또는 커버 등의 장치를 포함할 수 있다.

[0300] 키트의 성분을 표지화하기 위한 검출 시약은 임의로 본 발명의 방법을 수행하기 위해 키트 내에 포함될 수 있다. 특정 측면에서, 표지화 또는 검출 시약은 당해 기술 분야에서 통상 사용되는 시약을 포함하는 그룹으로부터 선택되고, 제한 없이, 방사성 원소, 효소, UV 범위의 광을 흡수하는 분자, 및 형광단, 예를 들면, 플루오레세인, 로다민, 아우라민, 텍사스 레드, AMCA 블루 및 루시퍼 옐로우를 포함한다. 다른 측면에서, 하나 이상의 컨테이너 수단 및 방사성 원소, 효소, UV 범위의 광을 흡수하는 분자, 및 형광단을 포함하는 그룹으로부터 선택된 검출 시약으로 이미 표지화된 BST 단백질 제제가 포함하는 키트가 제공된다.

[0301] 키트를 포함하는 시약 및/또는 성분이 동결건조된 형태 (동결건조물)로 또는 건조 분말로서 제공되는 경우, 동결건조물 또는 분말은 적합한 용매를 첨가하여 재구성될 수 있다. 특정 측면에서, 용매는 멸균성, 약제학적으로 허용되는 완충액 및/또는 다른 희석제일 수 있다. 이러한 용매는 또한 키트의 부분으로서 제공될 수 있는 것으로 구상된다.

[0302] 키트의 성분이 하나 및/또는 그 이상의 액체 용액으로 제공되는 경우, 액체 용액은, 비-제한적인 예의 방식으로, 멸균성, 수성 용액일 수 있다. 조성물은 또한 투여용 조성물로 제형화될 수 있다. 이러한 경우, 컨테이너 수단은 자체로 주사기, 피펫, 국소 어플리케이터 등일 수 있고, 이로부터 제형은 신체의 병변 부위에 적용되고, 대상자에게 주사되고/되거나, 키트의 다른 성분에게 적용되거나 이와 함께 혼합될 수 있다.

[0303] XVIII. 실시예

[0304] 하기한 실시예는 본 발명의 다양한 측면을 예시하는 목적을 위해 제공되고, 본 발명을 임의의 방식으로 제한하려는 의미는 아니다. 당해 기술분야의 숙련가는 본 발명이 목적을 수행하기 위해 및 언급된 목표 및 이점을 달성하기 위해, 뿐만 아니라 본원에 내재된 목적, 목표 및 이점을 달성하기 위해 양호하게 개조되는 것을 용이하게 이해할 것이다. 본 발명의 실시예는, 본원에 기재된 방법과 함께 바람직한 실시형태를 본원에 나타내고, 예시하고, 본 발명의 범위를 제한하는 것을 의도하지 않는다. 청구범위에 의해 한정되는 본 발명의 취지 내에 포함되는 본원의 변형 및 다른 용도가 당해 기술분야의 숙련가에게 발생할 것이다.

[0305] 실시예 1: Hormad1 HLA-A1101 제한된 펩타이드 확인, CTL 생성 및 TCR-T 개발

[0306] K562-A11-HORMAD1 (HLA-A1101 대립유전자 유전자 및 HORMAD1 cDNA 강제 발현 K562 세포주) 세포주를 NP-40 완충액을 사용하여 용해시키고, 용해물을 항-MHC 부류 I 항체와 커플링된 Sepharose 신속 유동 비드로 인큐베이팅하였다. 결합되지 않은 단백질을 제거하기 위해 세척한 후, MHC 결합 펩타이드를 10% 아세트산으로 용리하였다. 용리된 펩타이드 용액을 농축시키고, 탄젠 질량 분광법을 사용하여 분석하였다 (도 1). 하나의 펩타이드 (HMD-375, SSSQESVPK - 서열번호 2)는 HORMAD1 서열에 상응한다. 이온 점수는 60이다.

[0307] HMD-375 (SSSQESVPK - 서열번호 2) 펩타이드를 성숙 수지상 세포에 펄스하고, 이어서, 48-웰 플레이트에서 HLA-A1101 양성 건강한 공여자로부터 자가 PBMC로 공-배양하였다. 2회 자극 후, 각각의 웰로부터 T 세포의 부분을 사랑체 및 항-CD8 염색을 이용한 유동세포분석 검출을 위해 수집하였다. 작은 CD8+/사랑체+ 집단을 3개의 웰에서 관찰하였다. 웰에서 사랑체+/CD8+ 집단을 나타내는 T 세포를 픽업하고, 사랑체+/CD8+ 집단을 분류하고, 신속한 확장 프로토콜 (REP)로 확장하였다. 2주 동안 REP 후, 고 순도 세포독성 T 림프구 (CTLs - 사랑체+ 집단 90% 초과)를 관찰하였다 (도 2).

[0308] 다양한 농도의 HMD-375 펩타이드로 펄스된 K562-A11 세포를 표적으로서 사용하였다. 상이한 HMD-375 CTL 세포주의 용해 능력을 Cr51 방출 검정 (CRA)으로 검출하였다 (도 3). 이펙터 대 표적 (E:T) 비는 20:1이다. HMD-375 B5 및 HMD-375 D10 CTL 세포주는 우수한 에피토프 인식을 나타내었다.

표 2

표 2. HMD-375 CTL 세포주 사멸 검정을 위한 종양 세포주 표적

	K562-eGFP	K562-A11-HMD	H1299	H1299-A11'	H1623	H647	M14-eGFP	M14-HMD
암 유형	백혈병	백혈병	폐 Ca	폐 Ca	폐 Ca	폐 Ca	흑색종	흑색종
HLA-A1101	+	+	-	+	+	+	+	+
HORMAD1	-	+	+	+	+	-	-	+

[0309]

[0310]

상이한 종양 세포주를 표적으로 사용하고, 상이한 HMD-375 특이적 CTL 세포주로 공-배양하였다 (표 2). HMD-375 CTL 세포주의 용해 능력을 Cr51 방출 검정으로 검출하였다 (CRA). 이펙터 대 표적화 (E:T) 비는 40:1 내지 1.25:1이었다. K562-A11 세포주 강제 발현 eGFP 또는 HORMAD1을 표적으로서 사용하였다 (도 4A). 종양 세포주 H1299 (HLA-A2-, HORMAD1+) 및 H1299-A11 (HLA-A11 강제 발현) (도 4B); H1623 (HLA-A11+, HORMAD1+) 및 H647 (HLA-A11+, HORMAD1-) (도 4C); 및 M14-eGFP (HLA-A11+, HORMAD1-, eGFP 강제 발현) 및 M14-HMD (HLA-A11+, HORMAD1 강제 발현) (도 4D)를 표적으로서 사용하였다. HMD-375 B5 CTL 세포주 및 D10 CTL 세포주 둘 다는 음성 대조군과 비교하여 양성 표적에 대해 더 높은 사멸 레버를 나타낸다 (도 4A-D).

[0311]

전체 길이 TCR 알파 채 및 베타 채를 Furing-P2A 스킵(skip) 펩타이드로 조립하고, 레트로바이러스 벡터 pMSGV3 내로 삽입하였다. 재조합 레트로바이러스 벡터를 사용하여 건강한 공여자의 PBMC를 감염시켰다. 감염 후, CD8+/사랑체+ 집단이 유동세포분석 검출로 나타났다. 사랑체 가이드 분류 및 확장 후, 2개의 공여자로부터 고 순도의 TCR-T 세포주를 생성하였다 (도 5).

표 3

표 3: HMD-375 B5 CTL 세포주 - 알파 채로부터 TCR 클로닝 아웃 및 서열 분석

결과 요지	생산 TRA 재배열된 서열 (정지 코돈 없음 및 프레임내 연결부)		
V-GENE 및 대립유전자	Homsap TRAV38-2/DV8*01 F	점수 = 1375	동일성 = 100.00% (276/276 nt)
J-GENE 및 대립유전자	Homsap TRAJ16*01 F	점수 = 234	동일성 = 92.59% (50/54 nt)
FM-IMGT 길이, CDR-IMGT 길이 및 AA 연결부	[26.17.34.11]	[7.8.11]	CAYRSAVRQKLLF (서열번호 31)

[0312]

표 4

표 4: HMD-375 B5 CTL 세포주 - 베타 쇠로부터 TCR 클로닝 아웃 및 서열 분석

결과 요지	생산 TRB 재배열된 서열 (정지 코돈 없음 및 프레임내 연결부)		
V-GENE 및 대립유전자	Homsap TRBV7-9*03F	점수 = 1375	동일성 = 100.00% (276/276 nt)
J-GENE 및 대립유전자	Homsap TRBJ2-1*01 F	점수 = 241	동일성 = 98.00% (49/50 nt)
D-GENE 및 대립유전자 IMGT/연접부 분석에 의한	Homsap TRBD2*01 F	D-구역은 판독 틀 2 내에 있다	
FM-IMGT 길이, CDR-IMGT 길이 및 AA 연결부	[26.17.38.10]	[5.6.14]	CASSSPGGRSYNEQFF (서열번호 32)

[0313]

[0314]

다양한 농도의 HMD-375 펩타이드로 펄스된 K562-A11 세포를 표적으로서 사용하였다. 상이한 HMD-375 TCR-T의 용해 능력을 Cr51 방출 검정 (CRA)으로 검출하였다 (도 6). 이펙터 대 표적 (E:T) 비는 20:1이다. 둘 다의 HMD-375 TCR-T는 우수한 에피토프의 인식을 나타낸다.

[0315]

상이한 종양 세포주를 표적으로 사용하고, 상이한 HMD-375 특이적 TCR-T 세포주로 공-배양하였다. HMD-375 TCR-T 세포주의 용해 능력을 Cr51 방출 검정 (CRA)으로 검출하였다. 이펙터 대 표적 (E:T) 비는 40:1 내지 1.25:1이다. K562-모든 세포주 강제 발현 eGFP 또는 HORMAD1을 표적으로 사용하였다 (도 7A). 종양 세포주 H1299 (HLA-A2-, HORMAD1+) 및 H1299-A11 (HLA-A11 강제 발현) (도 7B); H1623 (HLA-A11+, HORMAD1+) 및 H647 (HLA-A11+, HORMAD1-) (도 7C); 및 M14-eGFP (HLA-A11+, HORMAD1-, eGFP 강제 발현) 및 M14-HMD (HLA-A11+, HORMAD1 강제 발현) (도 7D)를 표적으로서 사용하였다. 2개의 건강한 공여자로부터 둘 다의 HMD-375 특이적 TCR-T 세포주는 음성 대조군과 비교하여 양성 표적에 대해 더 높은 사멸 레버를 나타낸다 (도 7A-D).

