



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0037592
(43) 공개일자 2025년03월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/725 (2006.01) A61K 40/32 (2025.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/82 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/7051 (2013.01)
A61K 40/32 (2025.01)
(21) 출원번호 10-2025-7006999(분할)
(22) 출원일자(국제) 2018년09월19일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2020-7011112
원출원일자(국제) 2018년09월19일
심사청구일자 2021년09월17일
(85) 번역문제출일자 2025년02월28일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/051641
(87) 국제공개번호 WO 2019/060349
국제공개일자 2019년03월28일
(30) 우선권주장
62/560,930 2017년09월20일 미국(US)

(71) 출원인
더 유나이티드 스테이츠 오브 어메리카, 애즈 리
프렌티드 바이 더 세크러테리, 디파트먼트 오브
헬쓰 앤드 휴먼 서비스즈
미국, 메릴랜드 20892, 베서스다, 엠에스 7788,
스위트 700, 6701 록리지 드라이브, 내셔널 인스
티튜츠 오브 헬스, 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼
(72) 발명자
요세프 라미
미국 메릴랜드주 20850 록빌 엘름크로프트 불러바
드 640 아파트먼트 1409
카프리 겔
미국 메릴랜드주 20852 록빌 콘그레셔널 레인 305
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

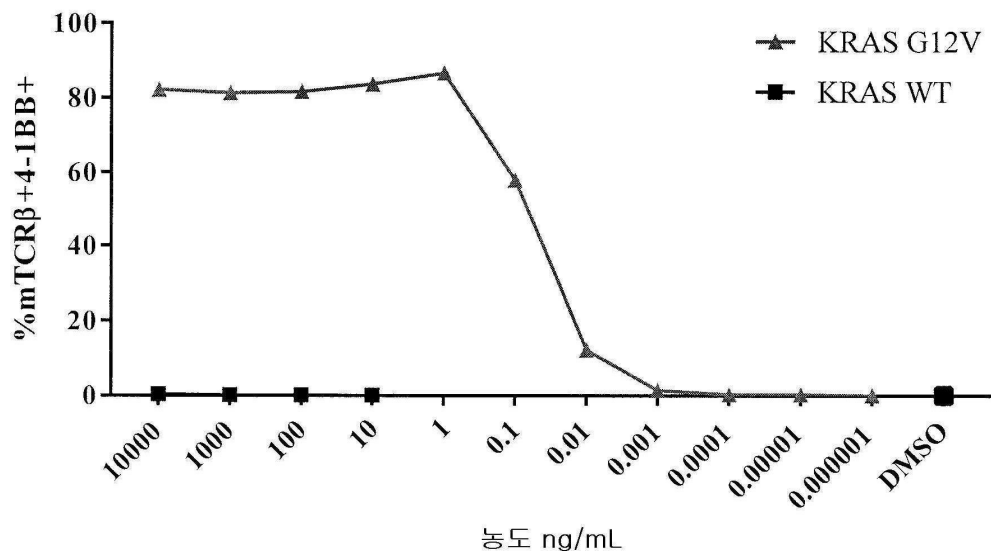
전체 청구항 수 : 총 33 항

(54) 발명의 명칭 돌연변이된 RAS에 대한 HLA 클래스 II-제한된 T 세포 수용체

(57) 요약

인간 백혈구 항원(HLA) 클래스 II 분자에 의해 제시된 돌연변이된 키르스텐 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족
체(KRAS)에 대해 항원 특이성을 갖는 단리되거나 정제된 T 세포 수용체(TCR)가 개시된다. 관련된 폴리펩티드 및
단백질, 뿐만 아니라 관련된 핵산, 제조합 발현 벡터, 숙주 세포, 세포 집단 및 약학 조성물이 또한 제공된다.
또한, 포유동물에서 암의 존재의 검출 방법 및 포유동물에서 암의 치료 또는 예방 방법이 개시된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 14/82 (2013.01)

G01N 33/5748 (2013.01)

(72) 발명자

로빈스 폴 에프

미국 메릴랜드주 20815 체비 체이스 글렌데일 로드
7907

로젠버그 스티븐 에이

미국 메릴랜드주 20854 포토맥 아이언 게이트 로드
10104

명세서

청구범위

청구항 1

인간 백혈구 항원(HLA) 클래스 II 분자에 의해 제시된 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열에 대해 항원 특이성을 갖는 단리되거나 정제된 T 세포 수용체(TCR)로서,

상기 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열이 돌연변이된 인간 키르스텐 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(KRAS), 돌연변이된 인간 하비 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(HRAS) 또는 돌연변이된 인간 신경아세포종 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(NRAS) 아미노산 서열인, TCR.

청구항 2

제1항에 있어서,

HLA 클래스 II 분자가 HLA-DR 분자인, TCR.

청구항 3

제1항에 있어서,

HLA 클래스 II 분자가 HLA-DRB1 분자인, TCR.

청구항 4

제1항에 있어서,

HLA 클래스 II 분자가 HLA-DRB1*07:01 분자 또는 HLA-DRB1*11:01 분자인, TCR.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열이 위치 12의 글리신 치환을 갖는 야생형 인간 KRAS, 야생형 인간 HRAS 또는 야생형 인간 NRAS 아미노산 서열을 포함하되, 상기 위치 12는 각각 야생형 인간 KRAS, 야생형 인간 HRAS 또는 야생형 인간 NRAS 단백질과 관련하여 한정되는, TCR.

청구항 6

제5항에 있어서,

치환이 발린 또는 시스테인에 의한 위치 12의 글리신 치환인, TCR.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 서열번호 1 내지 3 모두의 아미노산 서열,
 - (b) 서열번호 4 내지 6 모두의 아미노산 서열,
 - (c) 서열번호 7 내지 9 모두의 아미노산 서열,
 - (d) 서열번호 10 내지 12 모두의 아미노산 서열,
 - (e) 서열번호 1 내지 6 모두의 아미노산 서열, 또는
 - (f) 서열번호 7 내지 12 모두의 아미노산 서열
- 을 포함하는 TCR.

청구항 8

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 서열번호 13의 아미노산 서열,
 - (ii) 서열번호 14의 아미노산 서열,
 - (iii) 서열번호 15의 아미노산 서열,
 - (iv) 서열번호 16의 아미노산 서열,
 - (v) 서열번호 13 및 14 둘 모두의 아미노산 서열, 또는
 - (vi) 서열번호 15 및 16 둘 모두의 아미노산 서열
- 을 포함하는 TCR.

청구항 9

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) (i) 서열번호 30의 위치 48의 X가 Thr 또는 Cys이고,
 - (ii) 서열번호 30의 위치 112의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고,
 - (iii) 서열번호 30의 위치 114의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,
 - (iv) 서열번호 30의 위치 115의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,
- 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 α 채 불변 영역;
- (b) 서열번호 31의 위치 57의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 β 채 불변 영역;
- 또는
- (c) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두
- 를 추가로 포함하는 TCR.

청구항 10

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) (i) 서열번호 34의 위치 179의 X가 Thr 또는 Cys이고,
 - (ii) 서열번호 34의 위치 243의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고,
 - (iii) 서열번호 34의 위치 245의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,
 - (iv) 서열번호 34의 위치 246의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,
- 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 α 채;
- (b) 서열번호 35의 위치 189의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 β 채;
- (c) (i) 서열번호 36의 위치 180의 X가 Thr 또는 Cys이고,
 - (ii) 서열번호 36의 위치 244의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고,
 - (iii) 서열번호 36의 위치 246의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,
 - (iv) 서열번호 36의 위치 247의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,
- 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 α 채;
- (d) 서열번호 37의 위치 194의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 β 채;
- (e) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두; 또는

(f) 상기 (c) 및 (d) 둘 모두
를 포함하는 단리되거나 정제된 TCR.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 TCR 기능성 부분을 포함하는 단리되거나 정제된 폴리펩티드로서, 상기 기능성 부분이

- (a) 서열번호 1 내지 3 모두의 아미노산 서열,
 - (b) 서열번호 4 내지 6 모두의 아미노산 서열,
 - (c) 서열번호 7 내지 9 모두의 아미노산 서열,
 - (d) 서열번호 10 내지 12 모두의 아미노산 서열,
 - (e) 서열번호 1 내지 6 모두의 아미노산 서열, 또는
 - (f) 서열번호 7 내지 12 모두의 아미노산 서열
- 을 포함하는, 단리되거나 정제된 폴리펩티드.

청구항 12

제11항에 있어서,
기능성 부분이

- (i) 서열번호 13의 아미노산 서열,
 - (ii) 서열번호 14의 아미노산 서열,
 - (iii) 서열번호 15의 아미노산 서열,
 - (iv) 서열번호 16의 아미노산 서열,
 - (v) 서열번호 13 및 14 둘 모두의 아미노산 서열, 또는
 - (vi) 서열번호 15 및 16 둘 모두의 아미노산 서열
- 을 포함하는, 단리되거나 정제된 폴리펩티드.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서,

- (a) (i) 서열번호 30의 위치 48의 X가 Thr 또는 Cys이고,
 - (ii) 서열번호 30의 위치 112의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;
 - (iii) 서열번호 30의 위치 114의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,
 - (iv) 서열번호 30의 위치 115의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,
- 서열번호 30의 아미노산 서열;
- (b) 서열번호 31의 위치 57의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 31의 아미노산 서열; 또는
 - (c) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두
- 를 추가로 포함하는 단리되거나 정제된 폴리펩티드.

청구항 14

제11항 또는 제12항에 있어서,

- (a) (i) 서열번호 34의 위치 179의 X가 Thr 또는 Cys이고,

- (ii) 서열번호 34의 위치 243의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고,
 - (iii) 서열번호 34의 위치 245의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,
 - (iv) 서열번호 34의 위치 246의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,
- 서열번호 34의 아미노산 서열;
- (b) 서열번호 35의 위치 189의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 35의 아미노산 서열;
- (c) (i) 서열번호 36의 위치 180의 X가 Thr 또는 Cys이고,
- (ii) 서열번호 36의 위치 244의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고,
- (iii) 서열번호 36의 위치 246의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,
- (iv) 서열번호 36의 위치 247의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,
- 서열번호 36의 아미노산 서열;
- (d) 서열번호 37의 위치 194의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 37의 아미노산 서열;
- (e) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두; 또는
- (f) 상기 (c) 및 (d) 둘 모두
- 를 포함하는 단리되거나 정제된 폴리펩티드.

청구항 15

제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 단리되거나 정제된 단백질.

청구항 16

제15항에 있어서,

- (a) 서열번호 1 내지 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드쇄 및 서열번호 4 내지 6의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드쇄; 또는
 - (b) 서열번호 7 내지 9의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드쇄 및 서열번호 10 내지 12의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드쇄
- 를 포함하는 단리되거나 정제된 단백질.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서,

- (i) 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드쇄 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드쇄; 또는
 - (ii) 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드쇄 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드쇄
- 를 포함하는 단리되거나 정제된 단백질.

청구항 18

제15항 또는 제16항에 있어서,

- (a) (i) 서열번호 30의 위치 48의 X가 Thr 또는 Cys이고,
- (ii) 서열번호 30의 위치 112의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고,
- (iii) 서열번호 30의 위치 114의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,
- (iv) 서열번호 30의 위치 115의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,

서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드쇄;

(b) 서열번호 31의 위치 57의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드쇄; 또는

(c) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두

를 추가로 포함하는 단리되거나 정제된 단백질.

청구항 19

제15항 또는 제16항에 있어서,

(a) (i) 서열번호 34의 위치 179의 X가 Thr 또는 Cys이고,

(ii) 서열번호 34의 위치 243의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고,

(iii) 서열번호 34의 위치 245의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,

(iv) 서열번호 34의 위치 246의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,

서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드쇄;

(b) 서열번호 35의 위치 189의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드쇄;

(c) (i) 서열번호 36의 위치 180의 X가 Thr 또는 Cys이고,

(ii) 서열번호 36의 위치 244의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고,

(iii) 서열번호 36의 위치 246의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고,

(iv) 서열번호 36의 위치 247의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인,

서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드쇄;

(d) 서열번호 37의 위치 194의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드쇄;

(e) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두; 또는

(f) 상기 (c) 및 (d) 둘 모두

를 포함하는 단리되거나 정제된 단백질.

청구항 20

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 TCR, 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 또는 제15항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리되거나 정제된 핵산.

청구항 21

제20항의 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터.

청구항 22

제21항의 재조합 발현 벡터를 포함하는 단리되거나 정제된 숙주 세포.

청구항 23

제22항의 숙주 세포를 포함하는 단리되거나 정제된 세포 집단.

청구항 24

(a) 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 TCR, 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제15항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단백질, 제20항의 핵산, 제21항의 재조합 발현 벡터, 제22항의 숙주 세포 또는 제23항의

세포 집단, 및 (b) 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 25

(a) 암 세포를 포함하는 샘플을, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 TCR, 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제15항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단백질, 제20항의 핵산, 제21항의 재조합 발현 벡터, 제22항의 숙주 세포, 제23항의 세포 집단 또는 제24항의 약학 조성물에 접촉시켜 복합체를 형성하는 단계; 및

(b) 상기 복합체를 검출하는 단계

를 포함하는 포유동물에서 암의 존재를 검출하는 방법으로서,

상기 복합체의 검출이 포유동물에서 암의 존재를 지시하는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 TCR, 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제15항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단백질, 제20항의 핵산, 제21항의 재조합 발현 벡터, 제22항의 숙주 세포 또는 제23항의 세포 집단을 포함하는, 포유동물에서 암을 치료하거나 예방하기 위한 약학 조성물.

청구항 27

제25항 또는 제26항에 있어서,

암이 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열을 발현하고, 상기 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열이 돌연변이된 인간 KRAS, 돌연변이된 인간 HRAS 또는 돌연변이된 인간 NRAS 아미노산 서열인, 방법 또는 약학 조성물.

청구항 28

제27항에 있어서,

돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열이 위치 12의 글리신 치환을 갖는 야생형 인간 KRAS, 야생형 인간 HRAS 또는 야생형 인간 NRAS 아미노산 서열이고, 상기 위치 12가 각각 야생형 인간 KRAS, 야생형 인간 HRAS 또는 야생형 인간 NRAS 아미노산 서열과 관련하여 한정되는, 방법 또는 약학 조성물.

청구항 29

제28항에 있어서,

치환이 발린 또는 시스테인에 의한 위치 12의 글리신 치환인, 방법 또는 약학 조성물.

청구항 30

제27항에 있어서,

돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열이 돌연변이된 인간 키르스텐 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(KRAS) 아미노산 서열인, 방법 또는 약학 조성물.

청구항 31

제27항에 있어서,

돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열이 돌연변이된 인간 신경아세포종 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(NRAS) 아미노산 서열인, 방법 또는 약학 조성물.

청구항 32

제27항에 있어서,

돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열이 돌연변이된 인간 하비 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(HRAS) 아미노산 서열인, 방법 또는 약학 조성물.

청구항 33

제25항 또는 제26항에 있어서,

암이 췌장암, 대장암, 폐암, 자궁내막암, 난소암 또는 전립선암인, 방법 또는 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호-참조

[0002] 본원은 그 전문이 본원에 참고로 도입된 US 62/560,930(출원일: 2017년 9월 20일)을 우선권 주장한다.

[0003] 연방 지원된 연구 개발에 관한 진술

[0004] 본 발명은 국립 보건원, 국립 암 연구소에 의해 BC01098의 프로젝트 번호 하에 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에 일정한 권리를 갖는다.

[0005] 전자 제출된 자료의 참고도입

[0006] 본원과 동시에 제출되고 하기와 같이 확인된 컴퓨터-판독가능한 뉴클레오타이드/아미노산 서열 목록이 전체적으로 본원에 참고로 도입된다: 2018년 9월 5일자로 생성되어 "739664_ST25.txt"로 명명된 1개의 59,753 바이트 ASCII(텍스트) 파일.

배경 기술

[0007] 몇몇 암들은, 특히 암이 전이성이 되고 절제불가능하게 될 때, 매우 제한된 치료 선택권을 가질 수 있다. 예를 들어, 수술, 화학요법 및 방사선 치료와 같은 치료법의 발전에도 불구하고, 예를 들어, 췌장암, 대장암, 폐암, 자궁내막암, 난소암 및 전립선암과 같은 많은 암들에 대한 예후는 불량할 수 있다. 따라서, 암의 또 다른 치료법에 대한 미충족 요구가 남아있다.

발명의 내용

[0008] 본 발명의 실시양태는 인간 백혈구 항원(HLA) 클래스 II 분자에 의해 제시된 돌연변이된 인간 Ras 아미노산 서열에 대해 항원 특이성을 갖는 단리되거나 정제된 T 세포 수용체(TCR)를 제공하되, 여기서 상기 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열은 돌연변이된 인간 키르스텐 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(KRAS), 돌연변이된 인간 하비 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(HRAS), 또는 돌연변이된 인간 신경아세포종 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(NRAS) 아미노산 서열이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 실시양태는 본 발명의 TCR의 기능성 부분을 포함하는 단리되거나 정제된 폴리펩티드를 제공하되, 여기서 상기 기능성 부분은 (a) 서열번호 1 내지 3 모두의 아미노산 서열, (b) 서열번호 4 내지 6 모두의 아미노산 서열, (c) 서열번호 7 내지 9 모두의 아미노산 서열, (d) 서열번호 10 내지 12 모두의 아미노산 서열, (e) 서열번호 1 내지 6 모두의 아미노산 서열, 또는 (f) 서열번호 7 내지 12 모두의 아미노산 서열을 포함한다.

[0010] 본 발명의 또 다른 실시양태는 하나 이상의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 단리되거나 정제된 단백질을 제공한다.

[0011] 본 발명의 실시양태는 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 및 단백질과 관련된 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 세포 집단 및 약학 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명의 실시양태는 포유동물에서 암의 존재의 검출 방법 및 포유동물에서 암의 치료 또는 예방 방법을 추가로 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 유세포 분석에 의한 동형(대조군)에 대해 염색된 세포 또는 PD-1 및/또는 OX40 발현에 대해 염색된 세포의 검출을 보여주는 실험 데이터(점 도표)를 도시한다. 히스토그램의 수는 PD-1을 발현하는 세포의 백분율을 나타낸다.

도 2는, 효과기 자기유래 T 세포의 풀링된 배양물(배양물 번호 W1 내지 W16)을, 다양한 종양-특이적 돌연변이를 포함하는, 지시된 25-mer 펩티드의 풀(PP) 또는 25-mer 텐덤 꼬마유전자(TMG)에 의해 암호화된 펩티드의 풀에

의해 펄스화된 표적 DC와 함께 공동-배양시 검출된 웰 당 인터페론 감마(IFN γ) 양성 스팟의 수를 보여주는 그래프이다. 단독으로, 또는 다이메틸 설폭사이드(DMSO) 또는 OKT3 항체와 함께 배양된 자기유래 T 세포는 대조군으로서 제공되었다. 상자 안의 기호(▼)는 TCR이 단리되는 풀링된 배양물(7 및 8)을 나타낸다.

도 3은, 배양물 번호 7(W7)의 자기유래 T 세포를, 펩티드 풀 1(PP1)의 펩티드 1 내지 17(P1 내지 P17) 각각에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 공동-배양시 검출된 2×10^4 (2E4) 세포 당 IFN γ 양성 스팟의 수를 보여주는 그래프이다. 다이메틸 설폭사이드(DMSO) 또는 OKT3 항체와 함께 배양된 자기유래 T 세포가 대조군으로서 제공되었다.

도 4는, HLA-차단 항체 W6/32(항-HLA-A, -B, -C), IVA12(pan-특이적, 항-HLA 클래스 II), B7/21(항-HLA-DP), HB55(항-HLA-DR) 또는 SPV-L3(HLA-DQ)(표적 세포)의 존재 하에 KRAS G12V 펩티드(1 ng/mL)에 의해 펄스화된 표적 자기유래 APC와의 공동-배양시 4-1BB를 발현하는 실시예 2의 TCR에 의해 형질도입된 효과기 T 세포의 백분율을 보여주는 그래프이다. 단독으로, 또는 DMSO 또는 포르볼 미리스테이트 아세테이트(PMA)와 함께 배양된 효과기 형질도입된 세포가 대조군으로서 제공되었다. 1 ng/mL KRAS G12V 펩티드에 의해 펄스화된 표적 자기유래 APC와 함께 공동-배양된 빈 벡터(모크(mock))에 의해 형질도입된 효과기 세포가 또 다른 대조군으로서 제공되었다.

도 5는, 실시예 2의 TCR에 의해 형질도입된 T 세포를, 자기유래 APC(4148 MB), 또는 KRAS^{G12V} 펩티드 또는 WT KRAS 펩티드에 의해 펄스화된 DRB1 01:01 또는 DRB1 07:01 일배체형을 갖는 공여자의 APC와 함께 공동-배양시, (i) ELISPOT에 의해 측정된 2×10^4 세포 당 IFN- γ 의 수 및 (ii) 유세포 분석에 의해 측정된 mTCR β +CD8+4-1BB+ 세포의 백분율을 보여주는 그래프이다. 효과기 세포를 대조군으로서 HLA-DRB1 양성 공여자("DRB 미스매치")의 APC와 함께 공동-배양하였다. 단독으로, 또는 DMSO 또는 포르볼 미리스테이트 아세테이트-이오노마이신(PMA:Iono)과 함께 배양된 효과기 세포가 추가적 대조군으로서 제공되었다.

도 6은, 실시예 2의 TCR에 의해 형질도입된 T 세포를, KRAS G12 돌연변이 G12R, G12C, G12D 또는 G12V 중 하나를 발현하는 종양 세포주의 세포 용해물에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 공동-배양시, (i) ELISPOT에 의해 측정된 2×10^4 세포 당 IFN- γ 의 수(교차된 평행선 무늬를 넣은 막대) 및 (ii) 유세포 분석에 의해 측정된 4-1BB 및/또는 OX40을 발현하는 세포의 백분율(흑색 막대)을 보여주는 그래프이다. WT KRAS를 발현하는 종양 세포주의 세포 용해물에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 공동-배양된 형질도입된 세포가 대조군으로서 제공되었다. 단독으로, 또는 PMA 또는 DMSO와 함께 배양된 형질도입된 세포가 추가적 대조군으로서 제공되었다.

도 7은, 지시된 농도에서, KRAS^{G12V} 펩티드(삼각형) 또는 WT KRAS 펩티드(사각형)에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 밤새 공동-배양된 실시예 2의 TCR에 의해 형질도입된 T 세포의 공동-배양시 유세포 분석에 의해 측정된 mTCR β +CD8+4-1BB+ 세포의 백분율을 보여주는 그래프이다.

도 8은, 지시된 농도에서, 실시예 2의 TCR에 의해 형질도입된 T 세포를 표 9의 펩티드에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 공동-배양시, ELISPOT에 의해 측정된 2×10^4 세포 당 IFN- γ 의 수를 보여주는 그래프이다.

도 9는, KRAS^{G12C} TCR을 암호화하는 MSGV-1-레트로바이러스에 의해 형질도입된 세포를 DMSO(대조군), 또는 지시된 농도에서 지시된 WT KRAS 또는 KRAS^{G12C} 펩티드를 적재한 DC와 함께 공동-배양 후, 무린 TCR 베타 쇄 및 4-1BB를 발현하는 세포의 백분율을 보여주는 실험 데이터(점 도표)를 도시한다. 점 도표는, mTCR β +4-1BB-(상부 좌측 사분면(Q1)); mTCR β +4-1BB+(상부 우측 사분면(Q2)); mTCR β -4-1BB+(하부 우측 사분면(Q3)); mTCR β -4-1BB-(하부 좌측 사분면(Q4))의 세포의 백분율을 하기와 같이 표시한다(괄호안 백분율): DMSO: Q1(71.0), Q2(0.96), Q3(0.20), Q4(27.9). WT 10 μ g/ml: Q1(64.5), Q2(4.27), Q3(0.43), Q4(30.8). WT 1 μ g/ml: Q1(70.6), Q2(1.13), Q3(0.20), Q4(28.1). G12C 10 μ g/ml: Q1(13.6), Q2(51.7), Q3(1.61), Q4(33.0). G12C 1 μ g/ml: Q1(19.7), Q2(46.9), Q3(1.67), Q4(31.7).

도 10은, 막 MHC-II 분자를 HLA-DQ, DR 또는 DP에 대한 항체, 또는 HLA-DQ, DR 및 DP 모두에 대한 항체를 사용하여 차단한 후에, KRAS^{G12C} TCR에 의해 형질도입된 T 세포를, KRAS^{G12C} 24-mer 펩티드에 의해 펄스화된, 자기유래 DC, 또는 단일 HLA-DRB15:01 또는 HLA-DRB11:01 대립유전자와 매칭하는 동종이계 DC와 공동-배양 후에, CD3 및 4-1BB를 발현하는 세포의 백분율을 보여주는 그래프이다. WT KRAS 펩티드에 의해 펄스화된 DC와 공동-배양된 형질도입된 세포가 대조군으로서 제공되었다. PMA/ion과 함께 공동-배양된 형질도입된 세포가 추가적 대조군으로

로서 제공되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] RAS 패밀리의 단백질은 소 GTPase의 큰 패밀리에 속한다. 특정 이론 또는 메커니즘에 구속되지 않고, 돌연변이될 때, RAS 단백질이 많은 인간 암의 발암 초기에 신호 전달에 수반될 수 있는 것으로 생각된다. 단일 아미노산 치환은 단백질을 활성화시킬 수 있다. 돌연변이된 RAS 단백질 생성물은 구성적으로 활성화될 수 있다. 돌연변이된 RAS 단백질은 임의의 다양한 인간 암, 예컨대 췌장암(예를 들어, 췌장 암종), 대장암, 폐암(예를 들어, 폐 선암종), 자궁내막암, 난소암(예를 들어, 상피 난소암) 및 전립선암에서 발현될 수 있다. 인간 RAS 패밀리의 단백질은 키르스텐 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(KRAS), 하비 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(HRAS) 및 신경아세포종 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체(NRAS)를 포함한다.
- [0015] 또한, KRAS는 GTPase KRas, V-Ki-Ras2 키르스텐 래트 육종 바이러스 발암유전자 또는 KRAS2로 지칭된다. KRAS의 2개의 전사 변이체가 존재한다: KRAS 변이체 A 및 KRAS 변이체 B. 야생형(WT) KRAS 변이체 A는 서열번호 17의 아미노산 서열을 갖는다. 야생형(WT) KRAS 변이체 B는 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는다. 이후, 달리 명시되지 않는 한, "KRAS"(돌연변이되거나 돌연변이되지 않음(WT))에 대한 언급은 변이체 A 및 변이체 B 둘 모두를 지칭한다. 활성화될 때, 돌연변이된 KRAS는 구아노신-5'-트라이포스페이트(GTP)에 결합하고 GTP를 구아노신 5'-다이포스페이트(GDP)로 전환시킨다.
- [0016] HRAS는 RAS 단백질 패밀리의 또 다른 구성원이다. 또한, HRAS는 하비 래트 육종 바이러스 종양 단백질, V-Ha-Ras 하비 래트 육종 바이러스 발암유전자 동족체 또는 Ras 패밀리의 소 GTP 결합 단백질 H-Ras로 지칭된다. WT HRAS는 서열번호 19의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0017] NRAS는 RAS 단백질 패밀리의 또 다른 구성원이다. 또한, NRAS는 GTPase NRas, V-Ras 신경아세포종 RAS 바이러스 발암유전자 동족체 또는 NRAS1로 지칭된다. WT NRAS는 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0018] 본 발명의 실시양태는 인간 백혈구 항원(HLA) 클래스 II 분자에 의해 제시된 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열(이후, "돌연변이된 RAS")에 대해 항원 특이성을 갖는 단리되거나 정제된 TCR을 제공하되, 상기 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열은 돌연변이된 인간 KRAS, 돌연변이된 인간 HRAS 또는 돌연변이된 인간 NRAS 아미노산 서열이다. 이후, "TCR"의 언급은 또한, 달리 명시되지 않는 한, TCR의 기능성 부분 및 기능적 변이체를 지칭한다.
- [0019] 본 발명의 TCR은 임의의 돌연변이된 인간 RAS 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드 아미노산 서열에 대해 항원 특이성을 가질 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열은 돌연변이된 인간 KRAS 아미노산 서열, 돌연변이된 인간 HRAS 아미노산 서열 또는 돌연변이된 인간 NRAS 아미노산 서열이다. WT 인간 KRAS, NRAS 및 HRAS 단백질의 아미노산 서열은 각각 188 내지 189개의 아미노산 잔기의 길이를 가지며 서로에 대한 높은 동일성을 갖는다. 예를 들어, WT 인간 NRAS 단백질의 아미노산 서열은 WT 인간 KRAS 단백질의 것에 86.8% 동일하다. WT 인간 NRAS 단백질 및 WT 인간 KRAS 단백질의 아미노산 잔기 1 내지 86은 100% 동일하다. WT 인간 HRAS 단백질의 아미노산 서열은 WT 인간 KRAS 단백질의 것에 86.3% 동일하다. WT 인간 HRAS 단백질 및 WT 인간 KRAS 단백질의 아미노산 잔기 1 내지 94는 100% 동일하다. 이후, 달리 명시되지 않는 한, "RAS"(돌연변이되거나 돌연변이되지 않음(WT))의 언급은 일괄하여 KRAS, HRAS 및 NRAS를 지칭한다.
- [0020] 본 발명의 실시양태에서, 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열은 위치 12의 글리신 치환을 갖는 WT RAS 아미노산 서열을 포함하되, 상기 위치 12는 각각 WT RAS 단백질과 관련하여 한정된다. WT RAS 단백질은 WT KRAS 단백질(서열번호 17 또는 18), WT HRAS 단백질(서열번호 19) 또는 WT NRAS 단백질(서열번호 20) 중 임의의 것일 수 있는데, 이는 상기에 설명된 바와 같이, WT 인간 NRAS 단백질 및 WT 인간 KRAS 단백질의 아미노산 잔기 1 내지 86이 100% 동일하고, WT 인간 HRAS 단백질 및 WT 인간 KRAS 단백질의 아미노산 잔기 1 내지 94가 100% 동일하기 때문이다. 따라서, WT KRAS, WT HRAS 및 WT NRAS 단백질 각각의 위치 12의 아미노산 잔기는 동일하다, 즉, 글리신이다.
- [0021] WT RAS 아미노산 서열의 위치 12의 글리신은 글리신 이외의 임의의 아미노산 잔기로 치환될 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 상기 치환은 발린 또는 시스테인에 의한 WT RAS 아미노산 서열의 위치 12의 글리신 치환이다. 이와 관련하여, 본 발명의 실시양태는 G12V 돌연변이 또는 G12C 돌연변이를 갖는 임의의 WT RAS 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드 아미노산 서열에 대해 항원 특이성을 갖는 TCR을 제공한다.
- [0022] RAS의 돌연변이 및 치환은 WT RAS 단백질의 아미노산 서열과 관련하여 본원에서 한정된다. 따라서, RAS의 돌연

변이 및 치환은, WT RAS 단백질의 특정 위치에 존재하는 아미노산 잔기, 뒤이어 위치 번호, 뒤이어 논의 중인 특정 돌연변이 또는 치환에서 잔기를 대체하는 아미노산 잔기와 관련하여 본원에서 기재된다. RAS 아미노산 서열(예를 들어, RAS 펩티드)은 전장 WT RAS 단백질의 모든 아미노산 잔기보다 적은 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 따라서, 위치 12는, RAS 아미노산 서열의 특정 예에서 상응하는 잔기의 실제 위치가 상이할 수 있다는 점을 포함해서, WT 전장 RAS 단백질(즉, 서열번호 17 내지 20 중 어느 하나)과 관련하여 본원에서 한정된다. 위치가 서열번호 17 내지 20 중 어느 하나에 의해 한정되는 경우, 용어 "G12"는 서열번호 17 내지 20 중 어느 하나의 위치 12에 정상적으로 존재하는 글리신을 지칭하고, "G12V"는 서열번호 17 내지 20 중 어느 하나의 위치 12에 정상적으로 존재하는 글리신이 발린으로 대체됨을 나타낸다. 예를 들어, RAS 아미노산 서열의 특정 예는 예를 들어 TEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLI(서열번호 29)(서열번호 17의 연속 아미노산 잔기 2 내지 24에 상응하는 예시적 WT KRAS 펩티드)이고, "G12V"는, 서열번호 29의 밑줄 친 글리신의 실제 위치는 11이더라도, 발린에 의한 서열번호 29의 밑줄 친 글리신의 치환을 지칭한다.

[0023] G12V 또는 G12C 돌연변이를 갖는 전장 RAS 단백질의 예가 하기 표 1에 제공된다.

표 1

[0024]

돌연변이된 전장 RAS 단백질	서열번호
G12V KRAS 변이체 A	21
G12V KRAS 변이체 B	22
G12V HRAS	23
G12V NRAS	24
G12C KRAS 변이체 A	25
G12C KRAS 변이체 B	26
G12C HRAS	27
G12C NRAS	28

[0025]

본 발명의 실시양태에서, TCR은 상기에 기재된 G12V 돌연변이 또는 G12C 돌연변이를 갖는 RAS 펩티드에 대해 항원 특이성을 갖되, 상기 돌연변이된 RAS 펩티드는 임의의 길이를 갖는다. 본 발명의 실시양태에서, 돌연변이된 RAS 펩티드는 본원에 기재된 임의의 HLA 클래스 II 분자에 결합하기에 적합한 임의의 길이를 갖는다. 예를 들어, TCR은 G12V 돌연변이 또는 G12C 돌연변이를 갖는 RAS 펩티드에 대해 항원 특이성을 가질 수 있고, 여기서 상기 RAS 펩티드는 약 11 내지 약 30개의 아미노산 잔기, 약 12 내지 약 24개의 아미노산 잔기 또는 약 18 내지 약 20개의 아미노산 잔기의 길이를 갖는다. 돌연변이된 RAS 펩티드는 G12V 또는 G12C 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 RAS 단백질의 임의의 연속 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, TCR은 G12V 돌연변이 또는 G12C 돌연변이를 갖는 RAS 펩티드에 대해 항원 특이성을 가질 수 있고, 여기서 상기 돌연변이된 RAS 펩티드는 약 30개의 아미노산 잔기, 약 29개의 아미노산 잔기, 약 28개의 아미노산 잔기, 약 27개의 아미노산 잔기, 약 26개의 아미노산 잔기, 약 25개의 아미노산 잔기, 약 24개의 아미노산 잔기, 약 23개의 아미노산 잔기, 약 22개의 아미노산 잔기, 약 21개의 아미노산 잔기, 약 20개의 아미노산 잔기, 약 19개의 아미노산 잔기, 약 18개의 아미노산 잔기, 약 17개의 아미노산 잔기, 약 16개의 아미노산 잔기, 약 15개의 아미노산 잔기, 약 14개의 아미노산 잔기, 약 13개의 아미노산 잔기, 약 12개의 아미노산 잔기, 약 11개의 아미노산 잔기, 전술된 범위 중 임의의 2개 사이의 범위의 길이를 갖는다. 본 발명의 G12V TCR에 의해 인식될 수 있는, 각각 G12V 돌연변이를 갖는 특정 펩티드의 예가 표 9에 제공된다. 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 TCR은 HLA 클래스 II 분자에 의해 제시된 돌연변이된 RAS를 인식할 수 있다. 이와 관련하여, TCR은 HLA 클래스 II 분자 내에서 돌연변이된 RAS에 결합시 면역 반응을 유도할 수 있다. 본 발명의 TCR은 HLA 클래스 II 분자에 의해 제시된 돌연변이된 RAS를 인식할 수 있고, 돌연변이된 RAS 이외에도 HLA 클래스 II 분자에 결합할 수 있다.

[0026]

본 발명의 실시양태에서, HLA 클래스 II 분자는 HLA-DR 분자이다. HLA-DR 분자는 α 쇄 및 β 쇄의 이종 이량체이다. HLA-DR α 쇄는 HLA-DRA 유전자에 의해 암호화될 수 있다. HLA-DR β 쇄는 HLA-DRB1 유전자, HLA-DRB3 유전자, HLA-DRB4 유전자 또는 HLA-DRB5 유전자에 의해 암호화될 수 있다. HLA-DR 분자는 임의의 HLA-DR 분자일 수 있다. HLA-DR 분자의 예는 비제한적으로 HLA-DR1, HLA-DR2, HLA-DR3, HLA-DR4, HLA-DR5, HLA-DR6, HLA-DR7, HLA-DR8, HLA-DR9, HLA-DR10, HLA-DR11, HLA-DR12, HLA-DR13, HLA-DR14, HLA-DR15 및 HLA-DR16을 포함할 수 있다. 바람직하게는, HLA-DR 분자는 HLA-DR7 또는 HLA-DR11이다.

[0027]

본 발명의 실시양태에서, HLA 클래스 II 분자는 HLA-DRB1 분자이다. HLA-DRB1 분자는 임의의 HLA-DRB1 분자일 수 있다. HLA-DRB1 분자의 예는 비제한적으로 HLA-DRB1*01:01, HLA-DRB1*01:02, HLA-DRB1*01:03, HLA-

DRB1*03:01, HLA-DRB1*04:01, HLA-DRB1*04:02, HLA-DRB1*04:03, HLA-DRB1*04:04, HLA-DRB1*04:05, HLA-DRB1*04:07, HLA-DRB1*07:01, HLA-DRB1*08:01, HLA-DRB1*08:03, HLA-DRB1*09:01, HLA-DRB1*10:01, HLA-DRB1*11:01, HLA-DRB1*11:03, HLA-DRB1*11:04, HLA-DRB1*12:01, HLA-DRB1*13:01, HLA-DRB1*13:02, HLA-DRB1*13:03, HLA-DRB1*14:01, HLA-DRB1*15:01, HLA-DRB1*15:02 및 HLA-DRB1*16:01을 포함할 수 있다. 바람직하게는, HLA 클래스 II 분자는 HLA-DRB1*07:01 분자 또는 HLA-DRB1*11:01 분자이다.

[0028] 본 발명의 TCR은, 입양 세포 전송을 위해 사용되는 세포에 의해 발현될 때를 포함하여, 임의의 하나 이상의 다양한 장점을 제공할 수 있다. 돌연변이된 RAS는 암 세포에 의해 발현되며 정상적인 비-암성 세포에 의해서는 발현되지 않는다. 특정 이론 또는 메커니즘에 구속되지 않고, 본 발명의 TCR이 유리하게는, 정상적인 비-암성 세포의 파괴를 최소화시키거나 제거하여 독성을 예를 들어 최소화시키거나 제거하여 감소시키면서, 암 세포의 파괴를 표적화하는 것으로 생각된다. 또한, 본 발명의 TCR은 유리하게는, 다른 유형의 치료, 예컨대 화학요법, 수술 또는 방사선에 반응하지 않는 돌연변이된 RAS-양성 암을 성공적으로 치료하거나 예방할 수 있다. 예를 들어, KRAS G12V 돌연변이는 췌장암 및 대장암 환자의 각각 약 27% 및 약 8%에서 발현되고, KRAS G12C 돌연변이는 폐암 환자의 약 15%에서 발현된다. 또한, 본 발명의 TCR은 돌연변이된 RAS의 매우 강한 인식을 제공할 수 있고, 이는 조작되지 않은 종양 세포(예를 들어, 인터페론(IFN)- γ 에 의해 처리되지 않거나, 돌연변이된 RAS 및 HLA-DRB1*07:01 중 하나 또는 둘 모두를 암호화하는 벡터로 형질감염되지 않거나, 돌연변이된 RAS 및 HLA-DRB1*11:01 중 하나 또는 둘 모두를 암호화하는 벡터로 형질감염되지 않거나, G12V 돌연변이를 갖는 RAS 펩티드에 의해 펄스화되지 않거나, G12C 돌연변이를 갖는 RAS 펩티드에 의해 펄스화되지 않거나, 이들의 조합이 수행되지 않은 종양 세포)를 인식할 수 있는 능력을 제공할 수 있다. 또한, HLA-DRB1*07:01 및 HLA-DRB1*11:01 대립유전자는 미국내 백인 민족 집단 개체의 각각 약 25% 및 약 10.5%에서 발현된다. 따라서, 본 발명의 TCR은 면역요법에 적합한 암 환자의 수를 증가시켜, 다른 MHC 분자에 의해 제시되는 RAS를 인식하는 TCR을 사용하는 면역요법에 적합하지 않을 수 있는, HLA-DRB1*07:01 및 HLA-DRB1*11:01 대립유전자 중 하나 또는 둘 모두를 발현하는 환자를 포함시킬 수 있다.

[0029] 본원에 사용된 용어 "항원 특이성"은, TCR이 높은 결합활성에 의해 돌연변이된 RAS에 특이적으로 결합하고 면역학적으로 이를 인식할 수 있는 것을 의미한다. 예를 들어, (a) 저 농도의 돌연변이된 RAS 펩티드(예를 들어, 약 0.05 내지 약 10 ng/mL, 1 ng/mL, 2 ng/mL, 5 ng/mL, 8 ng/mL, 10 ng/mL 또는 상기 값 중 임의의 2개 값에 의해 한정된 범위)에 의해 펄스화된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포, 또는 (b) 표적 세포가 돌연변이된 RAS를 발현하도록, 돌연변이된 RAS를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열이 도입되는 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포와 함께 공동-배양시, TCR을 발현하는 약 1×10^4 내지 약 1×10^5 개의 T 세포가 적어도 약 200 pg/mL 이상(예를 들어, 200 pg/mL 이상, 300 pg/mL 이상, 400 pg/mL 이상, 500 pg/mL 이상, 600 pg/mL 이상, 700 pg/mL 이상, 1000 pg/mL 이상, 5,000 pg/mL 이상, 7,000 pg/mL 이상, 10,000 pg/mL 이상, 20,000 pg/mL 이상 또는 상기 값 중 임의의 2개 값에 의해 한정된 범위)의 IFN- γ 을 분비하는 경우, TCR은 돌연변이된 RAS에 대해 "항원 특이성"을 갖는 것으로 간주될 수 있다. 또한, 본 발명의 TCR을 발현하는 세포는 고 농도의 돌연변이된 RAS 펩티드에 의해 펄스화된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포와 함께 공동-배양시 IFN- γ 를 분비할 수 있다. HLA 클래스 II 분자는 본원에 기재된 임의의 HLA 클래스 II 분자(예를 들어, HLA-DRB1*07:01 분자 또는 HLA-DRB1*11:01 분자)일 수 있다.

[0030] 대안적으로 또는 부가적으로, TCR을 발현하는 T 세포가, (a) 저 농도의 돌연변이된 RAS 펩티드에 의해 펄스화된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포, 또는 (b) 표적 세포가 돌연변이된 RAS를 발현하도록 돌연변이된 RAS를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열이 도입되는 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포와 함께 공동-배양시, 음성 대조군에 의해 발현된 IFN- γ 의 양과 비교하여, 2배 이상 더 많은 IFN- γ 을 분비하는 경우, TCR은 돌연변이된 RAS에 대해 "항원 특이성"을 갖는 것으로 간주된다. 음성 대조군은 예를 들어(i) (a) 동일 농도의 무관한 펩티드(예를 들어, 돌연변이된 RAS 펩티드와 상이한 서열을 갖는 몇몇 다른 펩티드)에 펄스화된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포, 또는 (b) 표적 세포가 무관한 펩티드를 발현하도록, 무관한 펩티드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열이 도입된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포와 함께 공동-배양된 TCR을 발현하는 T 세포; 또는(ii) (a) 동일 농도의 돌연변이된 RAS 펩티드에 의해 펄스화된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포, 또는 (b) 표적 세포가 돌연변이된 RAS를 발현하도록 돌연변이된 RAS를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열이 도입된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포와 공동-배양된 형질도입되지 않은 T 세포(예를 들어, TCR을 발현하지 않는, PBMC로부터 유도된 것)일 수 있다. 음성 대조군의 표적 세포에 의해 발현된 HLA 클래스 II 분자는, 시험할 T 세포와 공동-배양된 표적 세포에 의해 발현된 HLA 클래스 II 분자와 동일할 수 있다. HLA 클래스 II 분자는 본원에 기재된 임의의 HLA 클래스 II 분자(예를 들어, HLA-

DRB1*07:01 분자 또는 HLA-DRB1*11:01 분자)일 수 있다. IFN- γ 분비는 당분야에 공지된 방법, 예컨대 효소-결합된 면역흡착 분석(ELISA)에 의해 측정될 수 있다.