[0316]

HMD-375 특이적 TCR-T 세포주를 K562-A11-eGFP, K562-A11-HORMAD1, H1299, H1299-A11, M14-eGFP, M14-HORMAD1, H647 및 H1623로 공-배양하였다 (E:T=10:1). 밤새 공-배양 후, TCR 경로 다운-스트림 활성화된 마커, CD137, CD69, IFN- γ 및 TNF- α 를 ICS 검정으로 검출하였다. HMD-375 특이적 TCR-T 세포주의 CD137, CD69, IFN- γ 및 TNF- α 의 수준은, 이들이 양성 표적 K562-A11-HORMAD1, H1299-A11, M14-HORMAD1, 및 H1623으로 공-배양되었을 때, 음성 표적과 비교하여, 상당히 향상되었다 (도 8a-b).

[0317]

실시예 2: KIF2C-404 (IYNGKLFDL - 서열번호 1) 항원 특이적 CTL 생성 및 TCR-T 개발

[0318]

KIF2C-404 펩타이드 (IYNGKLFDL - 서열번호 1)를 성숙 수지상 세포로 펄스하고, 이어서, 48 웰 플레이트에서 HLA-A2402 양성 건강한 공여자로부터 자가 PBMC로 공-배양하였다. 2회 자극 후, 각각의 웰로부터 T 세포의 부분을 사랑체 및 항-CD8 염색을 사용한 유동세포분석 검출을 위해 수집하였다. 작은 CD8+/사랑체+ 집단을 2개의 웰에서 관찰하였다. 사랑체+/CD8+ 집단을 나타내는 웰에서 T 세포를 픽업하고, 사랑체+/CD8+ 집단을 분류하고, 신속한 확장 프로토콜 (REP)로 확장하였다. 2주 동안 REP 후, 고 순도 CTL (사랑체+ 집단 90% 초과)을 관찰하였다 (도 12)

[0319]

다양한 농도의 KIF2C-404 펩타이드로 펄스된 H1299 세포를 표적으로 사용하였다. 상이한 KIF2C-404 CTL 세포주의 용해 능력을 51Cr 방출 검정으로 검출하였다 (CRA (도 13)). 이펙터 대 표적화 (E:T) 비는 20:1이다.

[0320]

상이한 종양 세포주를 표적으로서 사용하고, KIF2C-404 특이적 CTL 세포주로 공-배양하였다. KIF2C-404 CTL 세

포주의 용해 능력을 CRA로 검출하였다 (도 14). 이펙터 대 표적 (E:T) 비는 40:1 내지 1.25:1이다.

표 5

표 5: KIF2C-404 F11 CTL 세포주 - 알파 쇠로부터 TCR 클로닝 아웃 및 서열 분석

결과 요지	생산 TRA 재배열된 서열 (정지 코돈 없음 및 프레임내 연결부)		
V-GENE 및 대립유전자	Homsap TRAV21*02 (F)	점수 = 1345	동일성 = 100.00% (270/270 nt)
J-GENE 및 대립유전자	Homsap TRAJ56*01 F	점수 = 292	동일성 = 96.77% (60/62 nt)
FM-IMGT 길이, CDR-IMGT 길이 및 AA 연결부	[26.17.34.11]	[6.7.11]	CAVDTGANSKLTF (서열번호 33)

[0321]

표 6

표 6: KIF2C-404 F11 CTL 세포주 - 베타 쇠로부터 TCR 클로닝 아웃 및 서열 분석

결과 요지	생산 TRB 재배열된 서열 (정지 코돈 없음 및 프레임내 연결부)		
V-GENE 및 대립유전자	Homsap TRBV11-2*03 F	점수 = 1375	동일성 = 100.00% (276/276 nt)
J-GENE 및 대립유전자	Homsap TRBJ1-2*01 F	점수 = 222	동일성 = 95.83% (46/48 nt)
D-GENE 및 대립유전자 IMGT/연접부 분석에 의한	Homsap TRBD2*01 F	D-구역은 판독 틀 1 내에 있다	
FM-IMGT 길이, CDR-IMGT 길이 및 AA 연결부	[26.17.38.10]	[5.6.10]	CASSYHSYGYTF (서열번호 34)

[0322]

[0323] 전체 길이 TCR 알파 쇠 및 베타 쇠를 Furing-P2A 스킵 펩타이드로 조립하고, 레트로바이러스 벡터 pMSGV3 내로 삽입하였다. 재조합 레트로바이러스 벡터를 사용하여 건강한 공여자의 PBMC를 감염시켰다. 감염 후, CD8+/사량체+ 집단은 유동세포분석 검출로 나타났다. 사량체 가이드 분류 및 확장 후, 고 순도의 TCR-T 세포주를 생성하였다 (도 15).

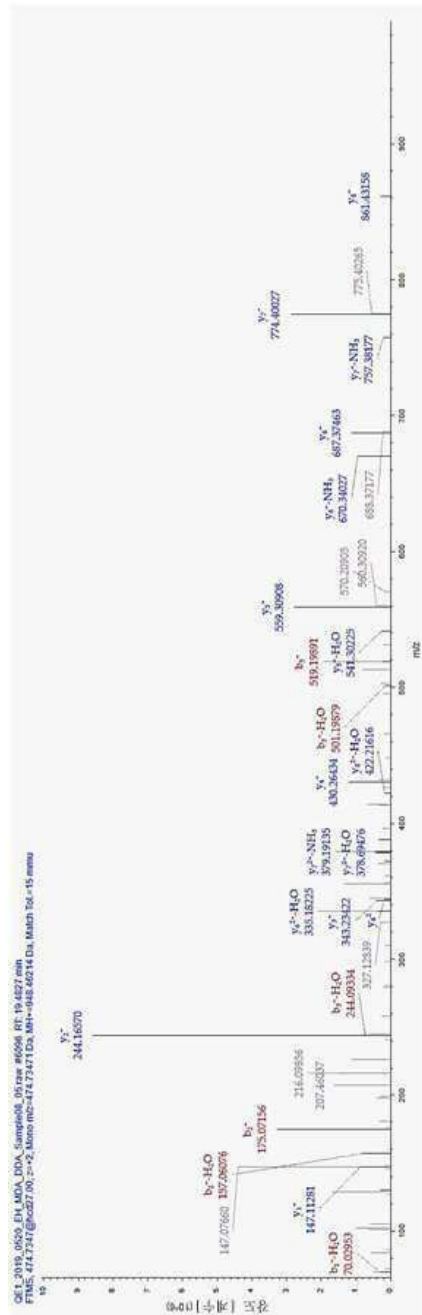
[0324] 상이한 종양 세포주, 뿐만 아니라 펩타이드 펄스된 H1299 세포를, 표적으로서 사용하고, KIF2C-404 특이적 TCR-T 세포주로 공-배양하였다. KIF2C-404 CTL 세포주의 용해 능력을 CRA로 검출하였다 (도 16).

[0325] 본원에 개시되고 청구된 모든 방법은 본 개시내용의 관점에서 과도한 실험없이 수행하고 실행될 수 있다. 본 발

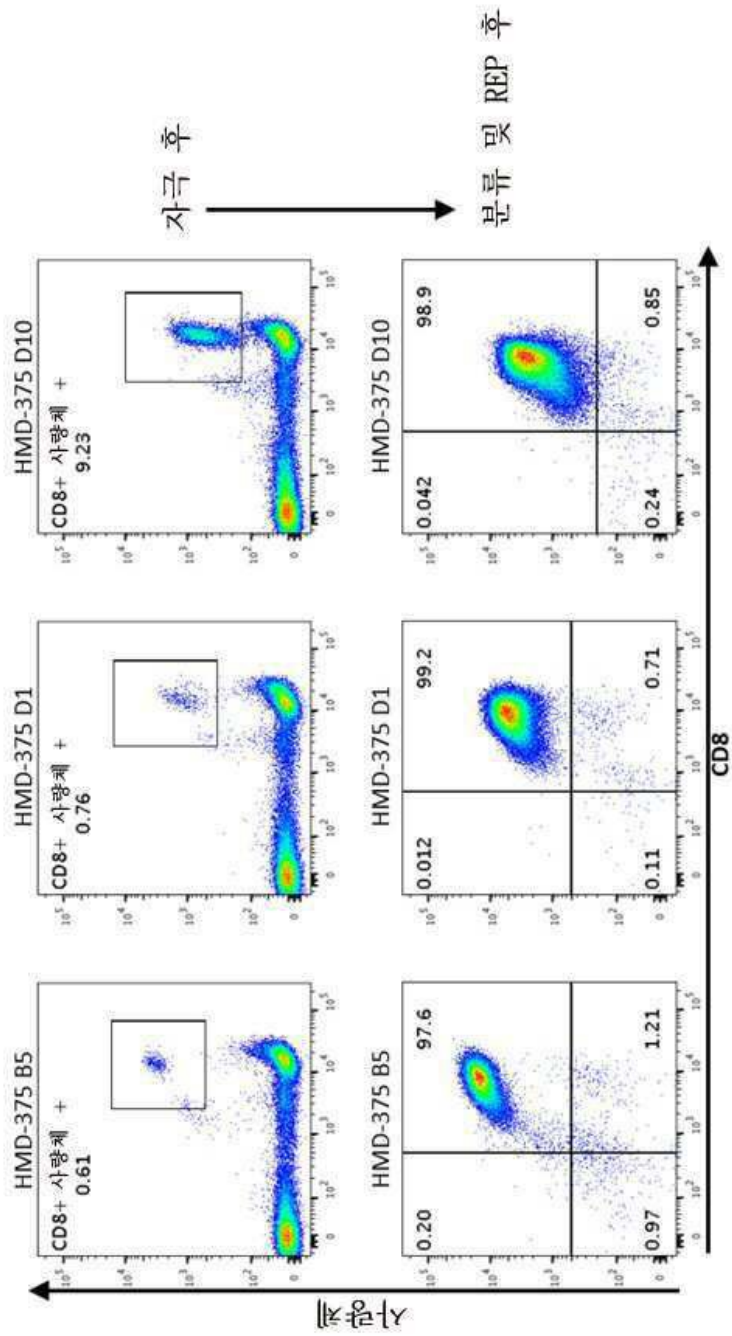
명의 조성물 및 방법이 바람직한 실시형태의 면에서 기재되지만, 당해 기술분야의 숙련가에게 변형이 본 발명의 개념, 취지 및 범위를 벗어나지 않고 본원에 기재된 방법에 및 방법의 단계 또는 단계의 순서에 적용될 수 있다는 것이 명백할 것이다. 보다 특히, 화학적으로 및 생리학적으로 모두 관련된 특정 제제가 본원에 기재된 제제 대신에 치환될 수 있으면서, 동일한 또는 유사한 결과가 성취될 것임이 명백할 것이다. 당해 기술분야의 숙련가에게 명백한 모든 이러한 유사한 치환 및 변형은 청구범위에 의해 한정되는 본 발명의 취지, 범위 및 개념 내에 있는 것으로 간주된다.