[0031] 대안적으로 또는 부가적으로, (a) 저 농도의 돌연변이된 RAS 펩티드에 의해 펄스화된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포, 또는 (b) 표적 세포가 돌연변이된 RAS를 발현하도록, 돌연변이된 RAS를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열이 도입된 항원-음성, HLA 클래스 II 분자 양성 표적 세포와 공동-배양시, IFN- γ 를 분비하는 음성 대조군 T 세포의 수와 비교하여 2배 이상 많은 수의 TCR을 발현하는 T 세포가 IFN- γ 를 분비하는 경우, TCR은 돌연변이된 RAS에 대해 "항원 특이성"을 갖는 것으로 간주될 수 있다. HLA 클래스 II 분자, 펩티드의 농도 및 음성 대조군은 본 발명의 다른 양태와 관련하여 본원에 기재된 바와 같을 수 있다. IFN- γ 를 분비하는 세포의 수는 당분야에 공지된 방법, 예컨대 ELISPOT에 의해 측정될 수 있다.

[0032] 대안적으로 또는 부가적으로, 예를 들어 돌연변이된 RAS를 발현하는 표적 세포에 의한 자극 후 유세포 분석에 의해 측정시 TCR을 발현하는 T 세포가 하나 이상의 T 세포 활성화 마커의 발현을 상향조절하는 경우, TCR은 돌연변이된 RAS에 대해 "항원 특이성"을 갖는 것으로 간주될 수 있다. T 세포 활성화 마커의 예는 4-1BB, OX40, CD107a, CD69 및 시토카인(항원 자극시 상향조절됨(예를 들어, 종양 괴사 인자(TNF), 인터류킨(IL)-2 등))을 포함한다.

[0033] 본 발명의 실시양태는 2개의 폴리펩티드(즉, 폴리펩티드 α 체, TCR의 베타(β) 체, TCR의 감마(γ) 체, TCR의 델타(δ) 체 또는 이들의 조합을 포함하는 TCR을 제공한다. 본 발명의 TCR의 폴리펩티드는, TCR이 돌연변이된 RAS에 대해 항원 특이성을 갖는 경우, 임의의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0034] 본 발명의 실시양태에서, TCR은 2개의 폴리펩티드 체를 포함하며, 이들 각각은 TCR의 상보성 결정 영역(CDR)1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함한다. 본 발명의 실시양태에서, TCR은, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1(α 체의 CDR1), 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2(α 체의 CDR2), 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3(α 체의 CDR3)을 포함하는 제1 폴리펩티드 체, 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1(β 체의 CDR1), 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2(β 체의 CDR2), 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3(β 체의 CDR3)을 포함하는 제2 폴리펩티드 체를 포함한다.

[0035] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, TCR은, 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1(α 체의 CDR1), 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2(α 체의 CDR2), 및 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3(α 체의 CDR3)을 포함하는 제1 폴리펩티드 체, 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1(β 체의 CDR1), 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2(β 체의 CDR2), 및 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3(β 체의 CDR3)을 포함하는 제2 폴리펩티드 체를 포함한다.

[0036] 이와 관련하여, 본 발명의 TCR은 서열번호1 내지 12로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 임의의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, TCR은 (a) 서열번호 1 내지 3 모두의 아미노산 서열, (b) 서열번호 4 내지 6 모두의 아미노산 서열, (c) 서열번호 7 내지 9 모두의 아미노산 서열, (d) 서열번호 10 내지 12 모두의 아미노산 서열, (e) 서열번호 1 내지 6 모두의 아미노산 서열 또는 (f) 서열번호 7 내지 12 모두의 아미노산 서열을 포함한다. 특히 바람직한 실시양태에서, TCR은 (i) 서열번호 1 내지 6 모두의 아미노산 서열 또는 (ii) 서열번호 7 내지 12 모두의 아미노산 서열을 포함한다.

[0037] 본 발명의 실시양태에서, TCR은 상기에 제시된 CDR을 포함하는 TCR의 가변 영역의 아미노산 서열을 포함한다. 이와 관련하여, TCR은 서열번호 13의 아미노산 서열(α 체의 가변 영역); 서열번호 14의 아미노산 서열(β 체의 가변 영역); 서열번호 15의 아미노산 서열(α 체의 가변 영역); 서열번호 16의 아미노산 서열(β 체의 가변 영역); 서열번호 13 및 14 둘 모두의 아미노산 서열; 또는 서열번호 15 및 16 둘 모두의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, TCR은 (i) 서열번호 13 및 14 둘 모두의 아미노산 서열 또는 (ii) 서열번호 15 및 16 둘 모두의 아미노산 서열을 포함한다.

[0038] 본 발명의 TCR은 α 체 불변 영역 및 β 체 불변 영역을 추가로 포함할 수 있다. 불변 영역은 임의의 적합한 종, 예컨대 인간 또는 마우스로부터 유래될 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, TCR은 뮤린 α 및 β 체 불변 영역, 또는 인간 α 및 β 체 불변 영역을 추가로 포함한다. TCR 또는 본원에 기재된 TCR의 임의의 성분(예를 들어, 상보성 결정 영역(CDR), 가변 영역, 불변 영역, α 체, 및/또는 β 체)을 언급할 때, 본원에 사용된 용어 "뮤린" 또는 "인간"은, 각각 마우스 또는 인간으로부터 유래된 TCR(또는 이의 성분), 즉, 각각 마우스 T 세포 또는 인간 T 세포로부터 유래되었거나 이에 의해 동시에 발현되는 TCR(또는 이의 성분)을 의미한다.

[0039] 본 발명의 실시양태는 인간 가변 영역 및 뮤린 불변 영역을 포함하는 키메라 TCR을 제공하되, 상기 TCR은 HLA

클래스 II 분자에 의해 제시된 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열에 대해 항원 특이성을 갖는다. 무린 불변 영역은 임의의 하나 이상의 장점을 제공할 수 있다. 예를 들어, 무린 불변 영역은 본 발명의 TCR과 본 발명의 TCR이 도입된 숙주 세포의 내인성 TCR의 미스페어링을 감소시킬 수 있다. 대안적으로 또는 부가적으로, 무린 불변 영역은 인간 불변 영역을 갖는 동일한 TCR과 비교하여 본 발명의 TCR의 발현을 증가시킬 수 있다. 키메라 TCR은 서열번호 32의 아미노산 서열(야생형(WT) 무린 α 체 불변 영역), 서열번호 33의 아미노산 서열(WT 무린 β 체 불변 영역), 또는 서열번호 32 및 33 둘 모두의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 TCR은 서열번호 32 및 33 둘 모두의 아미노산 서열을 포함한다. 키메라 TCR은 본 발명의 다른 양태와 관련하여 본원에 기재된 바와 같은 임의의 CDR 영역과 조합된 본원에 기재된 임의의 무린 불변 영역을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, TCR은 (a) 서열번호 1 내지 3 및 32 모두의 아미노산 서열; (b) 서열번호 4 내지 6 및 33 모두의 아미노산 서열; (c) 서열번호 7 내지 9 및 32 모두의 아미노산 서열; (d) 서열번호 10 내지 12 및 33 모두의 아미노산 서열; (e) 서열번호 1 내지 6, 32 및 33 모두의 아미노산 서열; 또는 (f) 서열번호 7 내지 12, 32 및 33 모두의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 키메라 TCR은 본 발명의 다른 양태와 관련하여 본원에 기재된 임의의 가변 영역과 조합된 본원에 기재된 임의의 무린 불변 영역을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, TCR은 (i) 서열번호 13 및 32 모두의 아미노산 서열; (ii) 서열번호 14 및 33 모두의 아미노산 서열; (iii) 서열번호 15 및 32 모두의 아미노산 서열; (iv) 서열번호 16 및 33 모두의 아미노산 서열; (v) 서열번호 13, 14, 32 및 33 모두의 아미노산 서열; 또는 (vi) 서열번호 15, 16, 32 및 33 모두의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0040] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, TCR은 서열번호 38의 아미노산 서열(WT 무린 불변 영역을 갖는 α 체), 서열번호 39의 아미노산 서열(WT 무린 불변 영역을 갖는 β 체), 서열번호 40의 아미노산 서열(WT 무린 불변 영역을 갖는 α 체), 서열번호 41의 아미노산 서열(WT 무린 불변 영역을 갖는 β 체), 서열번호 38 및 39 모두의 아미노산 서열, 또는 서열번호 40 및 41 모두의 아미노산 서열을 포함한다.

[0041] 본 발명의 실시양태에서, TCR은 가변 영역 및 불변 영역을 포함하는 α 체, 및 가변 영역 및 불변 영역을 포함하는 β 체를 포함한다. 이와 관련하여, TCR은 (a) (i) 서열번호 34의 위치 179의 X가 Thr 또는 Cys이고, (ii) 서열번호 34의 위치 243의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고, (iii) 서열번호 34의 위치 245의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고, (iv) 서열번호 34의 위치 246의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인, 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 α 체; (b) 서열번호 35의 위치 189의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 β 체; (c) (i) 서열번호 36의 위치 180의 X가 Thr 또는 Cys이고, (ii) 서열번호 36의 위치 244의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고, (iii) 서열번호 36의 위치 246의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고, (iv) 서열번호 36의 위치 247의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인, 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 α 체; (d) 서열번호 37의 위치 194의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 β 체; (e) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두; 또는 (f) 상기 (c) 및 (d) 둘 모두를 포함할 수 있다.

[0042] 본 발명의 실시양태에서, TCR은 치환된 불변 영역을 포함한다. 이와 관련하여, TCR은 α 및 β 체 중 하나 또는 둘 모두의 불변 영역에서 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 갖는 본원에 기재된 임의의 TCR의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, TCR은 α 및 β 체 중 하나 또는 둘 모두의 무린 불변 영역에서 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 갖는 무린 불변 영역을 포함한다. 특히 바람직한 실시양태에서, TCR은 α 체의 무린 불변 영역에서 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환 및 β 체의 무린 불변 영역에서 1개의 아미노산 치환을 갖는 무린 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치환된 불변 영역을 포함하는 TCR은 유리하게는, 치환되지 않은 (야생형) 불변 영역을 포함하는 모 TCR과 비교하여, 돌연변이된 RAS⁺ 표적의 증가된 인식, 숙주 세포에 의한 증가된 발현, 내인성 TCR과의 감소된 미스페어링 및 증가된 항종양 활성 중 하나 이상을 제공한다. 일반적으로, TCR α 및 β 체의 무린 불변 영역의 치환된 아미노산 서열(각각 서열번호 30 및 31)은 치환되지 않은 무린 불변 영역 아미노산 서열(각각 서열번호 32 및 33)의 전부 또는 일부에 부합하며, 1, 2, 3 또는 4개의 아미노산 치환을 갖는 서열번호 30은 서열번호 32와 비교되고, 1개의 아미노산 치환을 갖는 서열번호 31은 서열번호 33과 비교된다. 이와 관련하여, 본 발명의 실시양태는 (a) (i) 위치 48의 X가 Thr 또는 Cys이고, (ii) 위치 112의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고, (iii) 위치 114의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고, (iv) 위치 115의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인, 서열번호 30(α 체의 불변 영역)의 아미노산 서열; (b) 위치 57의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 31(β 체의 불변 영역)의 아미노산 서열; 또는 (c) 서열번호 30 및 31 둘 모두의 아미노산 서열을 포함하는 TCR을 제공한다.

본 발명의 실시양태에서, 서열번호 30을 포함하는 TCR은 서열번호 32(α 채의 치환되지 않은 류린 불변 영역)를 포함하지 않는다. 본 발명의 실시양태에서, 서열번호 31을 포함하는 TCR은 서열번호 33(β 채의 치환되지 않은 류린 불변 영역)을 포함하지 않는다.

[0043] 본 발명의 실시양태에서, 치환된 불변 영역은 α 및 β 채 중 하나 또는 둘 모두의 불변 영역에서 시스테인 치환을 포함하여 시스테인-치환된 TCR을 제공한다. α 및 β 채의 대립되는 시스테인은, 치환되지 않은 류린 불변 영역을 포함하는 TCR에 존재하지 않는, 치환된 TCR의 α 및 β 채의 불변 영역을 서로 연결시키는 다이설파이드 결합을 제공한다. 이와 관련하여, TCR은, 서열번호 32의 위치 48의 천연 Thr(Thr48) 및 서열번호 33의 위치 57의 천연 Ser(Ser57) 중 하나 또는 둘 모두가 Cys로 치환될 수 있는 시스테인-치환된 TCR일 수 있다. 바람직하게는, 서열번호 32의 천연 Thr48 및 서열번호 33의 천연 Ser57 둘 모두가 Cys로 치환된다. 시스테인-치환된 TCR 불변 영역 서열의 예는 표 2에 제공된다. 본 발명의 실시양태에서, 시스테인-치환된 TCR은 (i) 서열번호 30, (ii) 서열번호 31 또는 (iii) 서열번호 30 및 31 둘 모두를 포함하되, 서열번호 30 및 31 둘 모두는 표 2에 정의되어 있다. 본 발명의 시스테인-치환된 TCR은 본원에 기재된 임의의 CDR 또는 가변 영역 외에 치환된 불변 영역을 포함할 수 있다.

[0044] 본 발명의 실시양태에서, 시스테인-치환된 키메라 TCR은 전장 알파 채 및 전장 베타 채를 포함한다. 시스테인-치환된 키메라 TCR 알파 채 및 베타 채 서열의 예는 표 2에 제공된다. 본 발명의 실시양태에서, TCR은 (i) 서열번호 34, (ii) 서열번호 35, (iii) 서열번호 36, (iv) 서열번호 37, (v) 서열번호 34 및 35 둘 모두, 또는 (vi) 서열번호 36 및 37 둘 모두를 포함하되, 서열번호 34 내지 37 모두는 표 2에 정의되는 바와 같다.

표 2

[0045]

서열번호	"X"의 정의
서열번호 30 (불변 영역 α 채)	위치 48의 X가 Cys이고, 위치 112의 X가 Ser이고, 위치 114의 X가 Met이고, 위치 115의 X가 Gly이다.
서열번호 31 (불변 영역 β 채)	위치 57의 X가 Cys이다.
서열번호 34 (RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01 α 채)	위치 179의 X가 Cys이고, 위치 243의 X가 Ser이고, 위치 245의 X가 Met이고, 위치 246의 X가 Gly이다.
서열번호 35 (RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01 β 채)	위치 189의 X가 Cys이다.
서열번호 36 (RAS ^{G12C} - HLA-DRB1*11:01 α 채)	위치 180의 X가 Cys이고, 위치 244의 X가 Ser이고, 위치 246의 X가 Met이고, 위치 247의 X가 Gly이다.
서열번호 37 (RAS ^{G12C} - HLA-DRB1*11:01 β 채)	위치 194의 X가 Cys이다.

[0046] 본 발명의 실시양태에서, 치환된 아미노산 서열은 소수성 아미노산에 의한 α 및 β 채 중 하나 또는 둘 모두의 불변 영역의 막관통(TM) 도메인의 1, 2 또는 3개의 아미노산의 치환을 포함하여 소수성 아미노산-치환된 TCR(본원에서 "LVL-변형된 TCR"로도 지칭됨)을 제공한다. TCR의 TM 도메인의 소수성 아미노산 치환은, TM 도메인에서 소수성 아미노산 치환이 없는 TCR과 비교하여, TCR의 TM 도메인의 소수성을 증가시킬 수 있다. 이와 관련하여, TCR은 서열번호 32의 천연 Ser112, Met114 및 Gly115 중 1, 2 또는 3개가 독립적으로 Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp, 바람직하게는 Leu, Ile 또는 Val로 치환될 수 있는 LVL-변형된 TCR이다. 바람직하게는, 서열번호 32의 천연 Ser112, Met114 및 Gly115 셋 모두가 독립적으로 Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp, 바람직하게는 Leu, Ile 또는 Val로 치환될 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, LVL-변형된

TCR은 (i) 서열번호 30, (ii) 서열번호 31, 또는 (iii) 서열번호 30 및 31 둘 모두를 포함하되, 상기 서열번호 30 및 31 둘 모두는 표 3에 정의되는 바와 같다. 본 발명의 LVL-변형된 TCR은 본원에 기재된 임의의 CDR 또는 가변 영역 외에 치환된 불변 영역을 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, LVL-변형된 TCR은 전장 알파 쇄 및 전장 베타 쇄를 포함한다. LVL-변형된 TCR 알파 쇄 및 베타 쇄 서열의 예는 표 3에 제공된다. 본 발명의 실시양태에서, LVL-변형된 TCR은 (i) 서열번호 34, (ii) 서열번호 35, (iii) 서열번호 36, (iv) 서열번호 37, (v) 서열번호 34 및 35 둘 모두, 또는 (vi) 서열번호 36 및 37 둘 모두를 포함하되, 서열번호 34 내지 37 모두는 표 3에 정의되는 바와 같다.

표 3

서열번호	"X"의 정의
서열번호 30 (불변 영역 α 쇄)	<p>위치 48의 X가 Thr이고;</p> <p>위치 112의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 112의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 112의 X가 Leu이고;</p> <p>위치 114의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 114의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 114의 X가 Ile이고;</p> <p>위치 115의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 115의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 115의 X가 Val이고;</p> <p>서열번호 30은 서열번호 32(알파 쇄 쇄 치환되지 않은 불변 영역)를 포함하지 않는다.</p>
서열번호 31 (불변 영역 β 쇄)	<p>위치 57의 X가 Ser이다.</p>
서열번호 34 (RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01 α 쇄)	<p>위치 179의 X가 Thr이고;</p> <p>위치 243의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 243의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 243의 X가 Leu이고;</p> <p>위치 245의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 245의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 245의 X가 Ile이고;</p> <p>위치 246의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 246의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 246의 X가 Val이고;</p> <p>서열번호 34는 서열번호 38(치환되지 않은 알파 쇄)을 포함하지 않는다.</p>
서열번호 35 (RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01 β 쇄)	<p>위치 189의 X가 Ser이다.</p>

서열번호 36 (RAS ^{G12C} - HLA-DRB1*11:01 α쇄)	<p>위치 180의 X가 Thr이고;</p> <p>위치 244의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 244의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 244의 X가 Leu이고;</p> <p>위치 246의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 246의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 246의 X가 Ile이고;</p> <p>위치 247의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 247의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 247의 X가 Val이고;</p> <p>서열번호 36은 서열번호 40(치환되지 않은 알파쇄)을 포함하지 않는다.</p>
서열번호 37 (RAS ^{G12C} - HLA-DRB1*11:01 β쇄)	<p>위치 194의 X가 Ser이다.</p>

[0048]

본 발명의 실시양태에서, 치환된 아미노산 서열은, α 및 β쇄 중 하나 또는 둘 모두의 불변 영역의 막관통(TM) 도메인에서 소수성 아미노산에 의한 1, 2 또는 3개의 아미노산의 치환과 조합된 α 및 β쇄 중 하나 또는 둘 모두의 불변 영역에서 시스테인 치환을 포함한다(본원에서 "시스테인-치환된, LVL-변형된 TCR"로도 지칭됨). 이와 관련하여, TCR은, 서열번호 32의 천연 Thr48이 Cys로 치환되고; 서열번호 32의 천연 Ser112, Met114 및 Gly115 중 1, 2 또는 3개가 독립적으로 Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp, 바람직하게는 Leu, Ile 또는 Val로 치환되고; 서열번호 33의 천연 Ser57이 Cys로 치환된, 시스테인-치환된, LVL-변형된 키메라 TCR이다. 바람직하게는, 서열번호 32의 천연 Ser112, Met114 및 Gly115 셋 모두는 독립적으로 Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp, 바람직하게는 Leu, Ile 또는 Val로 치환될 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 시스테인-치환된, LVL-변형된 TCR은 (i) 서열번호 30, (ii) 서열번호 31, 또는 (iii) 서열번호 30 및 31 둘 모두를 포함하되, 서열번호 30 및 31 둘 모두는 표 4에 정의되는 바와 같다. 본 발명의 시스테인-치환된, LVL-변형된 TCR은 본원에 기재된 임의의 CDR 또는 가변 영역 외에 치환된 불변 영역을 포함할 수 있다. 실시양태에서, 시스테인-치환된, LVL-변형된 TCR은 전장 알파쇄 및 전장 베타쇄를 포함한다. 본 발명의 실시양태에서, 시스테인-치환된, LVL-변형된 TCR은 (i) 서열번호 34, (ii) 서열번호 35, (iii) 서열번호 36, (iv) 서열번호 37, (v) 서열번호 34 및 35 둘 모두, 또는 (vi) 서열번호 36 및 37 둘 모두를 포함하되, 서열번호 34 내지 37 모두는 표 4에 정의되는 바와 같다.

표 4

[0049]

서열번호	"X"의 정의
서열번호 30 (불변 영역 α쇄)	<p>위치 48의 X가 Cys이고;</p> <p>위치 112의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 112의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 112의 X가 Leu이고;</p> <p>위치 114의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 114의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 114의 X가 Ile이고;</p> <p>위치 115의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고;</p> <p>바람직하게는 위치 115의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고;</p> <p>특히 바람직하게는 위치 115의 X가 Val이고;</p> <p>서열번호 30은 위치 112의 Ser, 위치 114의 Met 및 위치 115의 Gly 모두를 일제히 포함하지 않는다.</p>
서열번호 31 (불변 영역 β쇄)	<p>위치 57의 X가 Cys이다.</p>

서열번호 34 (RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01 α쇄)	위치 179의 X가 Cys이고; 위치 243의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고; 바람직하게는 위치 243의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고; 특히 바람직하게는 위치 243의 X가 Leu이고; 위치 245의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고; 바람직하게는 위치 245의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고; 특히 바람직하게는 위치 245의 X가 Ile이고; 위치 246의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고; 바람직하게는 위치 246의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고; 특히 바람직하게는 위치 246의 X가 Val이고; 서열번호 34는 위치 243의 Ser, 위치 245의 Met 및 위치 246의 Gly를 일제히 포함하지 않는다.
서열번호 35 (RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01 β쇄)	위치 189의 X가 Cys이다.
서열번호 36 (RAS ^{G12C} - HLA-DRB1*11:01 α쇄)	위치 180의 X가 Cys이고; 위치 244의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고; 바람직하게는 위치 244의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고; 특히 바람직하게는 위치 244의 X가 Leu이고; 위치 246의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고; 바람직하게는 위치 246의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고; 특히 바람직하게는 위치 246의 X가 Ile이고; 위치 247의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고; 바람직하게는 위치 247의 X가 Leu, Ile 또는 Val이고; 특히 바람직하게는 위치 247의 X가 Val이고; 서열번호 36은 위치 244의 Ser, 위치 246의 Met 및 위치 247의 Gly를 일제히 포함하지 않는다.
서열번호 37 (RAS ^{G12C} - HLA-DRB1*11:01 β쇄)	위치 194의 X가 Cys이다.

[0050] 또한, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 TCR의 기능성 부분을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "폴리펩티드"는 올리고펩티드를 포함하고, 하나 이상의 펩티드 결합에 의해 연결된 아미노산의 단일쇄를 지칭한다. 본 발명의 폴리펩티드와 관련하여, 기능성 부분은 TCR의 연속 아미노산을 포함하는 임의의 부분으로서, 이중 일부가 기능성 부분이 돌연변이된 RAS에 특이적으로 결합한다. TCR과 관련하여 사용될 때 용어 "기능성 부분"은 상기 기능성 부분이 그의 일부인 TCR(또는 TCR)의 생물 활성을 유지하는, 본 발명의 TCR의 임의의 부분 또는 단편을 지칭한다. 기능성 부분은 예를 들어 모 TCR과 비교하여 비슷한 정도, 동일한 정도 또는 높은 정도로 (예를 들어, HLA-DRB1*07:01 분자 또는 HLA-DRB1*11:01 분자 내에서) 돌연변이된 RAS에 특이적으로 결합하거나 암을 검출하거나 치료하거나 예방하는 능력을 보유하는 TCR의 부분을 포함한다. 모 TCR과 관련하여, 기능성 부분은 예를 들어 모 TCR의 약 10%, 약 25%, 약 30%, 약 50%, 약 68%, 약 80%, 약 90%, 약 95% 이상을 포함할 수 있다.

[0051] 기능성 부분은 상기 부분의 아미노 또는 카복시 말단 또는 둘 모두의 말단에서 추가적 아미노산을 포함할 수 있고, 추가적 아미노산은 모 TCR의 아미노산 서열에서 발견되지 않는다. 바람직하게는, 추가적 아미노산은 기능성 부분의 생물학적 기능(예를 들어 돌연변이된 RAS에 특이적으로 결합함; 및/또는 암을 검출하거나 치료하거나 예방하는 능력을 가짐)을 저해하지 않는다. 보다 바람직하게는, 추가적 아미노산은 모 TCR의 생물학적 활성과 비교하여 생물학적 활성을 증진시킨다.

[0052] 폴리펩티드는 본 발명의 TCR의 α 및 β쇄 중 하나 또는 둘 모두의 기능성 부분, 예컨대 본 발명의 TCR의 α쇄 및/또는 β쇄의 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 중 하나 이상을 포함하는 기능성 부분을 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 1의 아미노산 서열(α쇄의 CDR1), 서열번호 2의 아미노산 서

열(α 쇄의 CDR2), 서열번호 3의 아미노산 서열(α 쇄의 CDR3), 서열번호 4의 아미노산 서열(β 쇄의 CDR1), 서열번호 5의 아미노산 서열(β 쇄의 CDR2), 서열번호 6의 아미노산 서열(β 쇄의 CDR3) 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 7의 아미노산 서열(α 쇄의 CDR1), 서열번호 8의 아미노산 서열(α 쇄의 CDR2), 서열번호 9의 아미노산 서열(α 쇄의 CDR3), 서열번호 10의 아미노산 서열(β 쇄의 CDR1), 서열번호 11의 아미노산 서열(β 쇄의 CDR2), 서열번호 12의 아미노산 서열(β 쇄의 CDR3) 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0053] 이와 관련하여, 본 발명의 폴리펩티드는 서열번호 1 내지 12로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 임의의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, TCR은 (a) 서열번호 1 내지 3 모두의 아미노산 서열, (b) 서열번호 4 내지 6 모두의 아미노산 서열, (c) 서열번호 7 내지 9 모두의 아미노산 서열, (d) 서열번호 10 내지 12 모두의 아미노산 서열, (e) 서열번호 1 내지 6 모두의 아미노산 서열 또는 (f) 서열번호 7 내지 12 모두의 아미노산 서열을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드는 (i) 서열번호 1 내지 6 모두의 아미노산 서열 또는 (ii) 서열번호 7 내지 12 모두의 아미노산 서열을 포함한다.

[0054] 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 예를 들어 상기에 제공된 CDR 영역의 조합을 포함하는 본 발명의 TCR의 가변 영역을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 폴리펩티드는 (i) 서열번호 13의 아미노산 서열(α 쇄의 가변 영역), (ii) 서열번호 14의 아미노산 서열(β 쇄의 가변 영역), (iii) 서열번호 13 및 14 둘 모두의 아미노산 서열, (iv) 서열번호 15의 아미노산 서열(α 쇄의 가변 영역), (v) 서열번호 16의 아미노산 서열(β 쇄의 가변 영역), 또는 (vi) 서열번호 15 및 16 둘 모두의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 폴리펩티드는 (i) 서열번호 13 및 14 둘 모두의 아미노산 서열 또는 (ii) 서열번호 15 및 16 둘 모두의 아미노산 서열을 포함한다.

[0055] 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 상기에 제시된 본 발명의 TCR의 불변 영역을 추가로 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 폴리펩티드는 서열번호 32의 아미노산 서열(α 쇄의 WT 뮤린 불변 영역), 서열번호 33의 아미노산 서열(β 쇄의 WT 뮤린 불변 영역), 서열번호 30의 아미노산 서열(α 쇄의 치환된 뮤린 불변 영역), 서열번호 31의 아미노산 서열(β 쇄의 치환된 뮤린 불변 영역), 서열번호 32 및 33 둘 모두의 아미노산 서열, 또는 서열번호 30 및 31 둘 모두의 아미노산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는, 폴리펩티드는, 본 발명의 다른 양태와 관련하여 본원에 기재된 임의의 CDR 영역 또는 가변 영역과 조합된, 서열번호 30 및 31 둘 모두의 아미노산 서열, 또는 서열번호 32 및 33 둘 모두의 아미노산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 폴리펩티드의 서열번호 30 및 31 중 하나 또는 둘 모두는 표 2 내지 4 중 어느 하나에 정의된 바와 같다.

[0056] 본 발명의 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 본원에 기재된 TCR의 α 또는 β 쇄의 전체 길이를 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 폴리펩티드는 서열번호 34, 서열번호 35, 서열번호 36 및 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 폴리펩티드는 본원에 기재된 TCR의 둘 모두의 쇄를 포함할 수 있다.

[0057] 예를 들어, 본 발명의 폴리펩티드는 (a) (i) 서열번호 34의 위치 179의 X가 Thr 또는 Cys이고, (ii) 서열번호 34의 위치 243의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고, (iii) 서열번호 34의 위치 245의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고, (iv) 서열번호 34의 위치 246의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인, 서열번호 34의 아미노산 서열; (b) 서열번호 35의 위치 189의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 35의 아미노산 서열; (c) (i) 서열번호 36의 위치 180의 X가 Thr 또는 Cys이고, (ii) 서열번호 36의 위치 244의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고, (iii) 서열번호 36의 위치 246의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고, (iv) 서열번호 36의 위치 247의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인, 서열번호 36의 아미노산 서열; (d) 서열번호 37의 위치 194의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 37의 아미노산 서열, (e) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두의 아미노산 서열, 또는 (f) 상기 (c) 및 (d) 둘 모두의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 폴리펩티드의 하나 이상의 임의의 서열번호 34 내지 37은 표 2 내지 4 중 어느 하나에 정의된 바와 같다.

[0058] 본 발명은 본원에 기재된 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 추가로 제공한다. "단백질"은 하나 이상의 폴리펩티드 쇄를 포함하는 분자를 의미한다.

[0059] 실시양태에서, 본 발명의 단백질은 (a) 서열번호 1 내지 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄 및 서열번호 4 내지 6의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄; 또는 (b) 서열번호 7 내지 9의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄 및 서열번호 10 내지 12의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포

함할 수 있다.

- [0060] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 단백질은 (i) 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇠 및 서열번호 14의 아미노산 서열의 제2 폴리펩티드 쇠; 또는 (ii) 서열번호 15의 아미노산 서열의 제1 폴리펩티드 쇠 및 서열번호 16의 아미노산 서열의 제2 폴리펩티드 쇠를 포함할 수 있다.
- [0061] 본 발명의 단백질은 본 발명의 다른 양태와 관련하여 본원에 기재된 임의의 불변 영역을 추가로 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇠는 서열번호 30 또는 서열번호 32의 아미노산 서열을 추가로 포함할 수 있고, 제2 폴리펩티드 쇠는 서열번호 31 또는 서열번호 33의 아미노산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 단백질의 서열번호 30 및 31 중 하나 또는 둘 모두는 표 2 내지 4 중 어느 하나에 정의된 바와 같다.
- [0062] 대안적으로 또는 부가적으로, 본 발명의 실시양태의 단백질은 (a) (i) 서열번호 34의 위치 179의 X가 Thr 또는 Cys이고, (ii) 서열번호 34의 위치 243의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고, (iii) 서열번호 34의 위치 245의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고, (iv) 서열번호 34의 위치 246의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인, 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇠; (b) 서열번호 35의 위치 189의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇠; (c) (i) 서열번호 36의 위치 180의 X가 Thr 또는 Cys이고, (ii) 서열번호 36의 위치 244의 X가 Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp이고, (iii) 서열번호 36의 위치 246의 X가 Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 또는 Trp이고, (iv) 서열번호 36의 위치 247의 X가 Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met 또는 Trp인, 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇠; (d) 서열번호 37의 위치 194의 X가 Ser 또는 Cys인, 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇠; (e) 상기 (a) 및 (b) 둘 모두; 또는 (f) 상기 (c) 및 (d) 둘 모두를 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 하나 이상의 서열번호 34 내지 37은 표 2 내지 4 중 어느 하나에 정의된 바와 같다.
- [0063] 본 발명의 단백질은 TCR일 수 있다. 대안적으로, 예를 들어, 단백질이 서열번호 34 및 35 둘 모두 또는 서열번호 36 및 37 둘 모두의 아미노산 서열을 포함하는 단일 폴리펩티드 쇠를 포함하는 경우, 또는 상기 단백질의 제 1 및/또는 제 2 폴리펩티드 쇠가 다른 아미노산 서열, 예를 들어, 면역글로불린 또는 그의 일부를 암호화하는 아미노산 서열을 추가로 포함하는 경우, 본 발명의 단백질은 융합 단백질일 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명은 또한 1개 이상의 다른 폴리펩티드와 함께 본원에 기술된 본 발명의 폴리펩티드를 1개 이상 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 상기 다른 폴리펩티드는 융합 단백질의 별개의 폴리펩티드로서 존재할 수 있거나, 본원에 기술된 본 발명의 폴리펩티드들 중 하나와 인프레임(in frame)으로(나란히) 발현되는 폴리펩티드로서 존재할 수 있다. 다른 폴리펩티드는, 면역글로불린, CD3, CD4, CD8, MHC 분자, CD1 분자, 예를 들어, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d 등을 포함하지만 이로 한정되지는 않는, 임의의 펩티드성 또는 단백질성 분자, 또는 그의 일부를 암호화할 수 있다.
- [0064] 융합 단백질은 본 발명의 폴리펩티드의 1개 이상의 카피 및/또는 다른 폴리펩티드의 1개 이상의 카피를 포함할 수 있다. 예를 들어, 융합 단백질은 본 발명의 폴리펩티드 및/또는 다른 폴리펩티드의 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 카피를 포함할 수 있다. 융합 단백질을 생산하는 적합한 방법은 당분야에 공지되어 있으며, 예를 들어, 재조합 방법을 포함한다.
- [0065] 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 및 단백질은 α 쇠 및 β 쇠를 결합시키는 링커 펩티드를 포함하는 단일 단백질로서 발현될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 및 단백질은 추가로 링커 펩티드를 포함할 수 있다. 링커 펩티드는 유리하게 숙주 세포에서 재조합 TCR, 폴리펩티드 및/또는 단백질의 발현을 촉진할 수 있다. 링커 펩티드는 임의의 적합한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 링커 펩티드는 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 퓨린-SGSG-P2A 링커일 수 있다. 숙주 세포에 의한 링커 펩티드를 포함하는 구축물의 발현시, 링커 펩티드는 절단되어 분리된 α 및 β 쇠를 생성할 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, TCR, 폴리펩티드 또는 단백질은 전장 α 쇠, 전장 β 쇠, 및 상기 α 및 β 쇠 사이에 위치한 링커 펩티드를 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0066] 본 발명의 단백질은 본원에 기술된 본 발명의 폴리펩티드를 1개 이상 포함하는 재조합 항체 또는 그의 항원 결합부일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "재조합 항체"는 본 발명의 폴리펩티드 1개 이상 및 항체 또는 그의 항원 결합부의 폴리펩티드 쇠를 포함하는 재조합(예를 들어, 유전자 조작된) 단백질을 지칭한다. 항체 또는 그의 항원 결합부의 폴리펩티드는 중쇄, 경쇄, 중쇄 또는 경쇄의 가변 영역 또는 불변 영역, 단일쇄 가변 단편(scFv), 또는 항체의 Fc, Fab 또는 F(ab)₂' 단편 등일 수 있다. 항체 또는 그의 항원 결합부의 폴리펩티드

쇄는 재조합 항체의 별개의 폴리펩티드로 존재할 수 있다. 대안적으로, 항체 또는 그의 항원 결합부의 폴리펩티드쇄는 본 발명의 폴리펩티드와 인프레임으로(나란히) 발현되는 폴리펩티드로서 존재할 수 있다. 항체 또는 그의 항원 결합부의 폴리펩티드는, 본원에 기술된 임의의 항체 및 항체 단편들을 포함하여 임의의 항체 또는 임의의 항체 단편의 폴리펩티드일 수 있다.

[0067] 본원에 기재된 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질의 기능적 변이체가 본원의 범위에 포함된다. 본원에 사용된 용어 "기능적 변이체"는 모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질과 실질적이거나 유의미한 서열 동일성 또는 유사성을 갖는 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 지칭하며, 상기 기능적 변이체는 일부가 변이체인 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질의 생물학적 활성을 보유한다. 기능적 변이체는 예를 들어 모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질과 비교하여 비슷한 정도, 동일한 정도 또는 높은 정도로, 돌연변이된 RAS(이에 대해 모 TCR가 항원 특이성 갖거나 이에 모 폴리펩티드 또는 단백질이 결합한다)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는, 본원에 기재된 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질의(모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질)의 변이체를 포함한다. 모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질과 관련하여, 기능적 변이체는 예를 들어 각각 모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질의 아미노산 서열에 적어도 약 30%, 약 50%, 약 75%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 이상 동일할 수 있다.

[0068] 기능적 변이체는 예를 들어 하나 이상의 보존적 아미노산 치환을 갖는 모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 당분야에 공지되어 있고, 물리적 및/또는 화학적 특성을 갖는 하나의 아미노산이 동일한 화학적 또는 물리적 특성을 갖는 또 다른 아미노산으로 교환되는 아미노산 치환을 포함한다. 예를 들어, 보존적 아미노산 치환은 또 다른 산성 아미노산에 의해 치환된 산성 아미노산(예를 들어, Asp 또는 Glu), 비극성 측쇄를 갖는 또 다른 아미노산에 의해 치환된 비극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, Ala, Gly, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val 등), 또 다른 염기성 아미노산에 의해 치환된 염기성 아미노산(Lys, Arg 등), 극성 측쇄를 갖는 또 다른 아미노산에 의해 치환된 극성 측쇄를 갖는 아미노산(Asn, Cys, Gln, Ser, Thr, Tyr 등) 동일할 수 있다.

[0069] 대안적으로 또는 부가적으로, 기능적 변이체는 하나 이상의 비-보존적 아미노산 치환을 갖는 모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이러한 경우에, 비-보존적 아미노산 치환이 기능적 변이체의 생물학적 활성을 저해하거나 억제하지 않는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 비-보존적 아미노산 치환은, 기능적 변이체의 생물학적 활성이 모 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질과 비교하여 증가되도록, 기능적 변이체의 생물학적 활성을 증진시킨다.

[0070] TCR, 폴리펩티드 또는 단백질은, TCR, 폴리펩티드 또는 단백질의 다른 성분, 예를 들어 다른 아미노산이 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질의 생물학적 활성을 실질적으로 변화시키지 않도록, 본원에 기재된 명시된 아미노산 서열로 본질적으로 이루어질 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질은 예를 들어 서열 번호 34, 서열번호 35, 서열번호 36, 서열번호 37, 서열번호 34 및 35 둘 모두, 또는 서열번호 36 및 37 둘 모두의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어질 수 있다. 또한, 예를 들어, 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질은 (i) 서열번호 13의 아미노산 서열, (ii) 서열번호 14의 아미노산 서열, (iii) 서열번호 15의 아미노산 서열, (iv) 서열번호 16의 아미노산 서열, (v) 서열번호 13 및 14 둘 모두의 아미노산 서열, 또는 (vi) 서열번호 15 및 16 둘 모두의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어질 수 있다. 또한, 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질은 (a) 서열번호 1 내지 12 중 임의의 하나 이상의 아미노산 서열; (b) 서열번호 1 내지 3 모두의 아미노산 서열; (c) 서열번호 4 내지 6 모두의 아미노산 서열; (d) 서열번호 7 내지 9 모두의 아미노산 서열; (e) 서열번호 10 내지 12 모두의 아미노산 서열; (f) 서열번호 1 내지 6 모두의 아미노산 서열; 또는 (g) 서열번호 7 내지 12 모두의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어질 수 있다.

[0071] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 및 단백질은 임의의 길이의 것일 수 있다, 즉, 임의의 수의 아미노산을 포함할 수 있고, 상기 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질이 생물학적 활성, 예를 들어 돌연변이된 RAS에 특이적으로 결합하는 능력; 포유동물에서 암을 검출하는 능력; 또는 포유동물에서 암을 치료하거나 예방하는 능력 등을 보유해야 한다. 예를 들어, 폴리펩티드는 약 50 내지 약 5000개의 아미노산 길이 범위, 예컨대 약 50, 약 70, 약 75, 약 100, 약 125, 약 150, 약 175, 약 200, 약 300, 약 400, 약 500, 약 600, 약 700, 약 800, 약 900, 약 1000개 이상의 아미노산 길이를 가질 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 폴리펩티드는 또한 올리고펩티드를 포함한다.

[0072] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 및 단백질은 1개 이상의 천연 아미노산 대신 합성 아미노산을 포함할 수 있다. 상기 합성 아미노산은 당분야에 공지되어 있으며, 예를 들어, 아미노사이클로헥산 카복시산, 노르류신, α-아미노 n-데카노산, 호모세린, S-아세틸아미노메틸-시스테인, 트랜스-3- 및 트랜스-4-하이드록시프롤린, 4-아미노페닐

알라닌, 4-니트로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 4-카복시페닐알라닌, β -페닐세린 β -하이드록시페닐알라닌, 페닐글리신, α -나프틸알라닌, 사이클로헥실알라닌, 사이클로헥실글리신, 인돌린-2-카복시산, 1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-3-카복시산, 아미노말론산, 아미노말론산 모노아미드, N'-벤질-N'-메틸-리신, N',N'-다이벤질-리신, 6-하이드록시리신, 오르니틴, α -아미노사이클로헥탄 카복시산, α -아미노사이클로헥산 카복시산, α -아미노사이클로헥탄 카복시산, α -(2-아미노-2-노르보란)-카복시산, α , γ -다이아미노부티르산, α , β -다이아미노프로피온산, 호모페닐알라닌 및 α -tert-부틸글리신을 포함한다.

[0073] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 및 단백질은 글리코실화되거나, 아미드화되거나, 카복시화되거나, 포스포릴화되거나, 에스터화되거나, N-아실화되거나, 예를 들어, 다이설파이드 가교를 통해 환화되거나, 산 부가염으로 전환되고/되거나 임의적으로 이량체화되거나 중합되거나, 접합될 수 있다.

[0074] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 및/또는 단백질은, 예를 들어, 신생 합성과 같은 당분야에 공지된 방법에 의해 수득될 수 있다. 또한, 폴리펩티드 및 단백질은 표준 재조합 방법을 이용하여 본원에 기술된 핵산을 사용하여 재조합적으로 생산될 수 있다(예를 들어, 문헌[Green and Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2012)] 참조). 또는, 본원에 기재된 TCR, 폴리펩티드 및/또는 단백질은 신크(Synpep)(미국 캘리포니아주 더블린 소재), 펩티드 테크놀로지스 코퍼레이션(Peptide Technologies Corp.)(미국 메릴랜드주 게이터스버그 소재), 및 멀티펩 펩티드 시스템즈(Multiple Peptide Systems)(미국 캘리포니아주 샌디에이고 소재)와 같은 회사들에 의해 상업적으로 합성될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 및 단백질은 합성, 재조합, 단리 및/또는 정제될 수 있다.

[0075] 임의의 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질(이의 임의의 기능성 부분 또는 변이체를 포함한다), 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 숙주 세포 집단, 항체 또는 이의 항원 결합부를 포함하는 접합체, 예를 들어 바이오 접합체가 본 발명의 범위에 포함된다. 접합체, 뿐만 아니라 접합체의 합성 방법이 일반적으로 당분야에 공지되어 있다.