도면

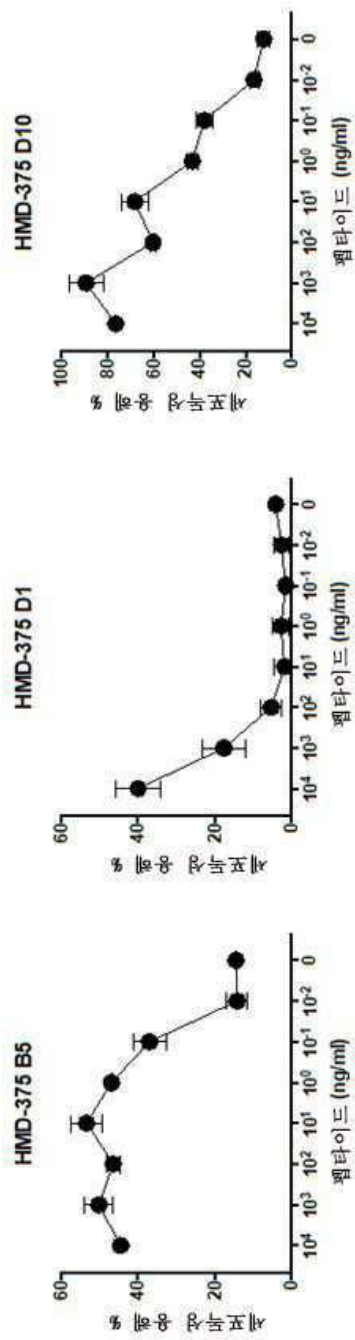
도면1



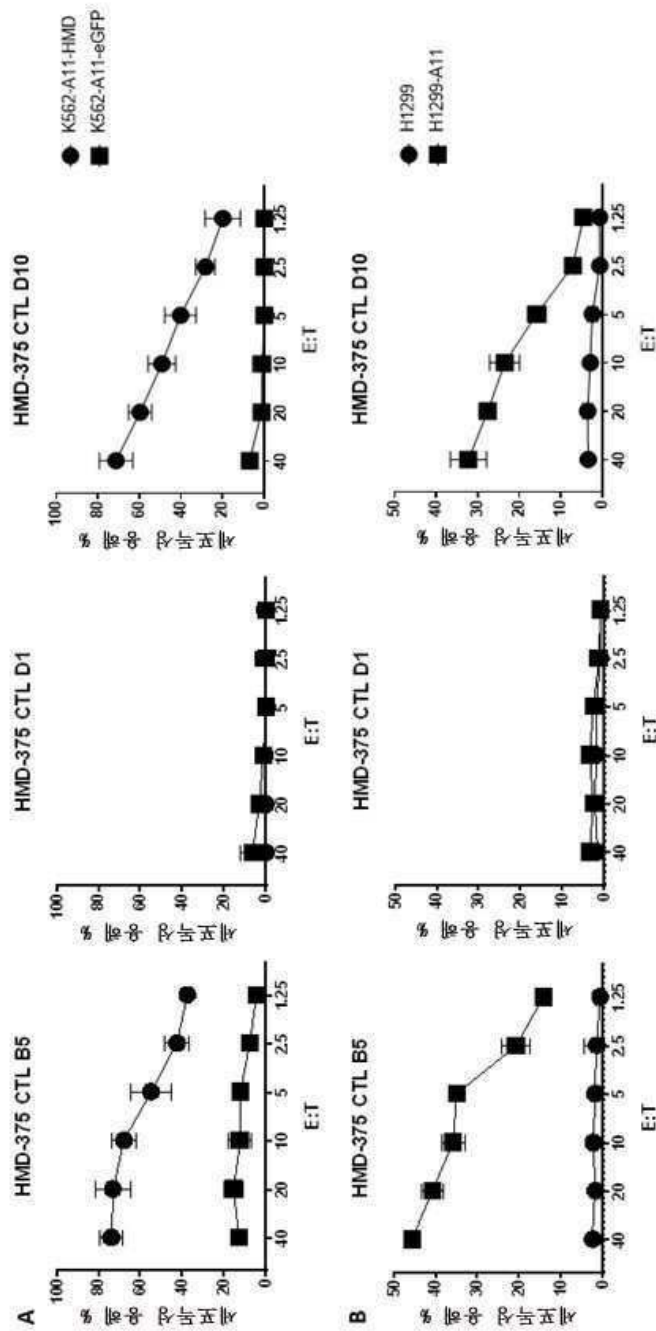
도면2



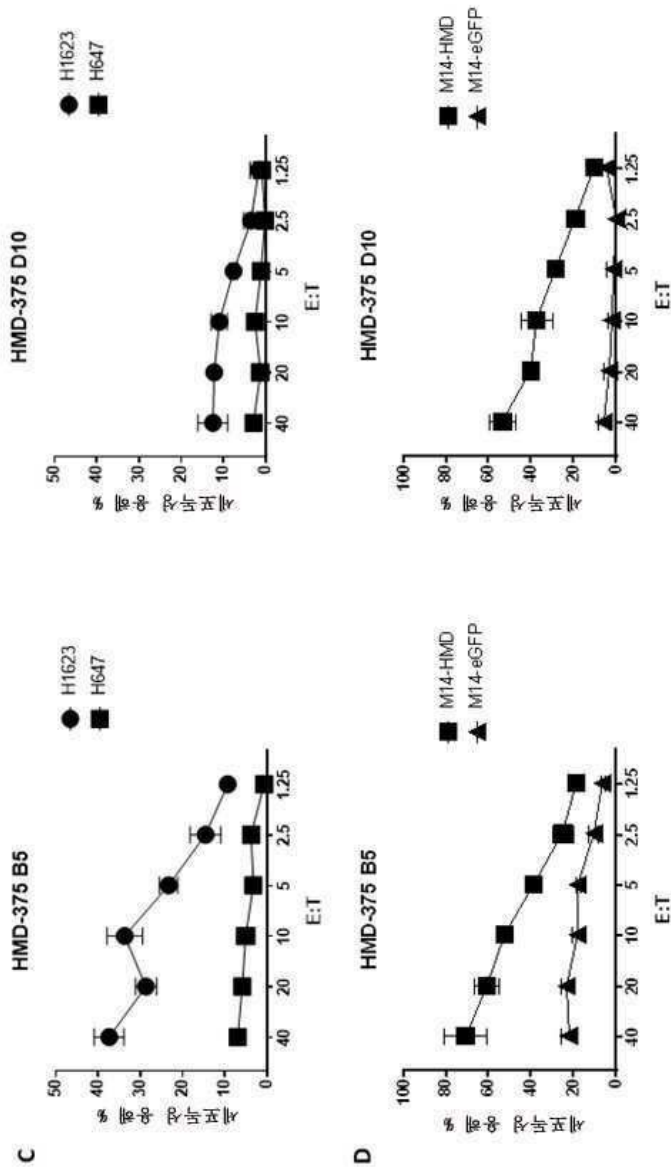
도면3



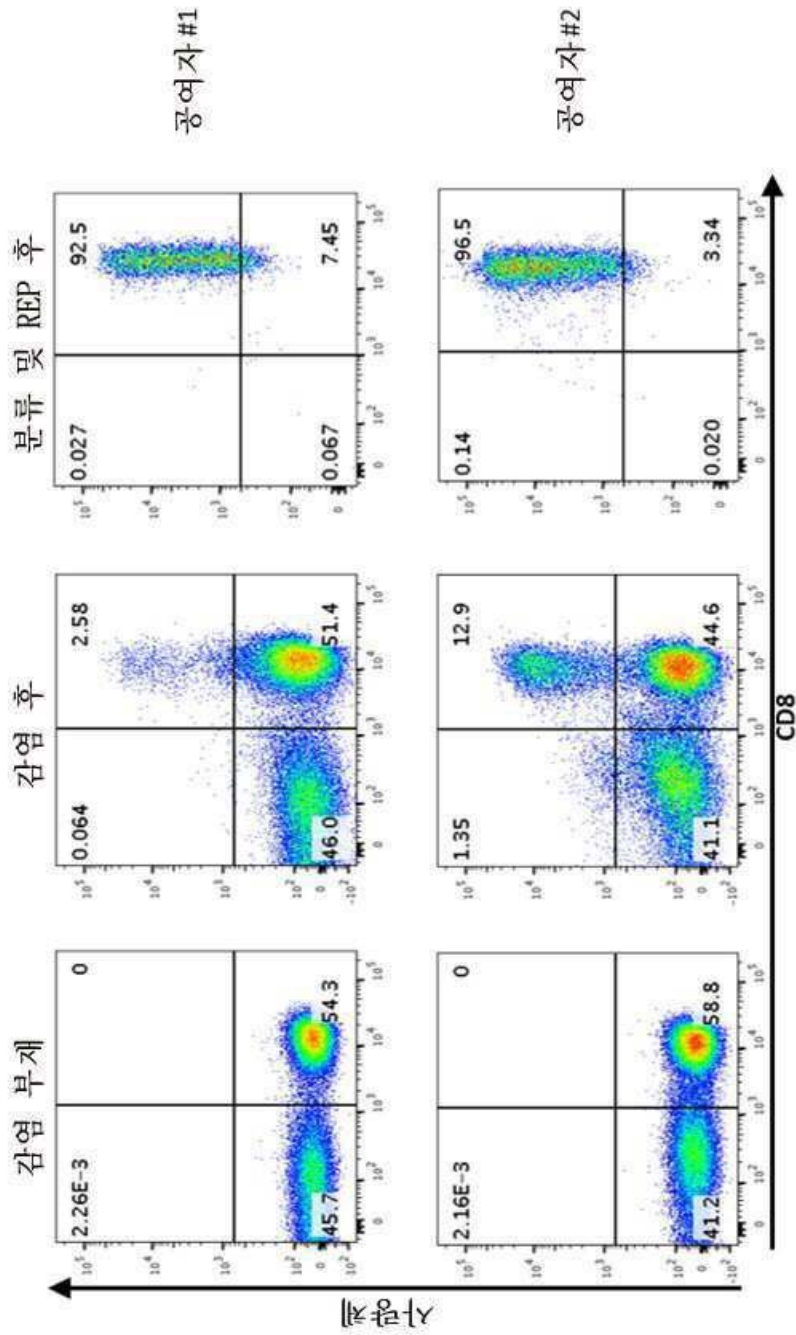
도면4ab



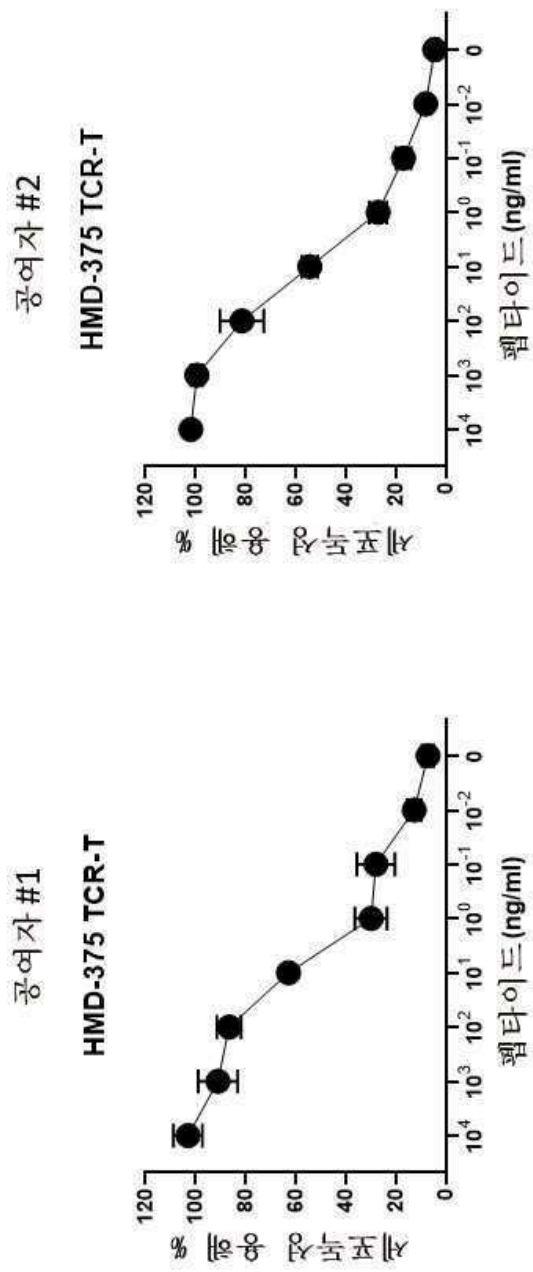
도면4cd



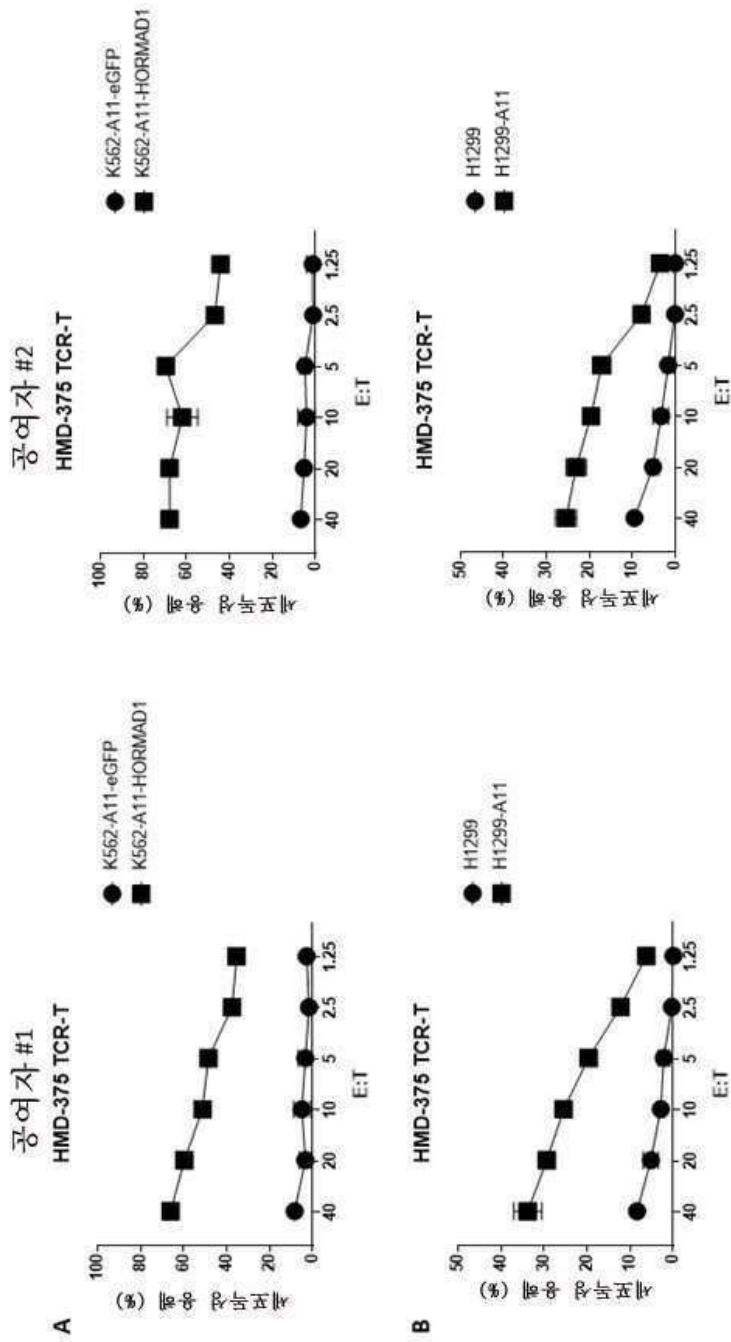
도면5



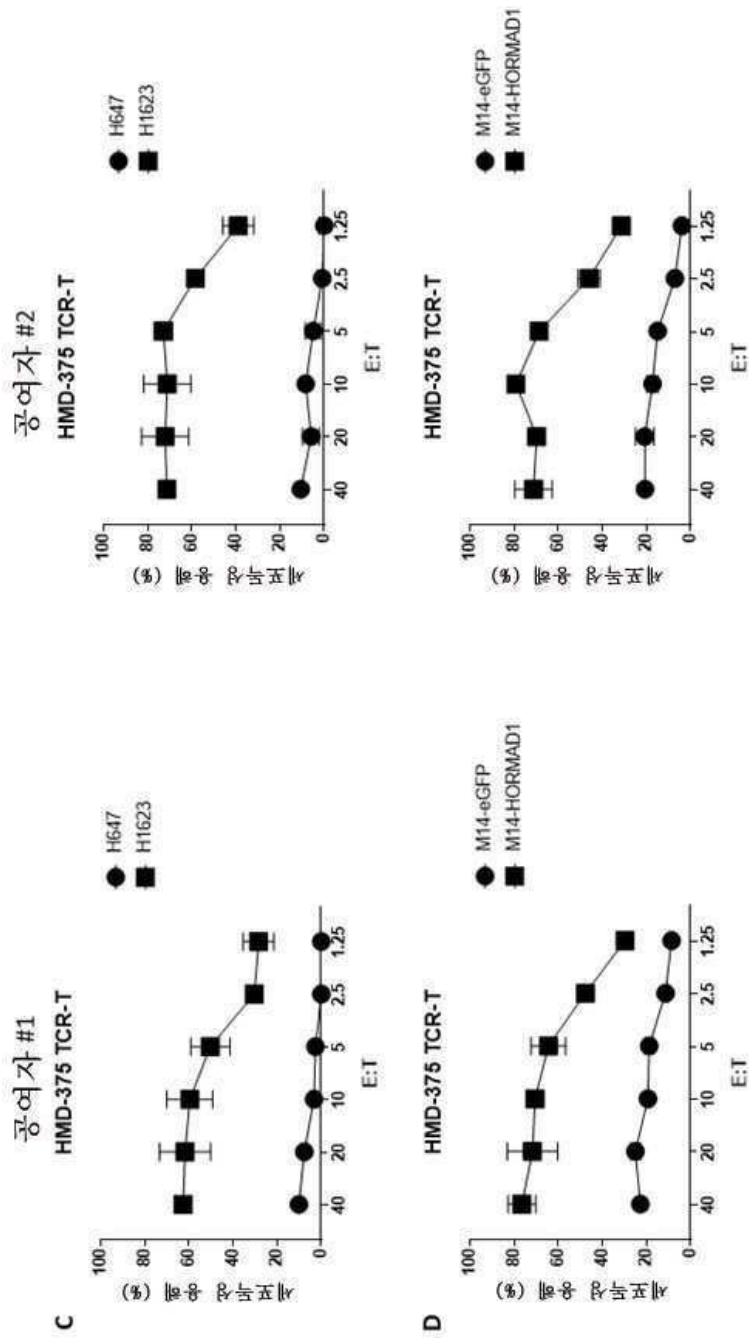
도면6



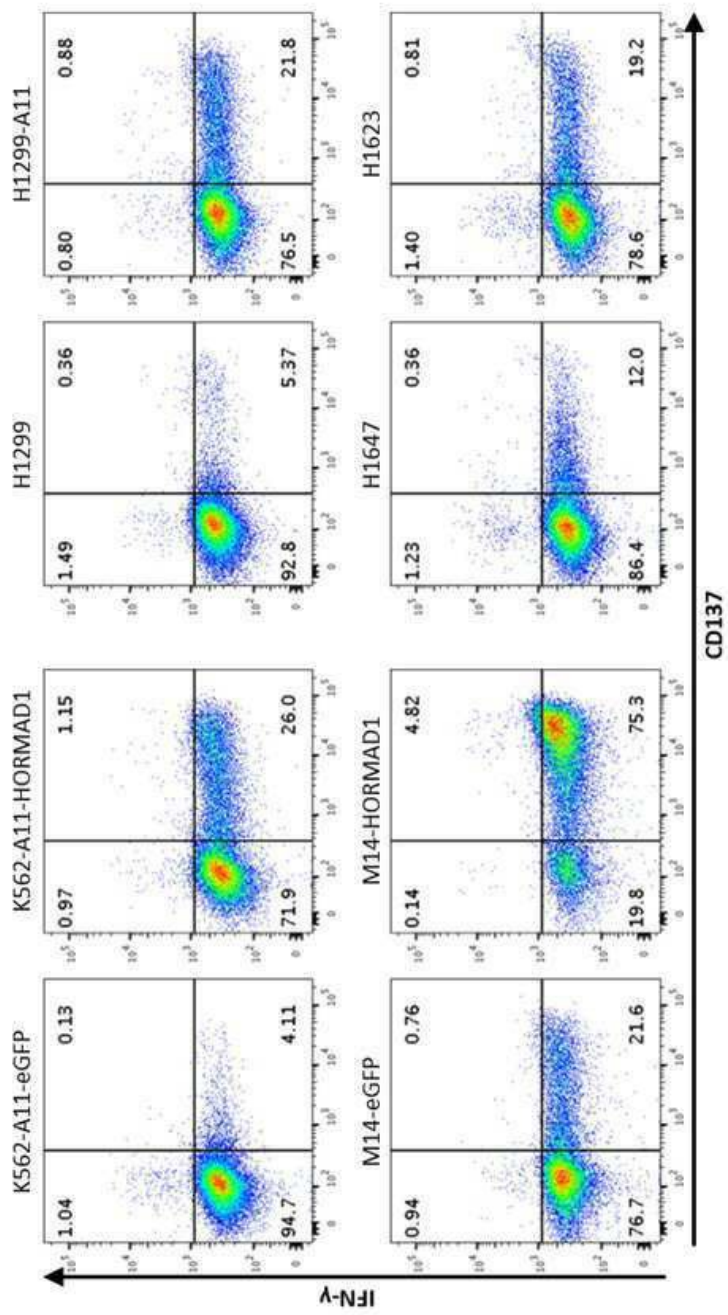
도면7ab



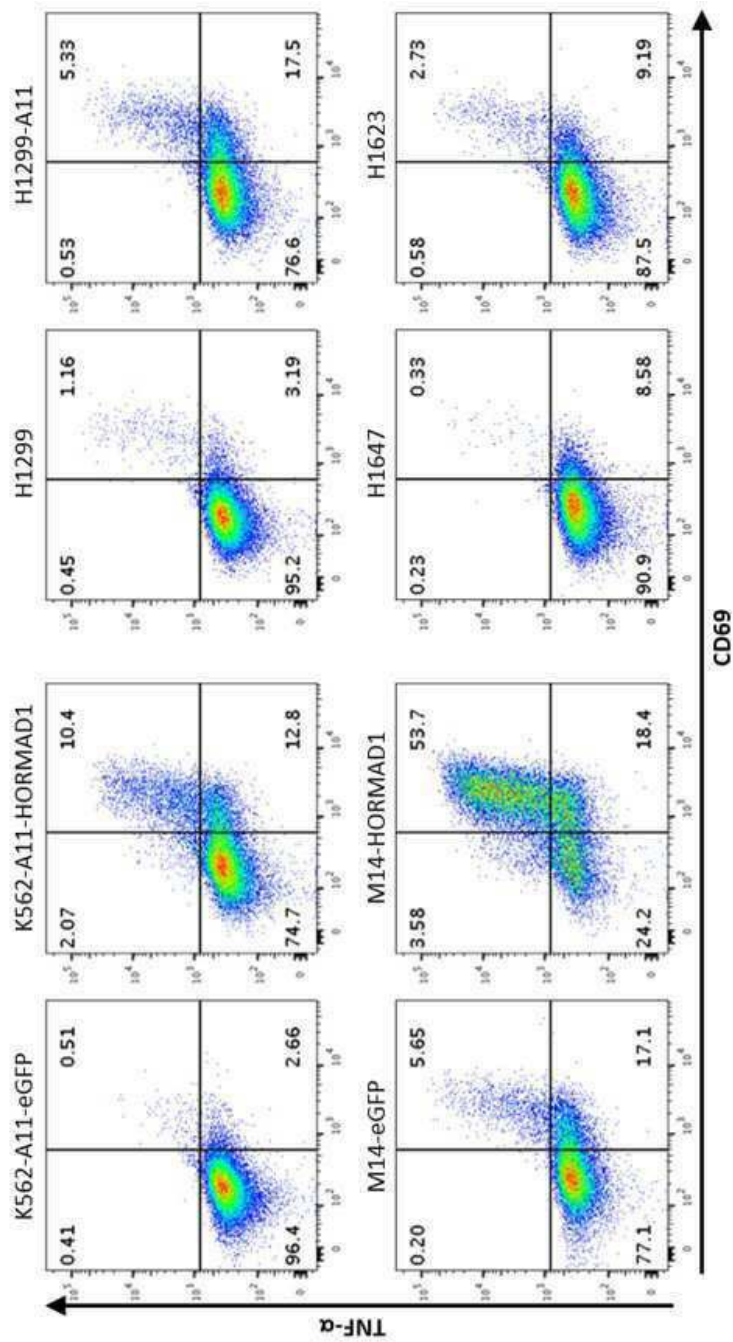
도면7cd