[0076] 본 발명의 한 실시양태는 본원에 기술된 임의의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "핵산"은 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드" 및 "핵산 분자"를 포함하고, 일반적으로 DNA 또는 RNA의 중합체를 의미하며, 상기 DNA 또는 RNA는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고, 천연, 비-천연 또는 변경된 뉴클레오티드를 함유할 수 있고, 변형되지 않은 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오티드들 사이에서 발견되는 포스포다이에스터 대신에 천연, 비-천연 또는 변경된 뉴클레오티드간 결합, 예를 들어, 포스포로아미데이트 결합 또는 포스포로티오에이트 결합을 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 핵산은 상보적 DNA(cDNA)를 포함한다. 일반적으로, 핵산은 임의의 삽입, 결실, 전환 및/또는 치환을 포함하지 않는 것이 바람직하다. 그러나, 일부 경우에서, 본원에서 논의된 바와 같이, 핵산이 1개 이상의 삽입, 결실, 전환 및/또는 치환을 포함하는 것이 적합할 수 있다.

[0077] 바람직하게는, 본 발명의 핵산은 재조합체이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "재조합체"는 (i) 천연 또는 합성 핵산 분절을 살아있는 세포에서 복제될 수 있는 핵산 분자에 연결시킴으로써 살아있는 세포 밖에서 구축되는 분자, 또는 (ii) 상기 (i)에서 기술된 분자의 복제로부터 생산되는 분자를 지칭한다. 본 발명의 목적에 있어서, 복제는 시험관내 복제 또는 생체내 복제일 수 있다.

[0078] 핵산은 당분야에 공지된 절차를 이용하여 화학 합성 및/또는 효소적 접합 반응에 기반하여 구축될 수 있다. 예를 들어, 그린 및 샘브룩 등(Green and Sambrook, et al.)의 상기 문헌을 참조한다. 예를 들어, 핵산은, 천연 뉴클레오티드, 또는 분자의 생물학적 안정성을 증가시키거나 하이브리드화시 생산된 이중체의 물리적 안정성을 증가시키도록 설계된 다양하게 변형된 뉴클레오티드(예를 들어, 포스포로티오에이트 유도체 및 아크리딘 치환된 뉴클레오티드)를 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 상기 핵산을 생산하기 위해 사용될 수 있는 변형된 뉴클레오티드의 예로는 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 5-클로로우라실, 5-요도우라실, 하이포잔틴, 잔틴, 4-아세틸시토신, 5-(카복시하이드록시메틸) 우라실, 5-카복시메틸아미노메틸-2-티오우리딘, 5-카복시메틸아미노메틸우라실, 다이하이드로우라실, 베타-D-갈락토실큐에오신, 이노신, N⁶-이소펜텐일아데닌, 1-메틸구아닌, 1-메틸이노신, 2,2-다이메틸구아닌, 2-메틸아데닌, 2-메틸구아닌, 3-메틸시토신, 5-메틸시토신, N⁶-치환된 아데닌, 7-메틸구아닌, 5-메틸아미노메틸우라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오우라실, 베타-D-만노실큐에오신, 5'-메톡시카복시메틸우라실, 5-메톡시우라실, 2-메틸티오-N⁶-이소펜텐일아데닌, 우라실-5-옥시아세트산(v), 와이부톡소신, 슈도우라실, 큐에오신, 2-티오시토신, 5-메틸-2-티오우라실, 2-티오우라실, 4-티오우라실, 5-메틸우라실, 우라실-5-옥시아세트산 메틸에스터, 3-(3-아미노-3-N-2-카복시프로필) 우라실 및 2,6-다이아미노푸린

이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다. 대안적으로, 본 발명의 1개 이상의 핵산은 마크로몰레큘라 리소시즈(Macromolecular Resources)(미국 콜로라도주 포트콜린스 소재) 및 신테젠(Synthegen)(미국 텍사스주 휴스턴 소재)과 같은 회사에서 구입할 수 있다.

[0079] 핵산은 본원에 기재된 임의의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 암호화하는 임의의 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 실시양태에서, 핵산은 서열번호 42 내지 45 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다(표 5). 본 발명의 실시양태에서, 핵산은 서열번호 42 및 43 둘 모두의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 44 및 45 둘 모두의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

표 5

TCR ID	TCR쇄	뉴클레오티드 서열
RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01	알파 (TRAV13-1)	서열번호 42
	베타 (TRBV20-1)	서열번호 43
RAS ^{G12C} - HLA-DRB1*11:01	알파 (TRAV24)	서열번호 44
	베타 (TRBV12-4)	서열번호 45

[0081] 본 발명의 한 실시양태에서, 핵산은 본원에 기술된 임의의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 암호화하는 코돈-최적화된 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 임의의 특정 이론 또는 메카니즘에 결부되지 않고, 뉴클레오티드 서열의 코돈 최적화는 mRNA 전사체의 번역 효율을 증가시키는 것으로 생각된다. 뉴클레오티드 서열의 코돈 최적화는 천연 코돈을, 동일 아미노산을 암호화하지만 세포내에서 더 용이하게 이용가능한 tRNA에 의해 번역되어 번역 효율을 증가시킬 수 있는 또 다른 코돈으로 치환시키는 것을 포함할 수 있다. 뉴클레오티드 서열의 최적화는 또한 번역을 저해하는 2차 mRNA 구조물을 감소시켜 번역 효율을 증가시킬 수 있다. 본 발명은 또한 본원에 기술된 임의의 핵산의 뉴클레오티드 서열에 상보적인 뉴클레오티드 서열, 또는 엄격한 조건 하에 본원에 기술된 임의의 핵산의 뉴클레오티드 서열에 하이브리드화되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다.

[0082] 엄격한 조건 하에 하이브리드화되는 뉴클레오티드 서열은 바람직하게는 고 엄격성 조건 하에 하이브리드화된다. "고 엄격성 조건"은, 뉴클레오티드 서열이 비-특이적 하이브리드화보다 검출가능하게 더 강한 양으로 표적 서열(본원에 기술된 임의의 핵산의 뉴클레오티드 서열)에 특이적으로 하이브리드화되는 것을 의미한다. 고 엄격성 조건은, 정확한 상보적 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드, 또는 뉴클레오티드 서열과 매치된 몇개의 소영역(예를 들어, 3 내지 10개 염기)을 갖게 된 랜덤 서열로부터의 단지 몇개의 산재된 미스매치만을 함유하는 폴리뉴클레오티드를 식별하는 조건을 포함한다. 상기 상보성을 갖는 소영역은 14 내지 17개 이상 염기의 전장 보체보다 더 용이하게 용융되며, 고 엄격성 하이브리드화로 인해 상기 소영역을 용이하게 식별할 수 있게 된다. 비교적 고 엄격성 조건은, 예를 들어, 약 50℃ 내지 70℃의 온도에서 약 0.02 내지 0.1 M NaCl 또는 등가물에 의해 제공되는 바와 같은 저염 및/또는 고온 조건을 포함한다. 상기 고 엄격성 조건은, 존재하는 경우, 뉴클레오티드 서열과 주형 또는 표적 가닥 사이의 미스매치를 거의 허용하지 않으며, 임의의 본 발명의 TCR의 발현을 검출하는 데 특히 적합하다. 일반적으로, 조건은 증가하는 양의 폼아미드를 첨가함으로써 더 엄격하게 될 수 있는 것으로 인지된다.

[0083] 본 발명은 또한 본원에 기술된 임의의 핵산과 적어도 약 70% 이상, 예를 들어, 약 80%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98% 또는 약 99% 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 이와 관련하여, 핵산은 필수적으로 본원에 기술된 임의의 뉴클레오티드 서열로 이루어질 수 있다.

[0084] 본 발명의 핵산은 재조합 발현 벡터 내에 혼입될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명은 본 발명의 임의의 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 재조합 발현 벡터는 α쇄, β쇄 및 링커 펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0085] 본 발명의 목적에 있어서, 용어 "재조합 발현 벡터"는, 구축물이 mRNA, 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 벡터가 세포 내에서 발현된 mRNA, 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 갖기에 충분한 조건 하에 세포에 접촉하는 경우, 숙주 세포에 의한 mRNA, 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드의 발현

을 허용하는 유전자-변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 구축물을 의미한다. 본 발명의 벡터는 전체로서는 천연이 아니다. 그러나, 상기 벡터의 일부는 천연일 수 있다. 본 발명의 재조합 발현 벡터는, 단일-가닥 또는 이중-가닥이고, 합성되거나 부분적으로 천연 공급원으로부터 수득될 수 있고, 천연, 비-천연 또는 변경된 뉴클레오타이드를 함유할 수 있는, DNA 및 RNA를 포함하지만 이로 한정되지는 않는 임의의 유형의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 재조합 발현 벡터는 천연 뉴클레오타이드간 결합, 비-천연 뉴클레오타이드간 결합, 또는 두 유형 모두의 결합을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 비-천연 또는 변경된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드간 결합은 벡터의 전사 또는 복제를 방해하지 않는다.

[0086] 본 발명의 재조합 발현 벡터는 임의의 적합한 재조합 발현 벡터일 수 있으며, 임의의 적합한 숙주 세포를 형질 전환시키거나 형질감염시키는 데 사용될 수 있다. 적합한 벡터로는 플라스미드 및 바이러스와 같은, 증식 및 팽창성장을 위해 또는 발현을 위해 또는 둘 다를 위해 설계된 벡터가 포함된다. 벡터는 pUC 시리즈(퍼멘타스 라이프 사이언시즈(Fermentas Life Sciences)), pBluescript 시리즈(스트라타진(Stratagene)), 미국 캘리포니아주 라졸라 소재), pET 시리즈(노바젠(Novagen)), 미국 위스콘신주 매디슨 소재), pGEX 시리즈(파마시아 바이오테크(Pharmacia Biotech)), 스웨덴 옉살라 소재), 및 pEX 시리즈(클론테크(Clontech)), 미국 캘리포니아주 팔로 알토 소재)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 박테리오파지 벡터, 예컨대 λGT10, λGT11, λZapII(스트라타진), λEMBL4 및 λNM1149도 또한 사용될 수 있다. 식물 발현 벡터의 예로는 pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 및 pBIN19(클론테크)가 포함된다. 동물 발현 벡터의 예로는 pEUK-C1, pMAM 및 pMAMneo(클론테크)가 포함된다. 바람직하게는, 재조합 발현 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 재조합 발현 벡터는 MSGV1 벡터이다.

[0087] 본 발명의 재조합 발현 벡터는, 예를 들어, 그린 및 샘브룩 등의 상기 문헌에 기술된 표준 재조합 DNA 기술을 이용하여 생산할 수 있다. 원형 또는 선형인 발현 벡터 구축물은 원핵 또는 진핵 숙주 세포에서 기능적인 복제 시스템을 함유하도록 생산될 수 있다. 복제 시스템은, 예를 들어, ColE1, 2μ 플라스미드, λ, SV40, 소 유두종바이러스 등으로부터 유도될 수 있다.

[0088] 바람직하게는, 재조합 발현 벡터는, 적절한 대로, 벡터가 DNA- 또는 RNA-기반인지를 고려하여, 벡터가 그 안에 도입될 숙주 세포의 유형(예를 들어, 세균, 진균, 식물 또는 동물)에 특이적인 조절 서열, 예를 들어, 전사 및 번역 개시 및 종료 코돈을 포함한다.

[0089] 재조합 발현 벡터는 형질전환되거나 형질감염된 숙주 세포의 선별을 가능하게 하는 1개 이상의 마커 유전자를 포함할 수 있다. 마커 유전자는 살생물제 내성, 예를 들어, 항생물질, 중금속 등에 대한 내성, 원형양성을 제공하는 영양요구성 숙주 세포에서의 상보성 등을 포함한다. 본 발명의 발현 벡터에 적합한 마커 유전자는, 예를 들어, 네오마이신/G418 내성 유전자, 하이그로신 내성 유전자, 히스티딘올 내성 유전자, 테트라사이클린 내성 유전자 및 암피실린 내성 유전자를 포함한다.

[0090] 재조합 발현 벡터는, TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에, 또는 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 상보적이거나 상기 서열과 하이브리드화되는 뉴클레오타이드 서열에 작동가능하게 연결된 천연 또는 비-천연 프로모터를 포함할 수 있다. 프로모터의 선별, 예를 들어, 강한 프로모터, 약한 프로모터, 유도성 프로모터, 조직-특이적 프로모터 및 발달-특이적 프로모터의 선별은 전문가의 통상의 기술에 속한다. 유사하게, 뉴클레오타이드 서열과 프로모터의 결합도 또한 전문가의 기술에 속한다. 프로모터는 비-바이러스성 프로모터 또는 바이러스 프로모터, 예를 들어, 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터, SV40 프로모터, RSV 프로모터, 및 묶인 줄기 세포 바이러스의 긴-말단 반복서열에서 발견되는 프로모터일 수 있다.

[0091] 본 발명의 재조합 발현 벡터는 일시적 발현을 위해, 안정한 발현을 위해, 또는 둘 다를 위해 설계될 수 있다. 또한, 재조합 발현 벡터는 구성적 발현을 위해 또는 유도성 발현을 위해 생산될 수 있다.

[0092] 또한, 재조합 발현 벡터는 자살 유전자를 포함하도록 생산될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "자살 유전자"는 자살 유전자를 발현하는 세포가 사멸되게 하는 유전자를 지칭한다. 자살 유전자는, 유전자가 발현되는 세포에 약제, 예를 들어, 약물에 대한 민감성을 제공하고 세포가 약제와 접촉하거나 약제에 노출될 때 세포가 사멸되게 하는 유전자일 수 있다. 자살 유전자는 당분야에 공지되어 있으며, 예를 들어, 단순 헤르페스 바이러스(HSV) 티미딘 키나제(TK) 유전자, 시토신 디아미나제, 푸린 뉴클레오타이드 포스포릴라제, 니트로리덕타제 및 유도성 카스파제 9 유전자 시스템을 포함한다.

[0093] 본 발명의 또 다른 실시양태는 또한 본원에 기술된 임의의 재조합 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "숙주 세포"는 본 발명의 재조합 발현 벡터를 함유할 수 있는 임의의 유형의 세포를 지칭한다. 숙주 세포는 진핵 세포, 예를 들어, 식물, 동물, 진균 또는 조류(algae)일 수 있거나, 원핵 세포, 예를 들어, 세균 또는 원생동물일 수 있다. 숙주 세포는 배양된 세포이거나 1차 세포일 수 있다, 즉 유기체, 예를 들어, 인간으로부터 직접 분리될 수 있다. 숙주 세포는 부착 세포 또는 현탁된 세포, 즉, 현탁액 중에서 성장하는 세포일 수 있다. 적합한 숙주 세포는 당분야에 공지되어 있으며, 예를 들어, DH5 α 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*) 세포, 차이니스 햄스터 난소 세포, 원숭이 VERO 세포, COS 세포, HEK293 세포 등을 포함한다. 재조합 발현 벡터를 증식시키거나 복제할 목적을 위해, 숙주 세포는 바람직하게는 원핵 세포, 예를 들어, DH5 α 세포이다. 재조합 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 생산할 목적을 위해, 숙주 세포는 바람직하게는 포유동물 세포이다. 가장 바람직하게는, 숙주 세포는 인간 세포이다. 숙주 세포는 임의의 세포 유형일 수 있고, 임의의 유형의 조직으로부터 기원할 수 있고, 임의의 발달 단계의 세포일 수 있지만, 숙주 세포는 바람직하게는 말초혈 림프구(PBL) 또는 말초혈 단핵 세포(PBMC)이다. 보다 바람직하게는, 숙주 세포는 T 세포이다.

[0094] 본 발명의 목적에 있어서, T 세포는, 배양된 T 세포, 예를 들어, 1차 T 세포, 또는 배양된 T 세포주, 예를 들어, Jurkat, SupT1 등으로부터의 T 세포, 또는 포유동물로부터 수득된 T 세포와 같은 임의의 T 세포일 수 있다. 포유동물로부터 수득되는 경우, T 세포는 혈액, 골수, 림프절, 흉선 또는 다른 조직 또는 체액을 포함하지만 이로 한정되지는 않는 많은 공급원으로부터 수득될 수 있다. T 세포는 또한 농축되거나 정제될 수 있다. 바람직하게는, T 세포는 인간 T 세포이다. T 세포는 임의의 유형의 T 세포일 수 있으며, CD4⁺/CD8⁺ 이중 양성 T 세포, CD4⁺ 헬퍼 T 세포, 예를 들어, Th₁ 및 Th₂ 세포, CD4⁺ T 세포, CD8⁺ T 세포(예를 들어, 세포독성 T 세포), 종양 침윤 림프구(TIL), 기억 T 세포(예를 들어, 중추 기억 T 세포 및 작동인자 기억 T 세포), 나이브(naive) T 세포 등을 포함하지만 이로 한정되지는 않는, 임의의 발달 단계의 세포일 수 있다.

[0095] 본원에 기재된 숙주 세포를 1개 이상 포함하는 세포 집단도 또한 본 발명에 의해 제공된다. 세포 집단은, 임의의 재조합 발현 벡터를 포함하지 않는 1개 이상의 다른 세포, 예를 들어, 숙주 세포(예를 들어, T 세포), 또는 T 세포 이외의 다른 세포, 예를 들어, B 세포, 대식세포, 호중구, 적혈구, 간 세포, 내피 세포, 상피 세포, 근육 세포, 뇌 세포 등에 더하여, 기술된 임의의 재조합 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함하는 이중 집단일 수 있다. 대안적으로, 세포 집단은 실질적으로, 재조합 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포로 주로 이루어지는(예를 들어, 필수적으로 이루어지는) 동종 집단일 수 있다. 상기 집단은 또한, 집단의 모든 세포가 재조합 발현 벡터를 포함하는 단일 숙주 세포의 클론이어서 집단의 모든 세포가 재조합 발현 벡터를 포함하는, 세포의 클론성 집단일 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 상기 세포 집단은 본원에 기재된 바와 같은 재조합 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함하는 클론성 집단이다.

[0096] 본 발명의 한 실시양태에서, 집단 내 세포의 수는 급속하게 증식될 수 있다. T 세포의 수의 증식은, 예를 들어, 미국 특허 제8,034,334호; 미국 특허 제8,383,099호; 미국 특허출원 공개 제2012/0244133호; 문헌 [Dudley et al., J. Immunother., 26:332-342 (2003)]; 및 [Riddell et al., J. Immunol. Methods, 128:189-201 (1990)]에 기재된 바와 같이 당분야에 공지되어 있는 바와 같은 많은 방법 중 임의의 방법에 의해 달성될 수 있다. 한 실시양태에서, T 세포의 수의 증식은 OKT3 항체, IL-2, 및 피더(feeder) PBMC(예를 들어, 방사선 조사된 동종이계 PBMC)와 함께 T 세포를 배양함으로써 수행된다.

[0097] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 재조합 발현 벡터, 및 숙주 세포(그의 집단 포함)는 분리되고/되거나 정제될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "단리된"은 그의 천연 환경으로부터 제거된 것을 의미한다. 본원에서 사용된 용어 "정제된"은 순도가 증가된 것을 의미하고, 이때 "순도"는 상대적 용어이며 반드시 절대 순도로 이해되는 것은 아니다. 예를 들어, 순도는 적어도 약 50%일 수 있거나, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%보다 클 수 있거나, 약 100%일 수 있다.

[0098] 본 발명의 TCR, 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 재조합 발현 벡터 및 숙주 세포(그의 집단 포함)(이하에서 이들 모두는 총괄하여 "본 발명의 TCR 물질"로 지칭된다)는 약학 조성물과 같은 조성물로 제형화될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명은 본원에 기술된 임의의 TCR, 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 발현 벡터 및 숙주 세포(그의 집단 포함), 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 임의의 본 발명의 TCR 물질을 함유하는 본 발명의 약학 조성물은 1개 초과와 본 발명의 TCR 물질, 예를 들어, 폴리펩티드 및 핵산, 또는 2개 이상의 상이한 TCR을 포함할 수 있다. 대안적으로, 약학 조성물은 또 다른 약학적으로 활성인 약제 또는 약물, 예를 들어, 화학치료제, 예를 들어, 아스파라기나제, 부설판, 카보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 겐시타빈, 하이드록시우레아, 메토트렉세이트, 파클리탁셀, 리톡시마,

빈블라스틴, 빈크리스틴 등과 함께 본 발명의 TCR 물질을 포함할 수 있다.

- [0099] 바람직하게는, 담체는 약학적으로 허용되는 담체이다. 약학 조성물과 관련하여, 담체는 고려 중인 특정한 본 발명의 TCR 물질에 통상적으로 사용되는 임의의 담체일 수 있다. 투여가능한 조성물을 제조하는 방법은 당분야에 숙련된 자에게 공지되어 있거나 명백하며, 예를 들어, 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Ed., Pharmaceutical Press (2012)]에 보다 상세히 기재되어 있다. 약학적으로 허용되는 담체는 사용 조건 하에 해로운 부작용 또는 독성을 갖지 않는 물질인 것이 바람직하다.
- [0100] 담체의 선택은 부분적으로, 특정한 본 발명의 TCR 물질에 의해서뿐 아니라 본 발명의 TCR 물질을 투여하기 위해 사용되는 특정 방법에 의해서 결정될 것이다. 따라서, 본 발명의 약학 조성물의 다양한 적합한 제형이 존재한다. 적합한 제형은 비경구, 피하, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 종양내 또는 복강내 투여를 위한 임의의 제형을 포함할 수 있다. 본 발명의 TCR 물질을 투여하기 위해 1개 초과와 경로의 이용될 수 있으며, 특정한 경우에, 특정한 경로가 또 다른 경로보다 더 즉각적이고 더 효과적인 반응을 제공할 수 있다.
- [0101] 바람직하게는, 본 발명의 TCR 물질은 주사에 의해, 예를 들어, 정맥내로 투여된다. 본 발명의 TCR 물질이 본 발명의 TCR을 발현하는 숙주 세포(또는 그의 집단)인 경우, 주사용의 세포를 위한 약학적으로 허용되는 담체는, 예를 들어, 생리 식염수(수중 약 0.90%(w/v)의 NaCl, 수중 약 300 mOsm/L NaCl, 또는 물 리터 당 약 9.0 g NaCl), 노르모솔(NORMOSOL) R 전해질 용액(애보트(Abbott), 미국 일리노이주 시카고 소재), 플라스마-라이트 A(PLASMA-LYTE A)(박스터(Baxter), 미국 일리노이주 디어필드 소재), 수중 약 5% 덱스트로스, 또는 링거스(Ringer's) 락테이트와 같은 임의의 등장성 담체를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 약학적으로 허용되는 담체는 인간 혈청 알부민으로 보충된다.
- [0102] 본 발명의 목적에 있어서, 투여되는 본 발명의 TCR 물질의 양 또는 용량(예를 들어, 본 발명의 TCR 물질이 1개 이상의 세포인 경우 세포의 수)은, 개체 또는 동물에서 타당한 시간대에 걸쳐, 예를 들어, 치료적 또는 예방적 반응을 수행하기에 충분해야 한다. 예를 들어, 본 발명의 TCR 물질의 용량은, 투여 시간으로부터 약 2시간 이상, 예를 들어, 12 내지 24시간 이상의 기간 동안 암 항원(예를 들어, 돌연변이된 RAS)에 결합하거나, 암을 검출, 치료 또는 예방하기에 충분해야 한다. 특정 실시양태에서, 상기 기간은 훨씬 더 길 수 있다. 용량은, 특정 본 발명의 TCR 물질의 효능 및 동물(예를 들어, 인간)의 병태뿐 아니라, 치료받을 동물(예를 들어, 인간)의 체중에 의해 결정될 것이다.
- [0103] 투여할 용량을 결정하기 위한 많은 분석법이 당분야에 공지되어 있다. 본 발명의 목적에 있어서, 각각에 상이한 용량의 T 세포가 제공되는 일군의 포유동물들 중에서 한 포유동물에게 상기 T 세포의 제공 용량을 투여시 표적 세포가 용해되거나 본 발명의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 발현하는 T 세포에 의해 IFN- γ 가 분비되는 정도를 비교하는 것을 포함하는 분석법을 이용하여 포유동물에게 투여할 출발 용량을 결정할 수 있다. 특정 용량의 투여시 표적 세포가 용해되거나 IFN- γ 가 분비되는 정도는 당분야에 공지된 방법에 의해 분석될 수 있다.
- [0104] 본 발명의 TCR 물질의 용량은 특정한 본 발명의 TCR 물질의 투여에 수반될 수 있는 임의의 불리한 부작용의 존재, 성질 및 정도에 의해 또한 결정될 것이다. 전형적으로, 주치의가, 연령, 체중, 일반 건강상태, 식단, 성별, 투여할 본 발명의 TCR 물질, 투여 경로, 및 치료되는 암의 중증도와 같은 다양한 요인들을 고려하여, 각 개개 환자를 치료하는 본 발명의 TCR 물질의 용량을 결정할 것이다. 본 발명의 TCR 물질이 세포 집단인 실시양태에서, 주입 당 투여되는 세포의 수는, 예를 들어, 약 1×10^6 내지 약 1×10^{12} 세포 이상으로 달라질 수 있다. 특정 실시양태에서, 1×10^6 보다 적은 수의 세포가 투여될 수 있다.
- [0105] 당분야에 통상의 기술을 가진 자라면, 본 발명의 TCR 물질의 치료 또는 예방 효능이 변형을 통해 증가되도록, 본 발명의 TCR 물질이 많은 방법으로 변형될 수 있음을 쉽게 인지할 것이다. 예를 들어, 본 발명의 TCR 물질은 직접적으로 또는 가교를 통해 간접적으로 화학치료제에 접합될 수 있다. 화합물을 화학치료제에 접합시키는 실험은 당분야에 공지되어 있다. 당분야에 통상의 기술을 가진 자라면, 본 발명의 TCR 물질의 기능에 필수적이지 않은, 본 발명의 TCR 물질상의 부위가 가교 및/또는 화학치료제를 부착시키기에 적합한 부위이지만, 상기 가교 및/또는 화학치료제는 본 발명의 TCR 물질에 일단 부착되면 본 발명의 TCR 물질의 기능, 즉, 돌연변이된 RAS에 결합하거나 암을 검출, 치료 또는 예방하는 능력을 저해하지 않아야 함을 인지할 것이다.
- [0106] 본 발명의 약학 조성물, TCR, 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 제조합 발현 벡터, 숙주 세포, 또는 세포 집단은 암을 치료하거나 예방하는 방법에 사용될 수 있는 것으로 생각된다. 특정 이론에 결부되지 않고, 본 발명의 TCR은 돌연변이된 RAS에 특이적으로 결합하여, TCR(또는 관련된 본 발명의 폴리펩티드 또는 단백질)이 세포에 의해 발현될 때 돌연변이된 RAS를 발현하는 표적 세포에 대한 면역 반응을 매개할 수 있는 것으로 생각된다. 이와 관

련하여, 본 발명은, 본원에 기재된 임의의 약학 조성물, TCR, 폴리펩티드 또는 단백질, 본원에 기술된 임의의 TCR, 폴리펩티드, 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 임의의 핵산 또는 재조합 발현 벡터, 또는 본원에 기술된 임의의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 암호화하는 재조합 벡터를 포함하는 임의의 숙주 세포 또는 세포 집단을, 포유동물에서 암을 치료하거나 예방하기에 효과적인 양으로 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물에서 암을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다.

[0107] 본 발명의 한 실시양태는, 포유동물에서 암의 치료 또는 예방에 사용하기 위한, 본원에 기술된 임의의 약학 조성물, TCR, 폴리펩티드 또는 단백질, 본원에 기술된 임의의 TCR, 폴리펩티드, 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 임의의 핵산 또는 재조합 발현 벡터, 또는 본원에 기술된 임의의 TCR, 폴리펩티드 또는 단백질을 암호화하는 재조합 벡터를 포함하는 임의의 숙주 세포 또는 세포 집단을 제공한다.

[0108] 용어 "치료하다" 및 "예방하다"뿐만 아니라 그로부터 파생된 단어들은, 본원에서 사용되는 바와 같이, 반드시 100% 또는 완전한 치료 또는 예방을 의미하지는 않는다. 더 정확히 말하면, 당분야에 통상의 기술의 가진 자기유래 잠재적인 이점 또는 치료 효과를 갖는 것으로 인지하는 다양한 정도의 치료 또는 예방이 존재한다. 이와 관련하여, 본 발명의 방법은 포유동물에서 암의 다양한 임의 수준의 치료 또는 예방을 제공할 수 있다. 또한, 본 발명의 방법에 의해 제공되는 치료 또는 예방은 치료하거나 예방할 암의 하나 이상의 병태 또는 증상의 치료 또는 예방을 포함할 수 있다. 예를 들어, 치료 또는 예방은 종양의 관해를 촉진하는 것을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 목적에 있어서, "예방"은 암, 또는 그의 증상 또는 병태의 개시를 지연시키는 것을 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 부가적으로, "예방"은 암, 또는 그의 증상 또는 병태의 재발을 예방하거나 지연시키는 것을 포함할 수 있다.

[0109] 포유동물에서 암의 존재를 검출하는 방법도 또한 제공된다. 상기 방법은 (i) 포유동물로부터의 1개 이상의 세포를 포함하는 샘플을 본원에 기술된 임의의 본 발명의 TCR, 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 세포 집단, 또는 약학 조성물에 접촉시킴으로써 복합체를 생산하는 단계, 및 상기 복합체를 검출하는 단계를 포함하며, 이때 상기 복합체의 검출은 포유동물에서 암의 존재를 나타낸다.

[0110] 포유동물에서 암을 검출하는 본 발명의 방법과 관련하여, 세포의 샘플은 전세포(whole cell), 그의 용해물, 또는 전세포 용해물의 분획, 예를 들어, 핵 또는 세포질 분획, 전체 단백질 분획 또는 핵산 분획을 포함하는 샘플일 수 있다.

[0111] 본 발명의 검출 방법에 있어서, 접촉은 포유동물과 관련하여 시험관내에서 또는 생체내에서 일어날 수 있다. 바람직하게는, 접촉은 시험관내 접촉이다.

[0112] 또한, 상기 복합체의 검출은 당분야에 공지되어 있는 다양한 방법을 통해 일어날 수 있다. 예를 들어, 본원에 기술된 본 발명의 TCR, 폴리펩티드, 단백질, 핵산, 재조합 발현 벡터, 숙주 세포, 또는 세포 집단은, 예를 들어, 방사성 동위원소, 형광단(예를 들어, 플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC), 피코에리트린(PE)), 효소(예를 들어, 알칼리성 포스파타제, 양고추냉이 퍼옥시다제) 및 원소 입자(예를 들어, 금 입자)와 같은 검출가능한 표지로 표지될 수 있다.

[0113] 본 발명의 방법에 있어서, 숙주 세포 또는 세포 집단이 투여되는 경우, 상기 세포는 포유동물에 동종이게 또는 자기유래성인 세포일 수 있다. 바람직하게는, 상기 세포는 포유동물에 자기유래성이다.

[0114] 본 발명의 방법과 관련하여, 암은, 급성 림프구성 암, 급성 골수성 백혈병, 포상형문근육종, 뼈암, 뇌암, 유방암, 항문, 항문관 또는 항문직장의 암, 눈의 암, 간내 담관의 암, 관절의 암, 목, 담낭 또는 흉막의 암, 코, 비강 또는 중이의 암, 구강암, 질암, 외음부암, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 암, 결장암, 대장암, 자궁내막암, 식도암, 자궁경부암, 위장 유암종, 신경교종, 호지킨(Hodgkin) 림프종, 하인두암, 콩팥암, 후두암, 간암, 폐암, 악성 중피종, 흑색종, 다발성 골수종, 비인두암, 비-호지킨 림프종, 구강인두암, 난소암, 음경암, 췌장암, 복막, 대망 및 장간막 암, 인두암, 전립선암, 직장암, 신장암, 피부암, 소장암, 연조직암, 위암, 고환암, 갑상선암, 자궁암, 요관암 및 방광암 중 임의의 암을 포함한 임의의 암일 수 있다. 바람직한 암은 췌장암, 대장암, 폐암, 자궁내막암, 난소암 또는 전립선암이다. 바람직하게는, 폐암은 폐 선암종이고, 난소암은 상피 난소암이고, 췌장암은 췌장 선암종이다. 본 발명의 실시양태에서, 암은 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열을 발현하되, 상기 돌연변이된 인간 RAS 아미노산 서열은 돌연변이된 인간 KRAS, 돌연변이된 인간 HRAS 또는 돌연변이된 인간 NRAS 아미노산 서열이다. 암에 의해 발현된 돌연변이된 인간 KRAS, 돌연변이된 인간 HRAS 및 돌연변이된 인간 NRAS는 본 발명의 다른 양태에 관해 본원에 기재된 바와 같을 수 있다.

[0115] 본 발명의 방법에서 언급된 포유동물은 임의의 포유동물일 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "포유동

물"은 마우스 및 햄스터와 같은 설치목의 포유동물 및 토끼와 같은 중치목의 포유동물을 포함하지만 이로 한정되지는 않는 임의의 포유동물을 지칭한다. 포유동물은 고양이과(고양이) 및 개과(개)를 포함한 식육목의 포유동물인 것이 바람직하다. 포유동물은 소과(소) 및 돼지과(돼지)를 포함한 우제목 또는 말과(말)를 포함한 기제목의 포유동물인 것이 보다 바람직하다. 포유동물은 영장목, 세보이드(Ceboid) 또는 시모이드(Simoid)(원숭이), 또는 진원류목(인간 및 유인원)의 포유동물인 것이 가장 바람직하다. 특히 바람직한 포유동물은 인간이다.

[0116] 하기의 실시예는 본 발명을 추가로 예시하지만, 어떤 식으로도 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 이해해서는 안됨은 물론이다.

[0117] **실시예 1**

[0118] 본 실시예는, HLA-DRB1*07:01 분자에 의해 제시된 G12V 돌연변이를 갖는 인간 KRAS에 대해 항원 특이성을 갖는 TCR의 단리를 나타낸다.

[0119] HLA-DRB1*07:01 분자에 의해 제시된 G12V 돌연변이를 갖는 인간 KRAS에 대해 항원 특이성을 갖는 TCR을 환자의 자궁내막 종양 샘플로부터 단리하였다. 간략히, 종양 샘플을 갈고 절단하고 동결시켰다. 세포 분류 전에, 종양 절단물을 해동하고 밤새 시토카인의 부재 하에 휴지시켰다. T 세포를 FACS를 사용하여 PD-1 및/또는 OX40 발현(P1⁻(살아있는 세포) 상에 게이팅됨 > CD3⁺)을 기준으로 종양 절단물로부터 분류하였다. FACS 결과를 도 1에 나타냈다. 동형에 대해 염색된 세포가 대조군으로서 제공되었다.

[0120] 분류된 세포의 수를 급속 확장 프로토콜(REP)에 따라 3.5주 동안 확장시켰다. REP에서, T 세포를 마이크로티터 96-웰 플레이트(3 세포/웰)에서 OKT3 항체, IL-2 및 조사된 동종이계 PBMC의 존재 하에 배양하였다.

[0121] 확장된 수의 세포를 풀링하고, 환자의 종양에서 검출된 다양한 종양-특이적 돌연변이를 포함하는, 풀링된 25-mer 펩티드 또는 25-mer 탠덤 꼬마유전자(TMG)에 의해 암호화되는 펩티드에 의해 펄스화된 자기유래 수지상 세포(DC)에 대한 반응성을 시험하였다. 각각의 풀은 17 내지 21개의 펩티드 또는 TMG를 각각 함유하였다. 인터페론-감마(IFN- γ) 분비를 효소-결합된 면역점(ELISPOT)에 의해 측정하였다. 결과를 도 2에 나타냈다. 도 2에 나타난 바와 같이, 배양물 번호 7 및 8의 풀링된 효과기 자기유래 T 세포는 펩티드 풀 1(PP1) 및 펩티드 풀 2(PP2)에 의해 펄스화된 표적 DC를 인식하였다.

[0122] 돌연변이-반응성 T 세포 배양물을 관련된 펩티드 풀의 각각의 단일 펩티드에 의해 펄스화된 자기유래 DC에 대해 시험하였다. 도 3은, 자기유래 T 세포 배양물 번호 7(W7)을 펩티드 풀 1(PP1)의 각각의 펩티드 1 내지 17(P1 내지 P17)에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 공동-배양시 수득된 결과를 보여준다. 도 3에 나타난 바와 같이, 배양물 번호 7의 T 세포는 펩티드 P17에 대한 높은 특이성을 나타냈다. 펩티드 17(P17)은 KRAS^{G12V} 돌연변이를 암호화한다.

[0123] 전체 RNA를 자기유래 T 세포 배양물 번호 7(W7)의 세포로부터 단리하였다. 이어서, 전체 RNA를, TCR-알파 및 -베타 채 불변 프라이머를 사용하여, 5' 상보적 DNA 단부의 급속 증폭(5' RACE)을 수행시켰다. 이어서, TCR PCR 생성물을 표준 아가로스 겔 전기영동 및 겔 추출에 의해 단리하였다. 생성물을 직접 서열결정하였다. TCR 알파 및 베타 채 가변 영역의 뉴클레오타이드 서열은 각각 서열번호 42 및 43이었다. TCR 알파 및 베타 채 가변 영역의 아미노산 서열을 표 6에 나타냈다. 상보성 결정 영역(CDR)을 밑줄 쳤다.

표 6

[0124]

TCR ID	TCR 채	아미노산 서열
KRAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01		상보성 결정 영역(CDR)을 밑줄 쳤다.
	알파 (TRAV13-1)	MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKGPO LIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLSHITETQPEDSAVYFCAASTGGGNKLTFGTGTQLK VEL
		(서열번호 13)
	베타 (TRBV20-1)	MLLLLLLLGPAGSGLGAVVSQHPSRVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWRQFPKQSLMLMAT SNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSAREGAGGMGTQYFGPGTR LLVL
		(서열번호 14)

[0125] **실시예 2**본 실시예는, 실시예 1에서 단리된 TCR이 HLA-DR 분자에 의해 제시된 KRAS G12V 펩티드 항원을 인식함을 입증한다.

[0126] 실시예 1의 단리된 G12V-반응성 TCR(서열번호 42 및 서열번호 43의 뉴클레오타이드 서열을 포함함)을 암호화하고 시스테인 치환된, LVL-변형된 뮤린 불변 영역을 포함하는 핵산 서열을 레트로바이러스 발현 벡터 내로 클로닝하였다. α쇄 뮤린 불변 영역은, 위치 48의 X가 Cys이고, 위치 112의 X가 Leu이고, 위치 114의 X가 Ile이고, 위치 115의 X가 Val인 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하였다. β쇄 불변 영역은, 위치 57의 X가 Cys인 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하였다. 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 링커는 α쇄 불변 영역과 β쇄 가변 영역 사이에 위치하였다. 동종이계 T 세포에 레트로바이러스 발현 벡터를 형질도입시켰다.

[0127] 형질도입된 세포(효과기 세포)를, HLA-차단 항체 W6/32(항-HLA-A, -B, -C), IVA12(pan-특이적, 항-HLA 클래스 II), B7/21(항-HLA-DP), HB55(항-HLA-DR) 또는 SPV-L3(HLA-DQ)(표적 세포)의 존재 하에 KRAS^{G12V} 펩티드(1 ng/mL)에 의해 펄스화된 표적 자기유래 항원 제시 세포(APC)와 공동-배양하였다. 단독으로, 또는 DMSO 또는 포르볼 미리스테이트 아세테이트(PMA)와 함께 배양된 효과기 형질도입된 세포가 대조군으로서 제공되었다. 1 ng/mL KRAS G12V 펩티드(서열번호 53)에 의해 펄스화된 표적 자기유래 APC와 함께 공동-배양된 빈 벡터(모크)에 의해 형질도입된 효과기 세포가 또 다른 대조군으로서 제공되었다.

[0128] 표적 세포에 대한 효과기 세포의 반응성을 유세포 분석에 의해 검출된 4-1BB 발현(CD3+ mTCR 벡터+ 세포에 대해 게이팅됨)에 의해 측정하였다. 결과를 도 4에 나타냈다. 도 4에 나타낸 바와 같이, IVA12 및 HB55 항체는 표적 세포에 대한 효과기 세포의 반응성을 차단하였고, 이는 형질도입된 효과기 세포가 HLA-DR 분자에 의해 제시된 KRAS G12V 펩티드 항원을 인식하였음을 나타낸다.

[0129] 실시예 3

[0130] 본 실시예는, 실시예 2의 TCR이 HLA-DRB1*07:01 분자에 의해 제시된 KRAS G12V 펩티드 항원을 인식함을 입증한다.

[0131] 실시예 2의 TCR에 의해 형질도입된 동종이계 T 세포(효과기 세포)를 실시예 1의 환자에 자기유래성인 APC, 또는 DRB1 01:01 또는 DRB1 07:01 일배체형(표적 세포)을 갖는 공여자로부터의 APC와 함께 공동-배양하였다. 표적 세포를 KRAS^{G12V} 펩티드(서열번호 53) 또는 WT KRAS 펩티드(서열번호 55)에 의해 펄스화하였다. 효과기 세포를 대조군으로서 HLA-DRB1 양성 공여자(공여자의 대립유전자 중 모두가 아닌 하나만이 DRB1*07:01이다)("DRB 미스매치")로부터의 APC와 함께 공동-배양하였다. 단독으로, 또는 DMSO 또는 PMA-이오노마이신과 함께 배양된 효과기 세포를 추가적 대조군으로서 제공하였다. IFN-γ 분비를 ELISPOT에 의해 측정하였다. 양성 웰의 수를 계수하였다. 결과를 표 7 및 도 5에 나타냈다. 표 7에서, "TNTC"는 "헤아리기에 너무 많음"을 의미한다. 4-1BB를 발현하는 mTCR-발현 세포의 백분율을 또한 유세포 분석에 의해 측정하였다. 결과를 도 5에 나타냈다. 결과는, TCR가 HLA-DRB1*07:01에 의해 제시된 돌연변이된 KRAS에 대해 특이적으로 반응성임을 보여준다.

표 7

[0132]

	자기유래 (환자 4148)	DRB1 01:01 공여자	DRB1 07:01 공여자	HLA-DRB1 미스매치 공여자
KRAS WT	약 (~) 354	2	~291	58
KRAS G12V	TNTC	27	TNTC	41
DMSO	102	2	123	~180
세포 단독	12	3	1	1
OKT3	~1122	~1019	~1007	~983

[0133] **실시예 4**본 실시예는, HLA-DRB1*11:01 분자에 의해 제시된 G12C 돌연변이를 갖는 인간 KRAS에 대해 항원 특이성을 갖는 TCR의 단리를 나타낸다.

[0134] KRAS^{G12C} 반응성 TCR을, KRAS^{G12C}-발현 종양을 갖는 난소암 환자로부터의 말초혈 T 세포 서브세트의 반복된 시험관 내 감각(IVS)을 사용하여 식별하였다.

[0135] 자기유래 DC를 G12C 돌연변이된 펩티드(서열번호 56)에 의해 펄스화하고 분류된 T 세포 서브세트와 함께 10일

동안 공동-배양한 후에, 반응성을 실시예 1에 기재된 바와 같이 시험하였다.

[0136] 반응성 세포를 추가로 농축하기 위해, KRAS 돌연변이된 펩티드에 대한 반응성 분획을 4-1BB/OX40 발현을 기준으로 분류하고 돌연변이된 펩티드로 다시 자극하였다. 반응성 T 세포를 4-1BB/OX40 발현을 기준으로 분류하고 서열결정하였다.

[0137] 전체 RNA를 세포로부터 분리하였다. 이어서, 전체 RNA를, TCR-알파 및 -베타 채 불변 프라이머를 사용하여 5' 상보적 DNA 단부의 급속 증폭(5' RACE)을 수행시켰다. 이어서, TCR PCR 생성물을 표준 아가로스 겔 전기영동 및 겔 추출에 의해 분리하였다. 생성물을 직접 서열결정하였다. TCR 알파 및 베타 채 가변 영역의 뉴클레오티드 서열은 각각 서열번호 44 및 45였다. TCR 알파 및 베타 채 가변 영역의 아미노산 서열을 표 8에 나타냈다. 상보성 결정 영역(CDR)을 밑줄 쳤다.