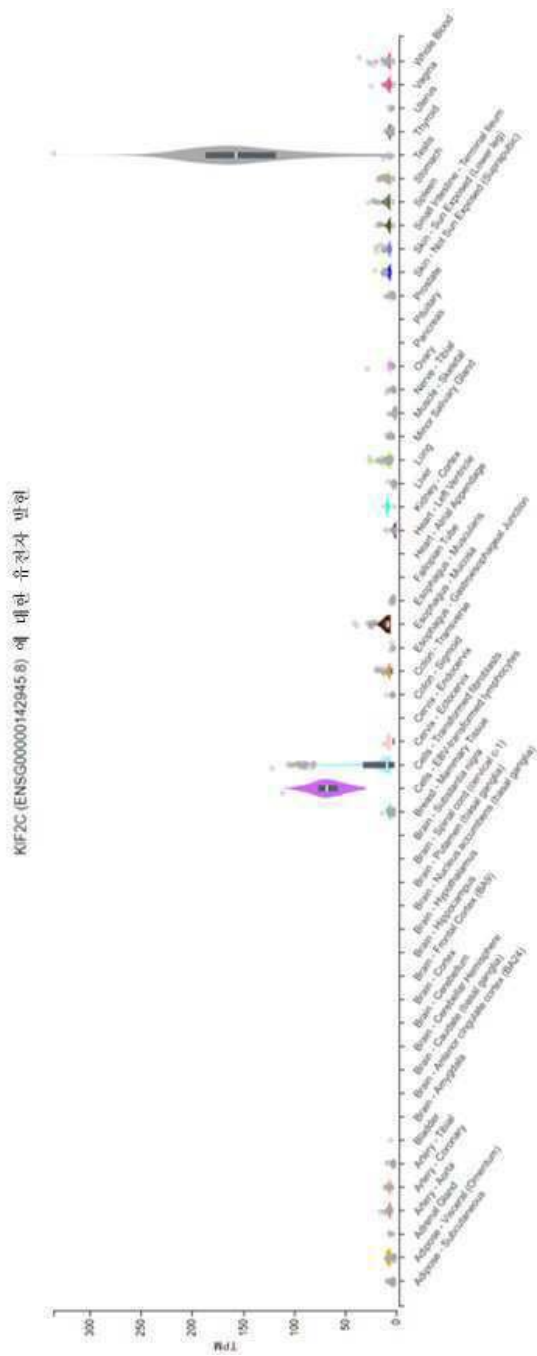
도면8a



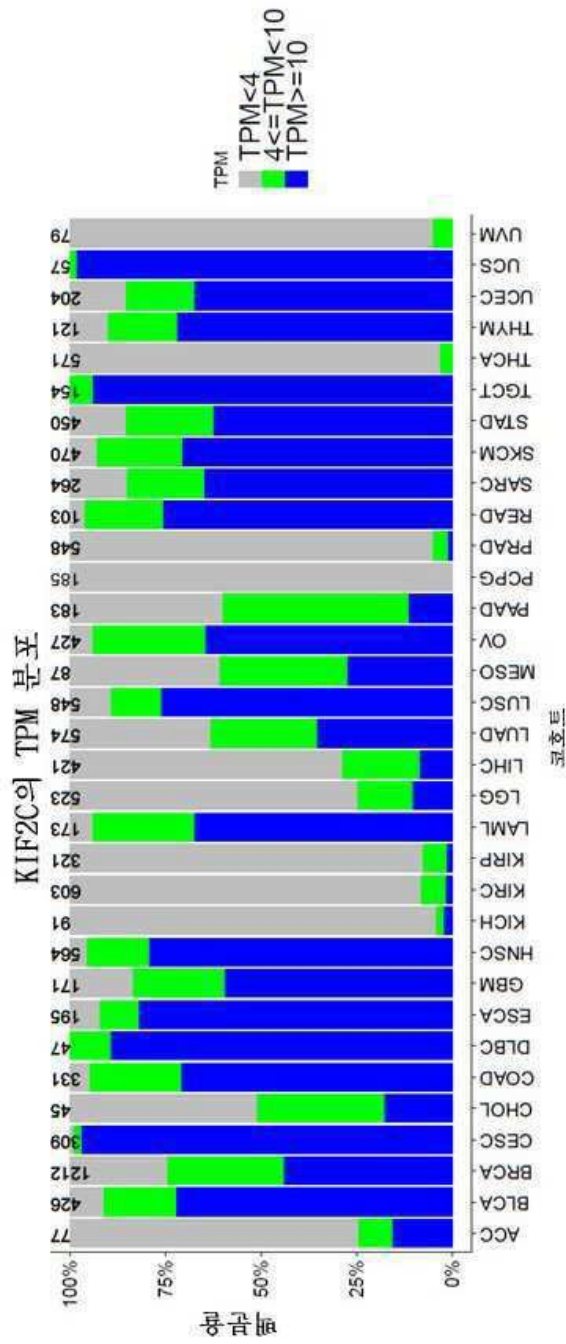
도면8b



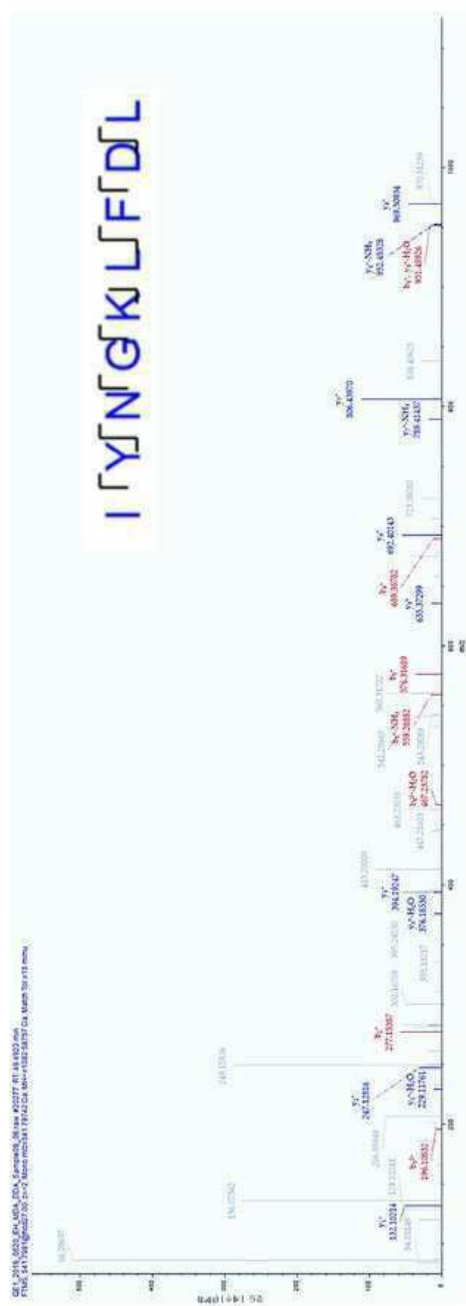
도면9



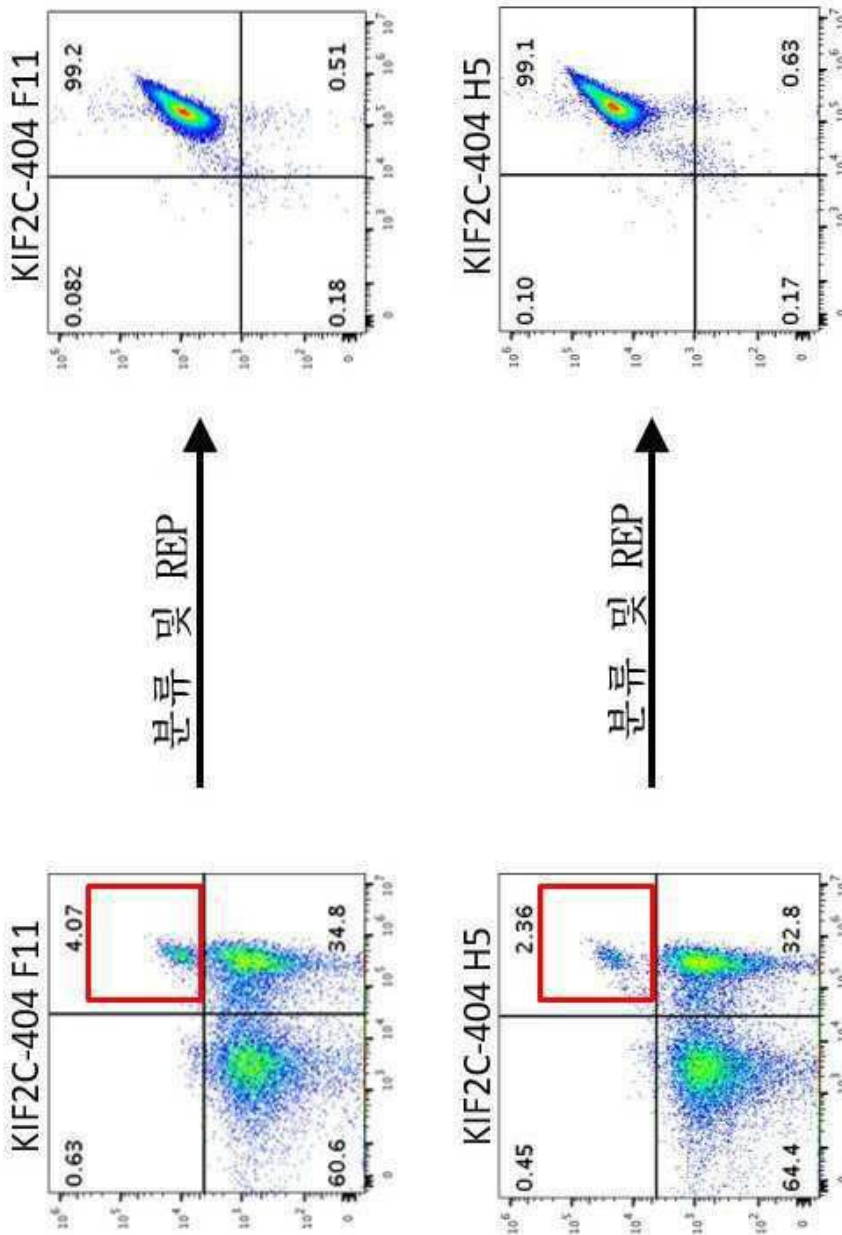
도면10



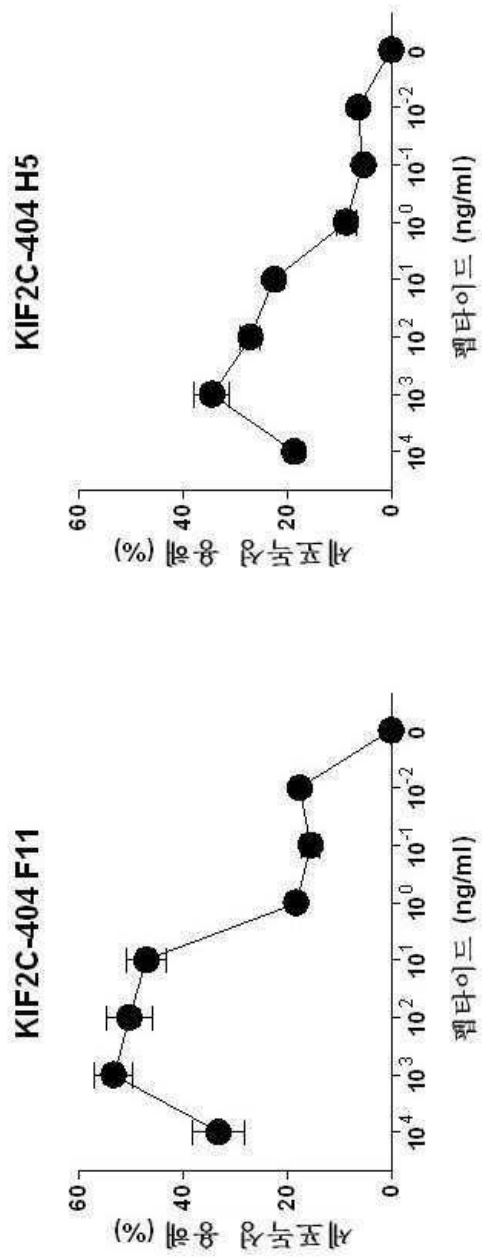
도면11



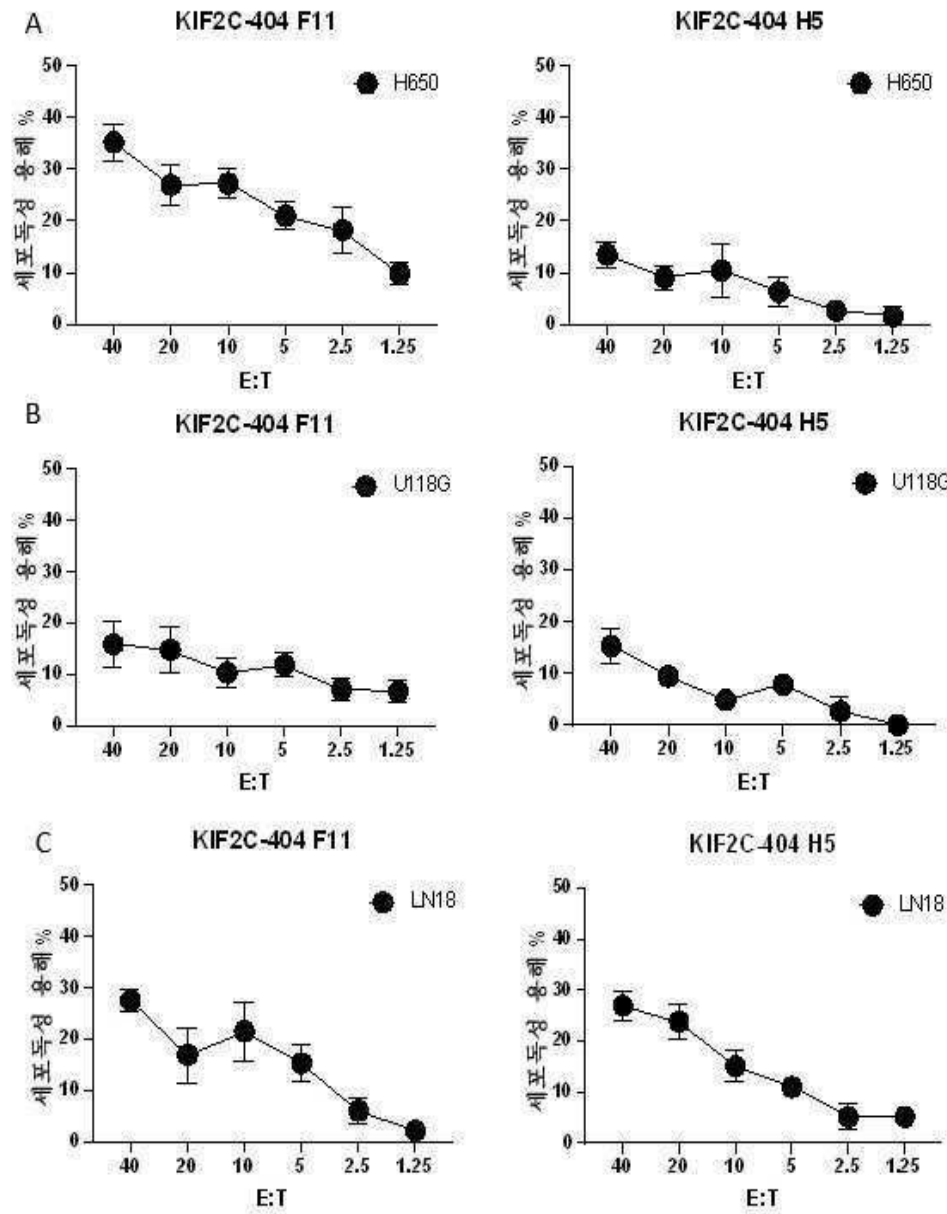
도면12



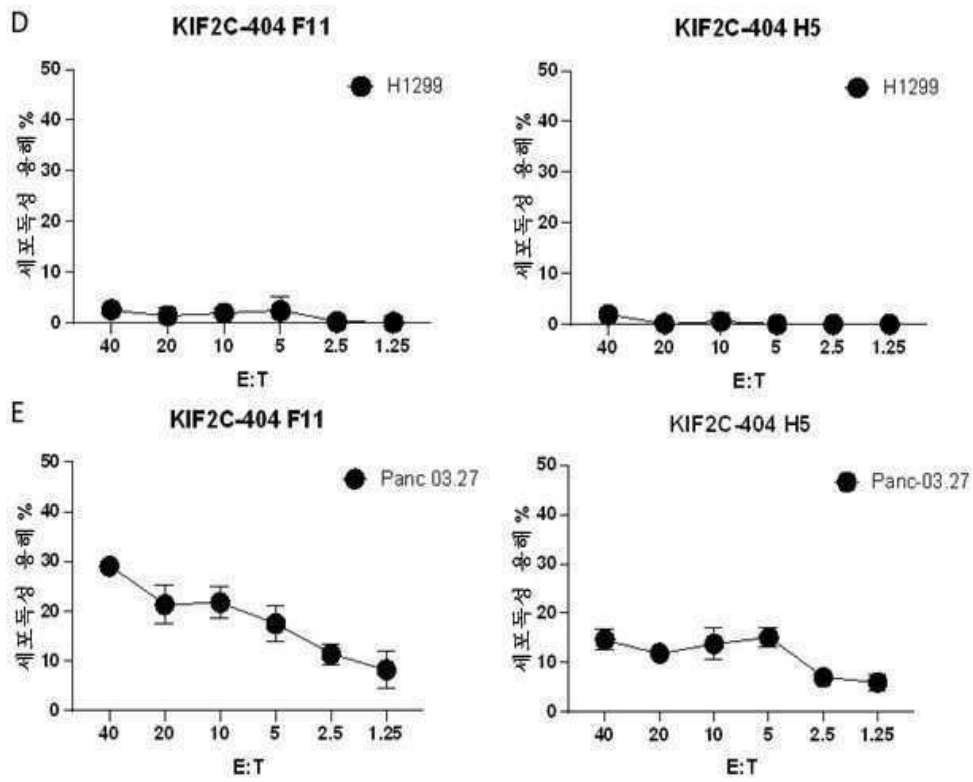
도면13



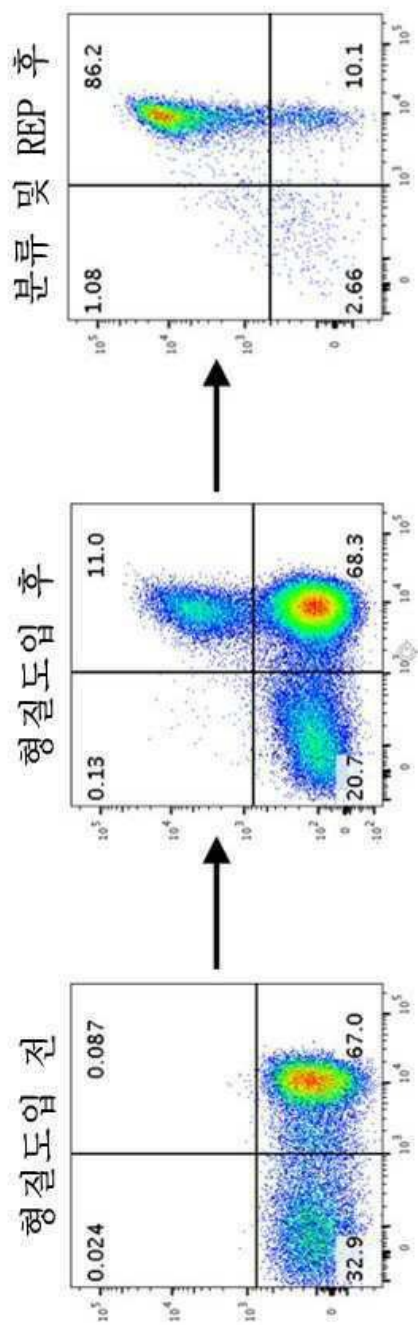
도면14abc



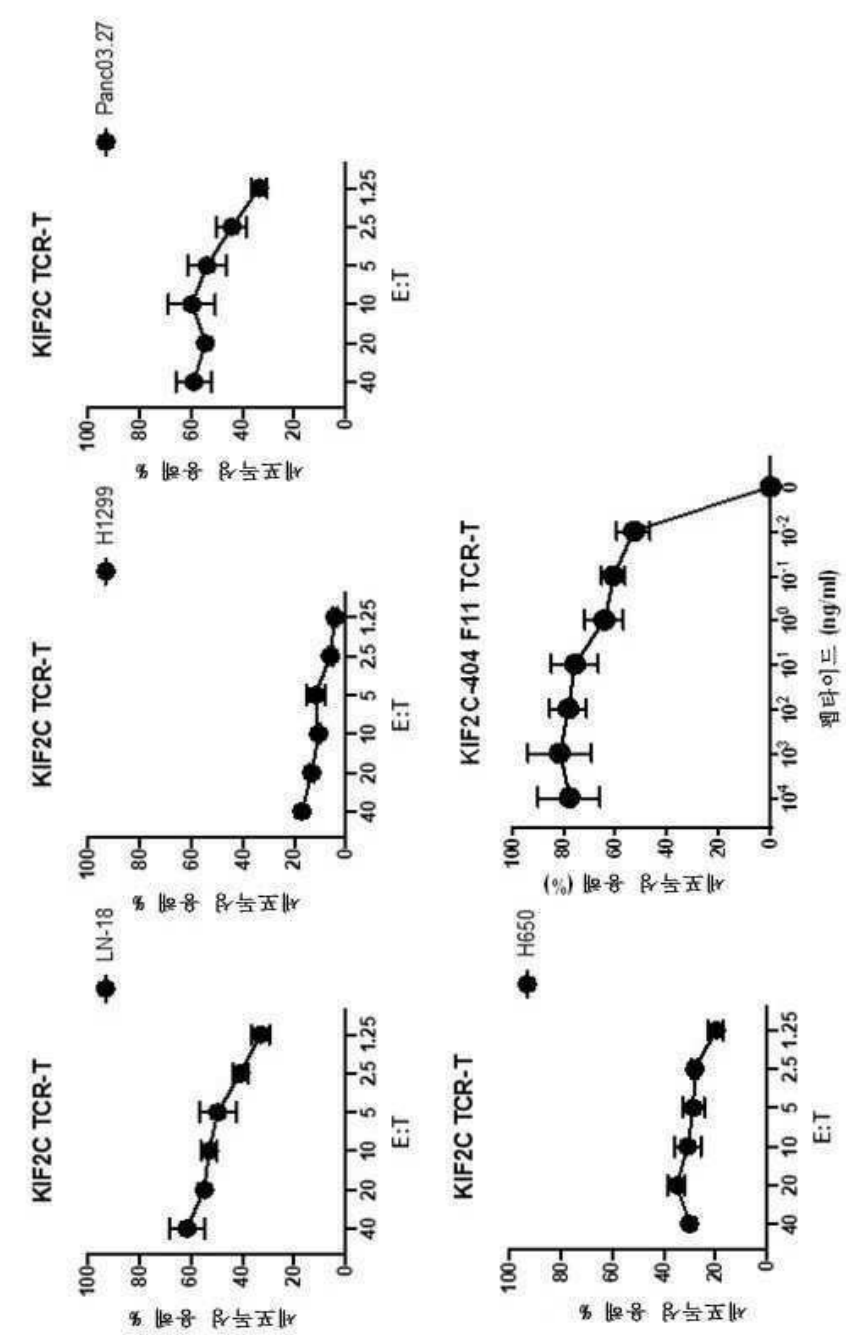
도면14de



도면15