표 8

[0138]

TCR ID	TCR 채	아미노산 서열 상보성 결정 영역(CDR)을 밑줄 쳤다.
KRAS ^{G12C} - HLA- DRB1*11:01	알파 (TRAV24)	MEKNPLAAPLL ILWFHLDVCSS ILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRWETA KSPEALFVMTLNGDEKKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLCAFTTGNOQFYFGTGT SLTVIP (서열번호 15)
	베타 (TRBV12-4)	MGSWTLCCVSLC ILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHDYLFWYRQTMMRGLE LLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSSYGGYSNQPHF GDGTRLSILED (서열번호 16)

[0139] 실시예 5본 실시예는 실시예 4에서 분리된 TCR이 HLA-DR 분자에 의해 제시된 KRAS G12C 펩티드 항원을 인식함을 입증한다.

[0140] 실시예 4의 분리된 G12C-반응성 TCR(서열번호 44 및 서열번호 45의 뉴클레오티드 서열을 포함함)을 암호화하고 시스테인 치환된, LVL-변형된 뮤린 불변 영역을 포함하는 핵산 서열을 레트로바이러스 발현 벡터 내로 클로닝하였다. α 채 뮤린 불변 영역은, 위치 48의 X가 Cys이고, 위치 112의 X가 Leu이고, 위치 114의 X가 Ile이고, 위치 115의 X가 Val인, 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하였다. β 채 불변 영역은, 위치 57의 X가 Cys인 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하였다. 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 링커는 α 채 불변 영역과 β 채 가변 영역 사이에 위치하였다. 동종이계 T 세포를 레트로바이러스 발현 벡터에 의해 형질도입시켰다.

[0141] 형질도입된 세포(효과기 세포)를, HLA-DQ, HLA-DR 또는 HLA-DP에 대한 항체, 또는 HLA-DP, HLA-DR 및 HLA-DQ 모두에 대한 pan-특이적 항체를 사용하여 막 MHC 클래스 II 분자를 차단한 후에, KRAS^{G12C} 24-mer 펩티드(서열번호 56)에 의해 펄스화된, 표적 자기유래 DC, 또는 단일 HLA-DRB15:01 또는 HLA-DRB11:01 대립유전자와 매칭하는 동종이계 DC와 함께 공동-배양하였다. 포르볼 미리스테이트 아세테이트(PMA) 또는 WT KRAS(서열번호 55)와 함께 배양된 효과기 형질도입된 세포를 대조군으로서 제공하였다.

[0142] 표적 세포에 대한 효과기 세포의 반응성을 유세포 분석에 의해 검출된 4-1BB 발현(CD3+ mTCR 베타 채+ 세포 상에 게이팅됨)에 의해 측정하였다. 결과를 도 10에 나타냈다. 도 10에 나타낸 바와 같이, TCR은 HLA-DRB*11:01에 의해 제시된 KRAS^{G12C}에 대해 특이적으로 반응성이다.

실시예 6

[0144] 본 실시예는 실시예 5의 KRAS^{G12C} TCR에 의해 형질도입된 PBMC가 KRAS^{G12C} 펩티드에 의해 펄스화된 자기유래 DC를 인식함을 입증한다.

[0145] 동종이계 T 세포를 실시예 5의 KRAS^{G12C} TCR을 암호화하는 MSGV-1-레트로바이러스에 의해 유전자 조작하였다. 자기유래 DC에 WT KRAS(서열번호 55) 또는 KRAS^{G12C} 펩티드(서열번호 56)를 적재하고 TCR 형질도입된 세포와 함께 18시간 동안 공동-배양한 후에, 4-1BB 상향조절에 대해 유세포 분석하였다. 결과를 도 9에 나타냈다. 도 9

에 나타난 바와 같이, 실시예 5의 KRAS^{G12C} TCR에 의해 형질도입된 PBMC는 KRAS^{G12C} 펩티드에 의해 펄스화된 자기 유래 DC를 인식하였다.

[0146] 실시예 7

본 실시예는, KRAS G12V 돌연변이된 단백질이 DC에 의해 처리되고 제시되고 실시예 2의 TCR에 의해 인식됨을 입증한다.

실시예 2의 G12V-DRB1*07:01에 의해 형질도입된 동종이계 T 세포를 하기 KRAS G12 돌연변이 중 하나를 발현하는 종양 세포주의 세포 용해물에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 밤새 공동-배양하였다: G12R, G12C, G12D 또는 G12V. WT KRAS를 발현하는 종양 세포주의 세포 용해물에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 공동-배양된 형질도입된 세포를 대조군으로서 제공하였다. 단독으로, 또는 PMA 또는 DMSO와 함께 배양된 형질도입된 세포를 추가적 대조군으로서 제공하였다. 4-1BB 및/또는 OX40를 상향조절하는 세포의 백분율을 유세포 분석에 의해 측정하였다. IFN γ 를 발현하는 세포의 수(2×10^4 세포 당 점)를 ELISPOT에 의해 측정하였다. 결과를 도 6에 나타냈다. 도 6에 나타난 바와 같이, KRAS G12V 돌연변이된 단백질은 DC에 의해 처리되고 제시되고, 실시예 2의 TCR에 의해 인식된다.

[0149] 실시예 8

본 실시예는, 실시예 2의 G12V-DRB1*07:01 TCR에 의해 형질도입된 세포가 KRAS^{G12V} 펩티드를 특이적으로 인식함을 입증한다.

실시예 2의 G12V-DRB1*07:01 TCR에 의해 형질도입된 동종이계 T 세포를 다양한 농도의 24-mer 펩티드 KRAS^{G12V} (서열번호 53) 또는 WT KRAS(서열번호 55)에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 밤새 공동-배양하였다. mTCR β +CD8+4-1BB+ 세포의 백분율을 유세포 분석에 의해 측정하였다. 결과를 도 7에 의해 나타냈다. 도 7에 나타난 바와 같이, 실시예 2의 G12V-DRB1*07:01 TCR에 의해 형질도입된 세포는 KRAS^{G12V} 펩티드를 특이적으로 인식하였다.

[0152] 실시예 9

실시예 2의 G12V-DRB1*07:01 TCR에 의해 형질도입된 세포는 다양한 KRAS^{G12V} 펩티드를 특이적으로 인식한다.

실시예 2의 G12V-DRB1*07:01 TCR에 의해 형질도입된 동종이계 T 세포를 하기 표 9에 나열된 다양한 농도의 펩티드에 의해 펄스화된 자기유래 DC와 함께 밤새 공동-배양하였다. IFN γ 분비를 ELISPOT에 의해 측정하였다. 결과를 도 8에 나타냈다. 도 8에 나타난 바와 같이, 실시예 2의 G12V-DRB1*07:01 TCR에 의해 형질도입된 세포는 KRAS^{G12V} 펩티드 모두를 특이적으로 인식한 반면에, 서열번호 52가 최선이었다.

표 9

명칭	서열	서열번호
KRAS G12V 11mer	LVVVGAVGVGK	46
KRAS G12V 12mer_1	KLVVVGAVGVGK	47
KRAS G12V 12mer_2	LVVVGAVGVGKS	48
KRAS G12V 13mer_1	YKLVVVGAVGVGK	49
KRAS G12V 13mer_2	KLVVVGAVGVGKS	50
KRAS G12V 13mer_3	LVVVGAVGVGKSA	51
KRAS G12V 15mer_3	EYKLVVVGAVGVGKS	52
KRAS G12V 24mer	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLI	53

본원에 인용된 공개공보, 특허출원 및 특허를 포함하여 모든 참조문헌은, 각각의 참조문헌이 참고로 도입된 것으로 개별적으로 및 구체적으로 지적되고 본원에 전체적으로 나타난 바와 동일한 정도로 본원에 참고로 도입된다. 본 발명에 있어서(특히 하기 특허청구범위에 있어서) 단수형 용어, "적어도 하나" 및 유사한 지시대상들의 사용은, 본원에서 달리 나타내지 않거나 문맥상 명백하게 모순되지 않는 한, 단수형 및 복수형 둘 다를 포함하는 것으로 이해해야 한다. 하나 이상의 대상들의 목록이 뒤따르는 용어 "적어도 하나"의 사용(예를 들어, "적어도 하나의 A 및 B")은, 본원에서 달리 나타내지 않거나 문맥상 명백하게 모순되지 않는 한, 열거된 대상들로

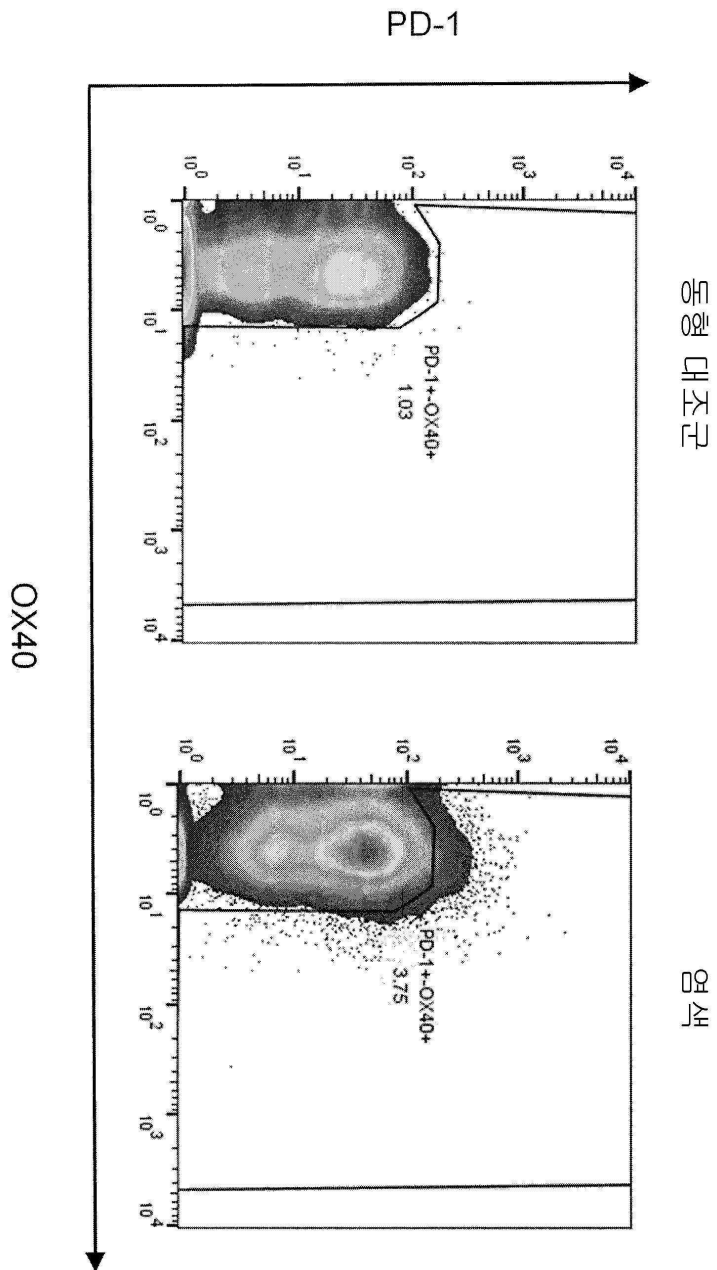
부터 선택된 하나의 대상(A 또는 B) 또는 열거된 대상 2개 이상의 임의의 조합(A 및 B)을 의미하는 것으로 이해해야 한다. 용어 "포함하는", "갖는", "포괄하는" 및 "함유하는"은, 달리 언급되지 않는 한, 제약을 두지 않는 (open-ended) 용어(즉, "포함하지만, 그로 한정되지는 않는"을 의미)로서 이해해야 한다. 본원에서 값들의 범위의 인용은, 본원에서 달리 나타내지 않는 한, 단지 그 범위내에 속하는 각각의 별개의 값을 개별적으로 언급하는 약칭 방법으로서 이용되는 것뿐이며, 각각의 별개의 값은 본원에서 개별적으로 인용되는 것처럼 명세서에 도입된다. 본원에 기술된 모든 방법들은 본원에서 달리 나타내지 않거나 문맥상 명백하게 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 모든 예, 또는 예시적 용어(예를 들어, "예컨대")의 사용은 단지 본 발명을 더 잘 예시하기 위한 것이며 달리 주장되지 않는 한 본 발명의 범위에 제한을 두는 것이 아니다. 명세서의 어떤 용어도 임의의 비-청구된 요소를 본 발명의 실시예 필수적인 것으로 지시하는 것으로 이해해서는 안된다.

[0157]

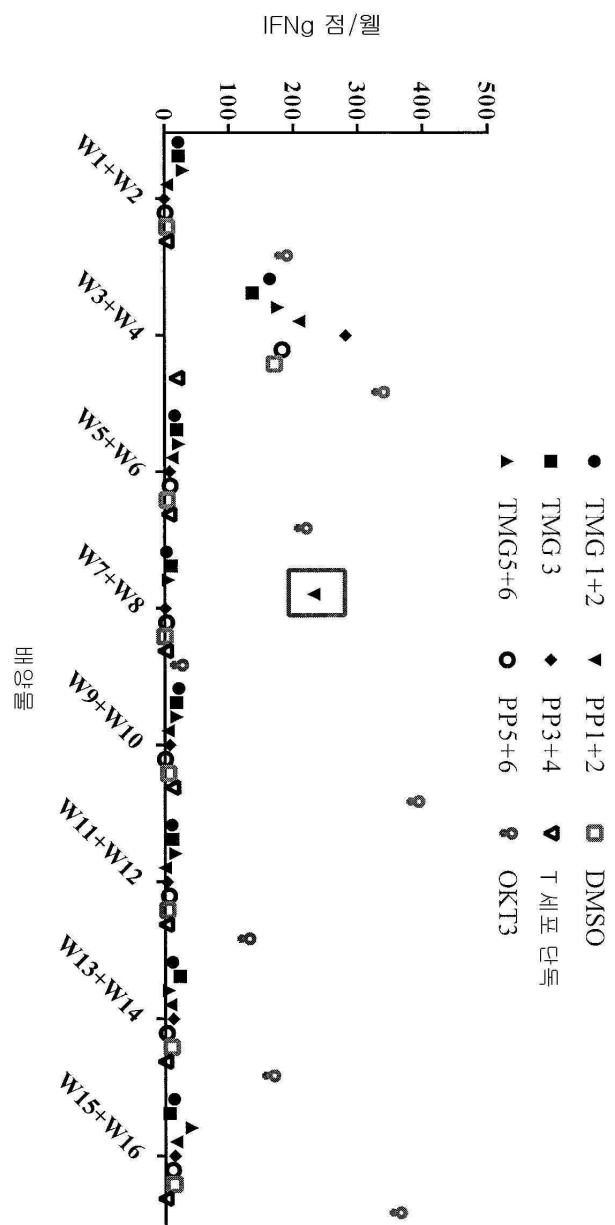
본 발명을 실시하기 위해 본 발명자들에게 공지된 가장 우수한 방식을 포함하여 본 발명의 바람직한 실시양태들이 본원에 기술되어 있다. 상기 바람직한 실시양태의 변화이 상기 설명을 읽을 때 당분야에 통상의 기술을 가진 자들에게 명백해질 수 있다. 본 발명자들은 숙련된 전문가들이 상기 변화를 적절하게 이용할 것으로 예상하며, 본 발명자들은 본 발명이 본원에 구체적으로 기술된 바와 달리 실시될 것을 바란다. 따라서, 본 발명은 준거법에 의해 허용될 때 본원에 첨부된 특허청구범위에 인용된 대상의 모든 변형 및 등가물을 포함한다. 또한, 본원에서 달리 나타내지 않거나 문맥상 명백하게 모순되지 않는 한, 모든 가능한 변화안에서 전술한 요소들의 임의의 조합이 본 발명에 포함된다.