도면16



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM
- <120> METHODS AND COMPOSITIONS COMPRISING MHC CLASS I PEPTIDES
- <130> MDAC.P1268WO
- <150> 63/176,477
- <151> 2021-04-19

<160> 34

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 1

Ile Tyr Asn Gly Lys Leu Phe Asp Leu

1 5

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 2

Ser Ser Ser Gln Glu Ser Val Pro Lys

1 5

<210> 3

<211> 819

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 3

atggagacc tcttgggcct gcttatacctt tggtgcagc tgcaatgggt gaggagcaaa 60

caggaggtga cacagattcc tgcagctctg agtgtcccag aaggagaaaa ctgggttctc 120

aactgcagtt tcaatgatag cgctatttac aacctccagt ggtttaggca ggacctggg 180

aaaggtctca catctctgtt gcttattcag tcaagtcaga gagagcaaac aagtgaaga 240

cttaatgcct cgctggataa atcatcagga cgtagtactt tatacattgc agcttctcag 300

cctggtgact cagccaccta cctctgtgct gtggatactg gagccaatag taagctgaca 360

tttgaaaag gaataactct gagtgttaga ccagatatcc agaaccctga ccctgccgtg 420

taccagctga gagactctaa atccagtac aagtctgtct gcctattcac cgattttgat 480

tctcaaaaa atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga caaaactgtg 540

ctagacatga ggictatgga cttcaagagc aacagtgctg tggcctggag caacaaatct 600
gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaagacac cttcttcccc 660
agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac agatacgaac 720

ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa agtggccggg 780
tttaatctgc tcatgacgct gcggctgtgg tccagctaa 819

<210> 4

<211> 272

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 4

Met Glu Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp

1 5 10 15

Val Ser Ser Lys Gln Glu Val Thr Gln Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val

20 25 30

Pro Glu Gly Glu Asn Leu Val Leu Asn Cys Ser Phe Thr Asp Ser Ala

35 40 45

Ile Tyr Asn Leu Gln Trp Phe Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr

50 55 60

Ser Leu Leu Leu Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg

65 70 75 80

Leu Asn Ala Ser Leu Asp Lys Ser Ser Gly Arg Ser Thr Leu Tyr Ile

85 90 95

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

100 105 110

Thr Gly Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

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

<210> 5

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 5

Lys Gln Glu Val Thr Gln Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val Pro Glu Gly

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

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

Asn Ser Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Ile Thr Leu Ser Val Arg Pro
 100 105 110

Asp

<210> 6

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 6

Met Glu Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp

1 5 10 15

Val Ser Ser

<210> 7

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 7

Asp Ser Ala Ile Tyr Asn

1 5

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 8

Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu

1 5

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 9

Ala Val Asp Thr Gly Ala Asn Ser Lys Leu Thr

1 5 10

<210> 10

<211> 927

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 10

atgggcacca ggctcctctg ctgggcggcc ctctgtctcc tgggagcaga actcacagaa 60
gctggagtgg cccagtctcc cagatataag attatagaga aaaggcagag tgtggctttt 120
tggtgcaatc ctatatctgg ccatgctacc ctttactggg accagcagat cctgggacag 180
ggcccaaagc ttctgattca gtttcagaat aacggtgtag tggatgattc acagttgcct 240

aaggatcgat ttctgcaga gaggtcaaa ggagtagact ccactctcaa gatccaacct 300
gcaaagcttg aggactcggc cgtgtatctc tgtgccagca gctatcatag ctatggctac 360
accttcggtt cggggaccag gttaaccgtt gtagaggacc tgaacaaggt gttccacacc 420
gaggtcgctg tgtttgacc atcagaagca gagatctccc acacccaaaa ggccacactg 480
gtgtgcctgg ccacaggctt cttccctgac cacgtggagc tgagctgggt ggtgaatggg 540
aaggaggtgc acagtgggtt cagcacggac ccgagccccc tcaaggagca gcccgcctc 600
aatgactcca gatactgcct gagcagccgc ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac 660

ccccgaacc acttccgtg tcaagtccag ttctacgggc tctcgagaa tgacgagtgg 720
accaggata gggccaaacc cgtcaccag atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca 780
gactgtggct ttacctcgtt gtcctaccag caaggggtcc tgtctgccac catcctctat 840
gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat gctgtgctgg tcagcgcctt tgtgttgatg 900
gccatggtca agagaaagga tttctaa 927

<210> 11

<211> 308

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 11

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

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

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

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

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

245 250 255
Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly

260 265 270
Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr

275 280 285
Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys

290 295 300
Arg Lys Asp Phe

305

<210> 12

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 12

Glu Ala Gly Val Ala Gln Ser Pro Arg Tyr Lys Ile Ile Glu Lys Arg

1 5 10 15
Gln Ser Val Ala Phe Trp Cys Asn Pro Ile Ser Gly His Ala Thr Leu

20 25 30
Tyr Trp Tyr Gln Gln Ile Leu Gly Gln Gly Pro Lys Leu Leu Ile Gln

35 40 45
Phe Gln Asn Asn Gly Val Val Asp Asp Ser Gln Leu Pro Lys Asp Arg

50 55 60
Phe Ser Ala Glu Arg Leu Lys Gly Val Asp Ser Thr Leu Lys Ile Gln

65 70 75 80
Pro Ala Lys Leu Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Tyr

85 90 95
His Ser Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Thr Val Val

100 105 110

<210> 13

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 13

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

1 5 10 15

Glu Leu Thr

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 14

Ser Gly His Ala Thr

1 5

<210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 15

Phe Gln Asn Asn Gly Val

1 5

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 16

Ala Ser Ser Tyr His Ser Tyr Gly Tyr Thr

1 5 10

<210> 17

<211> 828

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 17

```

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

gagaatcgtt ttctctgtgaa cttccagaaa gcagccaaat ccttcagtct caagatctca      300
gactcacagc tgggggatgc cgcgatgtat ttctgtgctt ataggagcgc gggttcggcag      360
aagctgctct ttgcaagggg aaccatgtta aaggtggatc ttaatatcca gaacctgac      420
cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc      480
gattttgatt ctcaacaaa tgtgtcacia agtaaggatt ctgatgtgta taccacagac      540
aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtgtg ggcctggagc      600
aacaatctg actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc      660

ttcttcccca gccagaaaag ttctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaacaa      720
gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct cctcctgaaa      780
gtggccgggt ttaatctgct catgacgtg cggtctgtgt ccagctaa      828

```

<210> 18

<211> 275

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 18

```

Met Ala Cys Pro Gly Phe Leu Trp Ala Leu Val Ile Ser Thr Cys Leu
1           5           10           15
Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser

           20           25           30
Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser
           35           40           45
Glu Ser Asp Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Arg Gln
           50           55           60

```

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr
65 70 75 80
Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser
85 90 95
Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys
100 105 110
Ala Tyr Arg Ser Ala Val Arg Gln Lys Leu Leu Phe Ala Arg Gly Thr
115 120 125
Met Leu Lys Val Asp Leu Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr
130 135 140
Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr
145 150 155 160
Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val
165 170 175
Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys
180 185 190
Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala
195 200 205
Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser
210 215 220
Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr
225 230 235 240
Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile
245 250 255
Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu
260 265 270
Trp Ser Ser
275
<210> 19
<211> 115
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr Glu Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser Leu Lys Ile Ser

65 70 75 80

Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys Ala Tyr Arg Ser

85 90 95

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

100 105 110

Asp Leu Asn

115

<210> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 20

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

1 5 10 15

Glu Phe Ser Met

20

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 21

Thr Ser Glu Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 22

Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn

1 5

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 23

Ala Tyr Arg Ser Ala Val Arg Gln Lys Leu Leu

1 5 10

<210> 24

<211> 939

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 24

atgggcacca gcctcctctg ctggatggcc ctgtgtctcc tgggggcaga tcacgcagat 60

actggagtct cccaggaccc cagacacaag atcacaaga ggggacagaa tgtaactttc 120

aggtgtgatc caatttctga acacaaccgc ctttattggt accgacagac cctggggcag 180

ggcccagagt ttctgactta cttccagaat gaagctcaac tagaaaaatc aaggctgctc 240

agtgatcggt tctctgcaga gaggcctaag ggatctttct ccaccttgga gatccagcgc 300

acagagcagg gggactcggc catgtatctc tgtgccagca gctccccggg gggccggtcc 360

tacaatgagc agttcttcgg gccagggaca cggtcaccg tgctagagga cctgaaaaac 420

gtgttccac ccgaggtcgc tgtgtttgag ccatcagaag cagagatctc ccacacccaa 480
aaggccacac tgggtgtgcct ggccacaggc ttcttcctg accacgtgga gctgagctgg 540

tgggtgaatg ggaaggaggt gcacagtggg gtcagcacgg acccgagcc cctcaaggag 600
cagcccgcct tcaatgactc cagatactgc ctgagcagcc gccagagggt ctcggccacc 660
ttctggcaga acccccgcaa ccacttcgc tgtcaagtcc agttctacgg gctctcggag 720
aatgacgagt ggacccagga tagggccaaa cccgtcacc agatcgtcag cgccgagggc 780
tgggtagag cagactgtgg ctttacctcg gtgtcctacc agcaagggt cctgtctgcc 840
accatcctct atgagatcct gctaggggaag gccaccctgt atgctgtgct ggtcagcgcc 900
cttgtgttga tggccatggt caagagaaag gatttctaa 939

<210> 25

<211> 312

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 25

Met Gly Thr Ser Leu Leu Cys Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala

1 5 10 15

Asp His Ala Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr

20 25 30

Lys Arg Gly Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His

35 40 45

Asn Arg Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe

50 55 60

Leu Thr Tyr Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Ile Gln Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala

100 105 110

Ser Ser Ser Pro Gly Gly Arg Ser Tyr Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro

115 120 125

Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro
130 135 140

Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln
145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val
165 170 175

Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser
180 185 190

Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg
195 200 205

Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn
210 215 220

Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu
225 230 235 240

Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val
245 250 255

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

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

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

Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe
305 310

<210> 26
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 26

Asp Thr Gly Val Ser Gln Asp Pro Arg His Lys Ile Thr Lys Arg Gly
1 5 10 15

Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His Asn Arg Leu

20 25 30

Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Thr Tyr

35 40 45

Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Arg

50 55 60

Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu Glu Ile Gln

65 70 75 80

Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Ser

85 90 95

Pro Gly Gly Arg Ser Tyr Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg

100 105 110

Leu Thr Val Leu

115

<210> 27

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 27

Met Gly Thr Ser Leu Leu Cys Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala

1 5 10 15

Asp His Ala

<210> 28

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 28

Ser Glu His Asn Arg

1 5

<210> 29

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 29

Phe Gln Asn Glu Ala Gln

1 5

<210> 30

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 30

Ala Ser Ser Ser Pro Gly Gly Arg Ser Tyr Asn Glu Gln Phe

1 5 10

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 31

Cys Ala Tyr Arg Ser Ala Val Arg Gln Lys Leu Leu Phe

1 5 10

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 32

Cys Ala Ser Ser Ser Pro Gly Gly Arg Ser Tyr Asn Glu Gln Phe Phe

1 5 10 15

<210> 33

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 33

Cys Ala Val Asp Thr Gly Ala Asn Ser Lys Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 34

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 34

Cys Ala Ser Ser Tyr His Ser Tyr Gly Tyr Thr Phe

1 5 10