도면

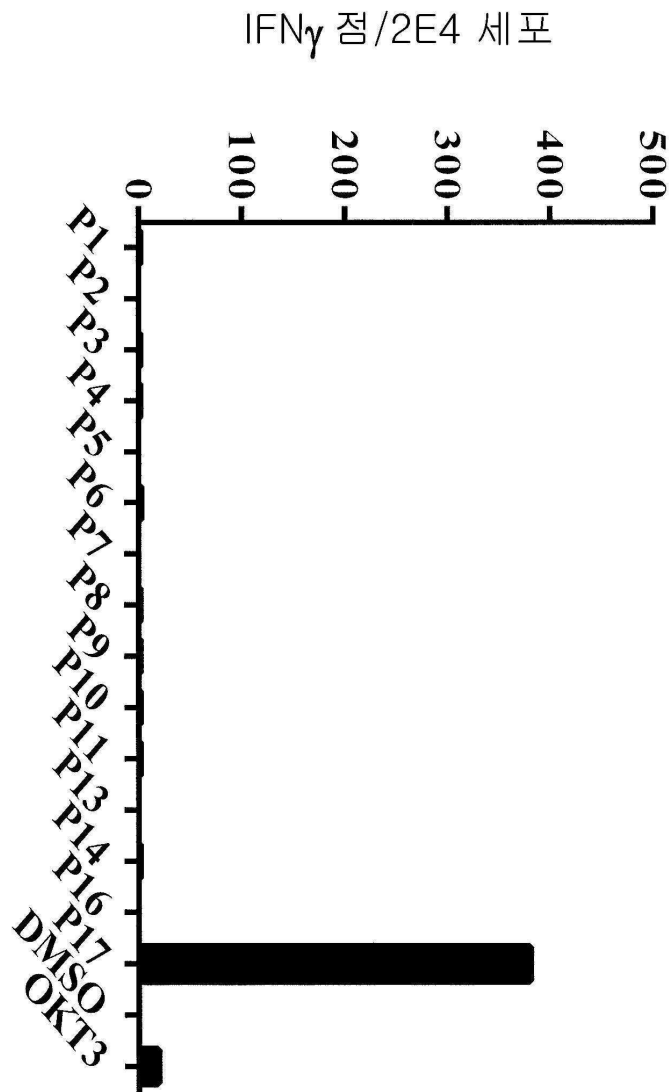
도면1



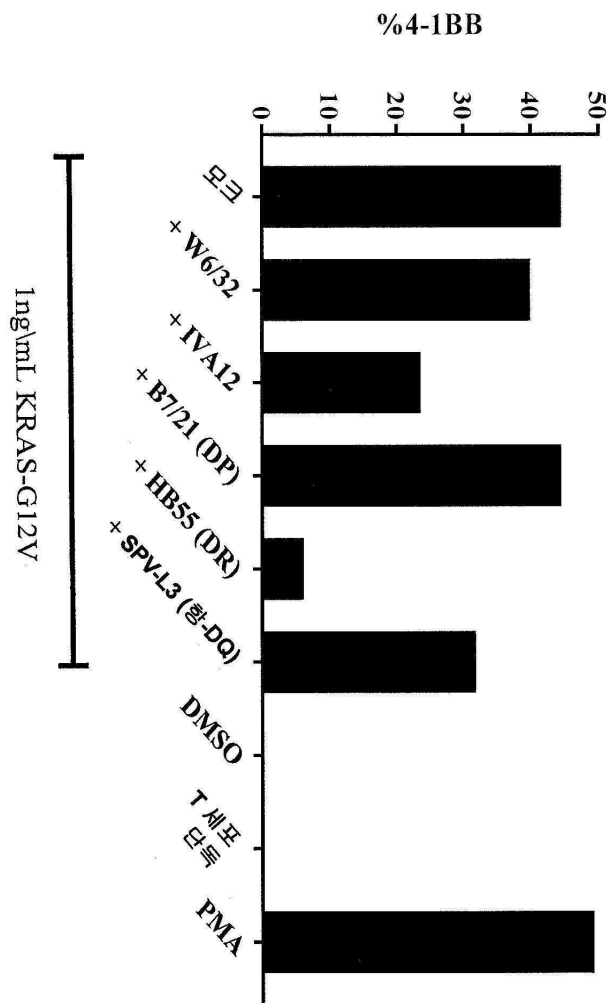
도면2



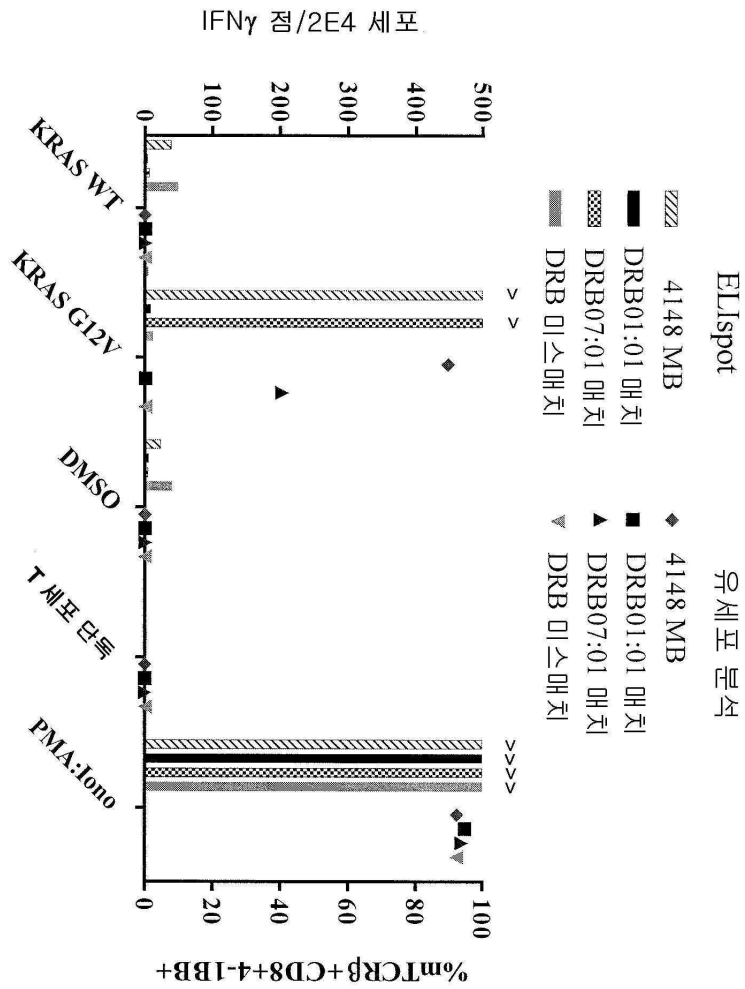
도면3



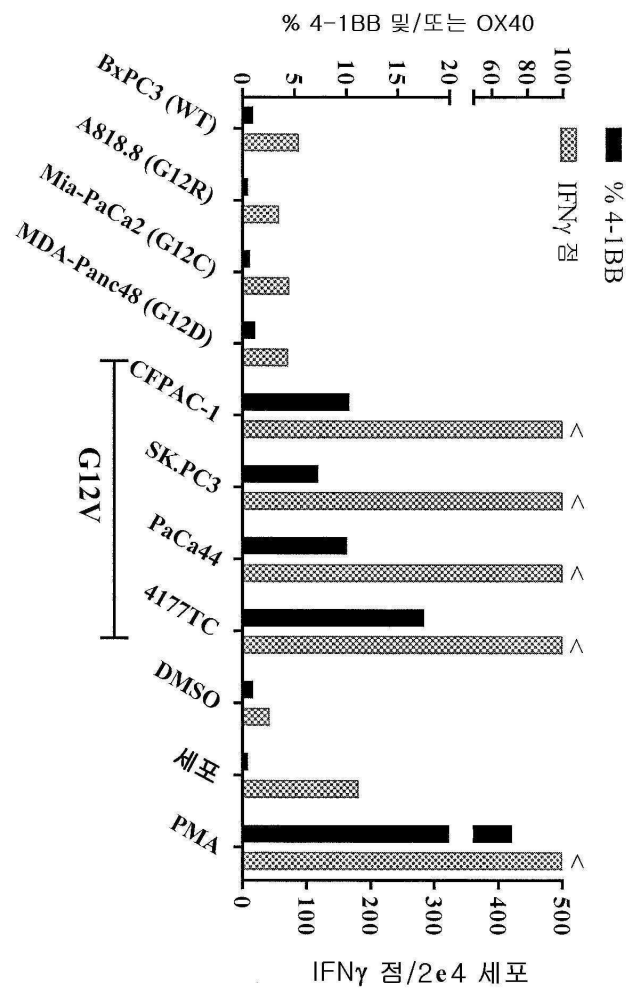
도면4



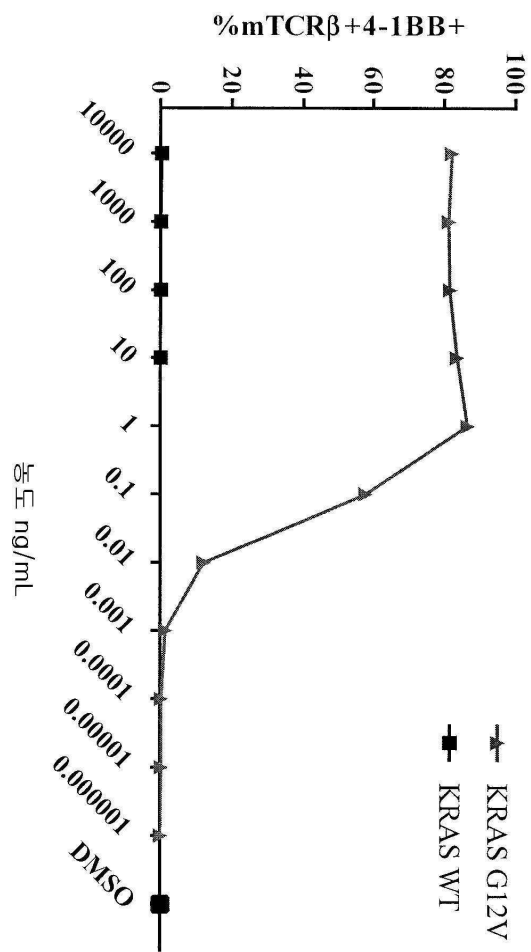
도면5



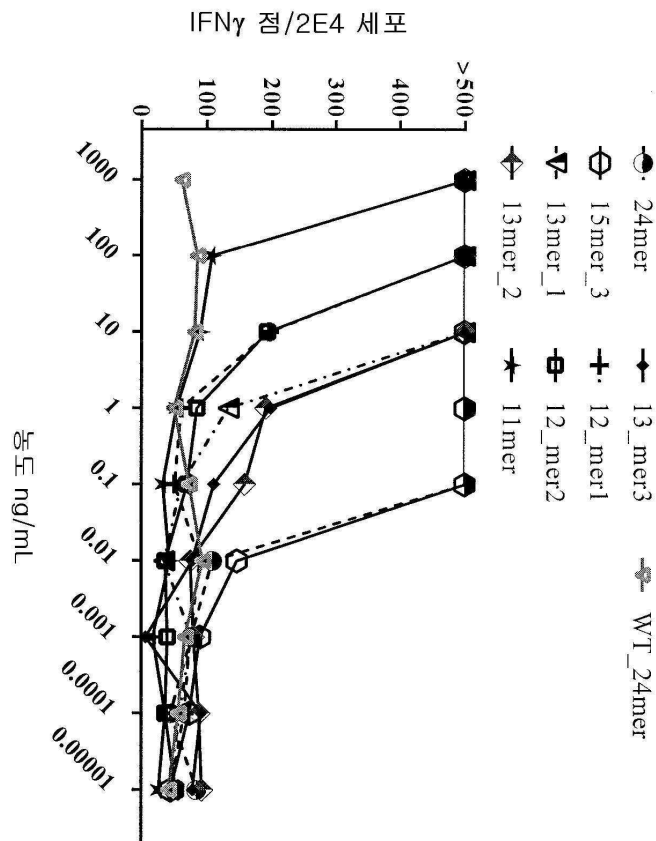
도면6



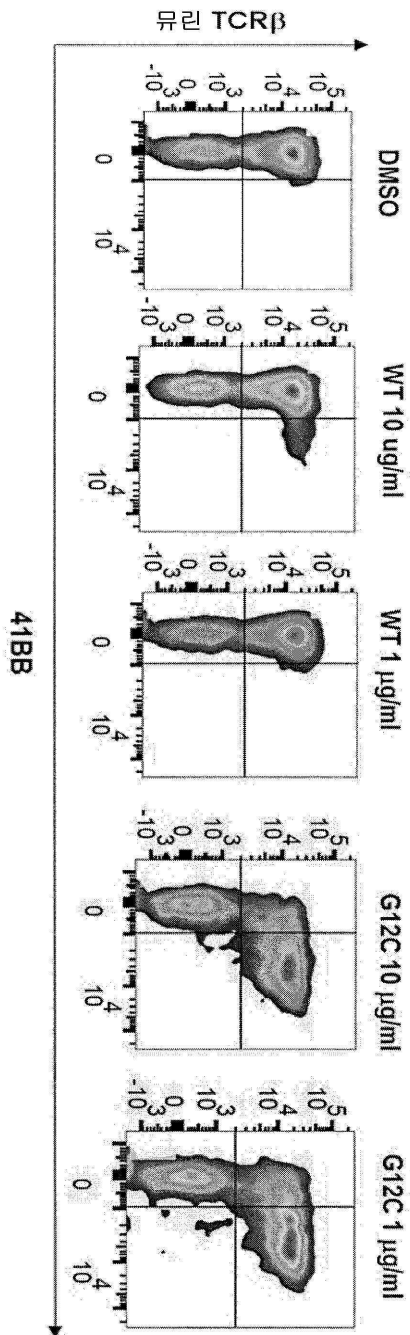
도면7



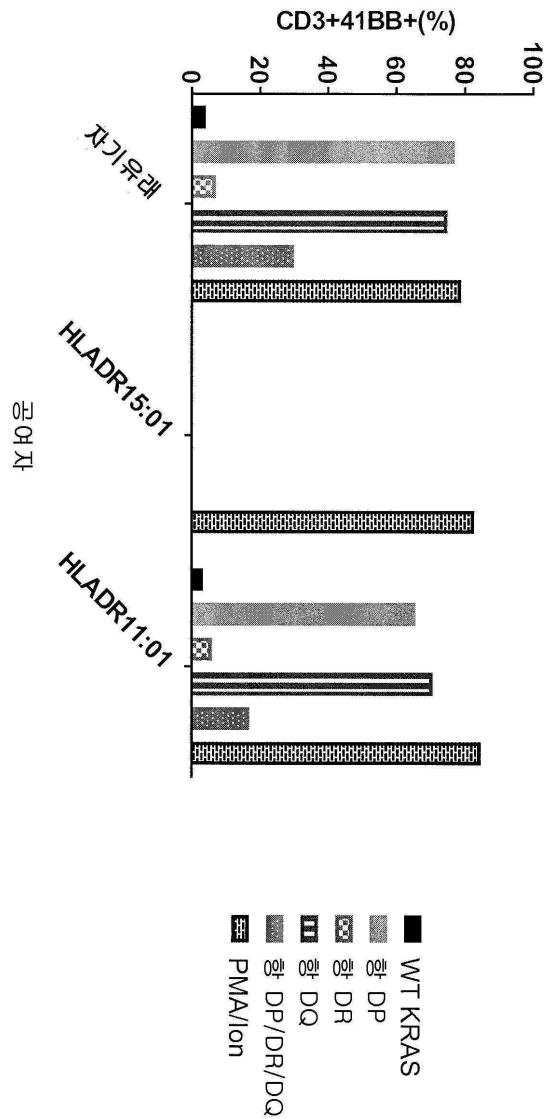
도면8



도면9



도면10



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE
SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
- <120> HLA CLASS II-RESTRICTED T CELL RECEPTORS AGAINST MUTATED RAS
- <130> 739664
- <140> PCT/US2018/051641
- <141> 2018-09-19
- <150> US 62/560,930
- <151> 2017-09-20
- <160> 56

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Asp Ser Ala Ser Asn Tyr

1 5

<210> 2

<211> 7

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu

1 5

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

1 5 10

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Asp Phe Gln Ala Thr Thr

1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala

1 5

<210> 6

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Cys Ser Ala Arg Glu Gly Ala Gly Gly Met Gly Thr Gln Tyr Phe

1 5 10 15

<210> 7

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala

1 5

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu

1 5

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Cys Ala Phe Thr Thr Gly Asn Gln Phe Tyr Phe

1 5 10

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Ser Gly His Asp Tyr Leu

1 5

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Phe Asn Asn Asn Val Pro

1 5

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Cys Ala Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Asn Gln Pro Gln His Phe

1 5 10 15

<210> 13

<211> 131

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Thr Ser Ile Arg Ala Val Phe Ile Phe Leu Trp Leu Gln Leu Asp

1 5 10 15

Leu Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val

20 25 30

Gln Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala

35 40 45

Ser Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln

50 55 60

Leu Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg

65 70 75 80

Ile Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile

85 90 95
 Thr Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Ser
 100 105 110
 Thr Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys

115 120 125
 Val Glu Leu
 130

<210> 14
 <211> 132
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 14

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

Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr
 50 55 60
 Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp
 65 70 75 80
 Lys Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val
 85 90 95
 Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Arg
 100 105 110

Glu Gly Ala Gly Gly Met Gly Thr Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg
 115 120 125
 Leu Leu Val Leu
 130

<210> 15
 <211> 132

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Glu Lys Asn Pro Leu Ala Ala Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His

1 5 10 15

Leu Asp Cys Val Ser Ser Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys

50 55 60

Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys

100 105 110

Ala Phe Thr Thr Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu

115 120 125

Thr Val Ile Pro

130

<210> 16

<211> 137

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Met Gly Gln Glu Val Thr Leu Arg Cys Lys Pro Ile Ser Gly His

35 40 45

Asp Tyr Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Thr Met Met Arg Gly Leu Glu Leu
 50 55 60
 Leu Ile Tyr Phe Asn Asn Asn Val Pro Ile Asp Asp Ser Gly Met Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Arg Phe Ser Ala Lys Met Pro Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu
 85 90 95

 Lys Ile Gln Pro Ser Glu Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala
 100 105 110
 Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Asn Gln Pro Gln His Phe Gly Asp
 115 120 125
 Gly Thr Arg Leu Ser Ile Leu Glu Asp
 130 135
 <210> 17
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 17
 Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys
 1 5 10 15

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

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

115 120 125
 Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
 130 135 140

 Ser Ala Lys Thr Arg Gln Arg Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
 145 150 155 160
 Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Leu Lys Lys Ile Ser Lys Glu Glu Lys
 165 170 175
 Thr Pro Gly Cys Val Lys Ile Lys Lys Cys Ile Ile Met
 180 185
 <210> 18
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 18
 Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys
 1 5 10 15

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

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

130 135 140
 Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Asp Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
 145 150 155 160
 Arg Glu Ile Arg Lys His Lys Glu Lys Met Ser Lys Asp Gly Lys Lys
 165 170 175
 Lys Lys Lys Lys Ser Lys Thr Lys Cys Val Ile Met
 180 185
 <210> 19
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 19
 Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys
 1 5 10 15

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

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

 Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val

145 150 155 160
Arg Glu Ile Arg Gln His Lys Leu Arg Lys Leu Asn Pro Pro Asp Glu

 165 170 175
Ser Gly Pro Gly Cys Met Ser Cys Lys Cys Val Leu Ser

 180 185

<210> 20

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

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

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr

 20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly

 35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr

 50 55 60

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

65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Ser Lys Ser Phe Ala Asp Ile Asn Leu Tyr

 85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val

 100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Thr Arg Thr Val Asp Thr Lys

 115 120 125

Gln Ala His Glu Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr

 130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val

145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Met Lys Lys Leu Asn Ser Ser Asp Asp

 165 170 175

Gly Thr Gln Gly Cys Met Gly Leu Pro Cys Val Val Met
180 185

<210> 21

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Thr Lys Ser Phe Glu Asp Ile His His Tyr
85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Arg Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Leu Lys Lys Ile Ser Lys Glu Glu Lys
165 170 175

Thr Pro Gly Cys Val Lys Ile Lys Lys Cys Ile Ile Met
180 185

<210> 22

<211> 188

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

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

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr

20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly

35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Thr Lys Ser Phe Glu Asp Ile His His Tyr

85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val

100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys

115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr

130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Asp Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val

145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Lys His Lys Glu Lys Met Ser Lys Asp Gly Lys Lys

165 170 175

Lys Lys Lys Lys Ser Lys Thr Lys Cys Val Ile Met

180 185

<210> 23

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Thr Lys Ser Phe Glu Asp Ile His Gln Tyr
85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Ala Ala Arg Thr Val Glu Ser Arg
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Tyr Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln His Lys Leu Arg Lys Leu Asn Pro Pro Asp Glu
165 170 175

Ser Gly Pro Gly Cys Met Ser Cys Lys Cys Val Leu Ser
180 185

<210> 24

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

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

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr

20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly

35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Ser Lys Ser Phe Ala Asp Ile Asn Leu Tyr

85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val

100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Thr Arg Thr Val Asp Thr Lys

115 120 125

Gln Ala His Glu Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr

130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val

145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Met Lys Lys Leu Asn Ser Ser Asp Asp

165 170 175

Gly Thr Gln Gly Cys Met Gly Leu Pro Cys Val Val Met

180 185

<210> 25

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr

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

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

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Arg Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
 145 150 155 160
 Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Leu Lys Lys Ile Ser Lys Glu Glu Lys
 165 170 175
 Thr Pro Gly Cys Val Lys Ile Lys Lys Cys Ile Ile Met
 180 185

<210> 26

<211> 188

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys
 1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
 20 25 30
 Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
 35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
 50 55 60
 Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
 65 70 75 80

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

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Asp Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
 145 150 155 160
 Arg Glu Ile Arg Lys His Lys Glu Lys Met Ser Lys Asp Gly Lys Lys
 165 170 175
 Lys Lys Lys Lys Ser Lys Thr Lys Cys Val Ile Met
 180 185

<210> 27

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys
 1 5 10 15

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

65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Thr Lys Ser Phe Glu Asp Ile His Gln Tyr

85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val

100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Ala Ala Arg Thr Val Glu Ser Arg

115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Tyr Ile Glu Thr

130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val

145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln His Lys Leu Arg Lys Leu Asn Pro Pro Asp Glu

165 170 175

Ser Gly Pro Gly Cys Met Ser Cys Lys Cys Val Leu Ser

180 185

<210> 28

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr

20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly

35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Ser Lys Ser Phe Ala Asp Ile Asn Leu Tyr

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

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
 145 150 155 160
 Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Met Lys Lys Leu Asn Ser Ser Asp Asp
 165 170 175

Gly Thr Gln Gly Cys Met Gly Leu Pro Cys Val Val Met
 180 185

<210> 29

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys Ser
 1 5 10 15

Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile
 20

<210> 30

<211> 137

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (48)..(48)

<223> X is Thr or Cys

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (112)..(112)

<223> X is Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met, or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (114)..(114)

<223> X is Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (115)..(115)

<223> X is Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met, or Trp

<400> 30

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

1 5 10 15

Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile

20 25 30

Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Xaa

35 40 45

Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala

50 55 60

Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr

65 70 75 80

Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr

85 90 95

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

100 105 110

Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu

115 120 125

Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

130 135

<210> 31

<211> 173

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (57)..(57)

<223> X is Ser or Cys

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170

<210> 32

<211> 137

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 32

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

1 5 10 15

Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile

20 25 30
Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Thr

35 40 45
Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala

50 55 60
Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr

65 70 75 80
Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr

85 90 95
Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser

100 105 110
Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu

115 120 125

Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

130 135

<210> 33

<211> 173

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30
Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

145 150 155 160
Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn Ser
165 170

<210> 34
<211> 268
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (179)..(179)
<223> X is Thr or Cys
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (243)..(243)
<223> X is Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met, or Trp
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (245)..(245)
<223> X is Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, or Trp

<220><221> MISC_FEATURE
<222> (246)..(246)
<223> X is Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met, or Trp
<400> 34

Met Thr Ser Ile Arg Ala Val Phe Ile Phe Leu Trp Leu Gln Leu Asp
1 5 10 15
Leu Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val
20 25 30

Gln Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala
35 40 45

Ser Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln
50 55 60

Leu Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg
65 70 75 80

Ile Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile
85 90 95

Thr Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Ser
100 105 110

Thr Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys
115 120 125

Val Glu Leu Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys
130 135 140

Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp
145 150 155 160

Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr
165 170 175

Asp Lys Xaa Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly
180 185 190

Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe
195 200 205

Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala
210 215 220

Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln
225 230 235 240

Asn Leu Xaa Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
245 250 255

Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265

<210> 35

<211> 305

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (189)..(189)

<223> X is Ser or Cys

<400> 35

Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ser Gly Leu Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met

35 40 45

Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr

50 55 60

Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp

65 70 75 80

Lys Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val

85 90 95

Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Arg

100 105 110

Glu Gly Ala Gly Gly Met Gly Thr Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg

115 120 125

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

130 135 140

Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr

145 150 155 160

Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser

165 170 175

Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Xaa Thr Asp Pro

180 185 190

Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
195 200 205

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
210 215 220

Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly
225 230 235 240

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

Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
260 265 270

Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
275 280 285

Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn
290 295 300

Ser

305

<210> 36

<211> 269

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (180)..(180)

<223> X is Thr or Cys

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (244)..(244)

<223> X is Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met, or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (246)..(246)

<223> X is Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (247)..(247)

<223> X is Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met, or Trp

<400> 36

Met Glu Lys Asn Pro Leu Ala Ala Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His

1 5 10 15

Leu Asp Cys Val Ser Ser Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys

50 55 60

Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys

100 105 110

Ala Phe Thr Thr Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu

115 120 125

Thr Val Ile Pro Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile

165 170 175

Thr Asp Lys Xaa Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn

180 185 190

Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile

195 200 205

Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp

210 215 220

Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe

225 230 235 240
Gln Asn Leu Xaa Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
245 250 255

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265

<210> 37

<211> 310

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (194)..(194)

<223> X is Ser or Cys

<400> 37

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

1 5 10 15
Lys His Thr Asp Ala Gly Val Ile Gln Ser Pro Arg His Glu Val Thr
20 25 30

Glu Met Gly Gln Glu Val Thr Leu Arg Cys Lys Pro Ile Ser Gly His
35 40 45

Asp Tyr Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Thr Met Met Arg Gly Leu Glu Leu
50 55 60

Leu Ile Tyr Phe Asn Asn Asn Val Pro Ile Asp Asp Ser Gly Met Pro

65 70 75 80
Glu Asp Arg Phe Ser Ala Lys Met Pro Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu
85 90 95

Lys Ile Gln Pro Ser Glu Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala
100 105 110

Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Asn Gln Pro Gln His Phe Gly Asp
115 120 125

Gly Thr Arg Leu Ser Ile Leu Glu Asp Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr

130 135 140

Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn
145 150 155 160
Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp
165 170 175
His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly
180 185 190
Val Xaa Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys
195 200 205
Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg
210 215 220
Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp
225 230 235 240
Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala
245 250 255
Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln
260 265 270
Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys
275 280 285
Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met
290 295 300
Val Lys Arg Lys Asn Ser
305 310
<210> 38
<211> 268
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 38
Met Thr Ser Ile Arg Ala Val Phe Ile Phe Leu Trp Leu Gln Leu Asp

1 5 10 15
Leu Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val
20 25 30

Gln Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala
35 40 45
Ser Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln
50 55 60
Leu Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg
65 70 75 80
Ile Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile
85 90 95
Thr Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Ser
100 105 110
Thr Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys
115 120 125
Val Glu Leu Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys
130 135 140
Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp
145 150 155 160
Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr
165 170 175
Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly
180 185 190
Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe
195 200 205
Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala
210 215 220
Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln
225 230 235 240
Asn Leu Ser Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
245 250 255
Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265

<210> 39

<211> 305

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 39

Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ser Gly Leu Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met

35 40 45

Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr

50 55 60

Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp

65 70 75 80

Lys Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val

85 90 95

Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Arg

100 105 110

Glu Gly Ala Gly Gly Met Gly Thr Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg

115 120 125

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

130 135 140

Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr

145 150 155 160

Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser

165 170 175

Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro

180 185 190

Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu

195 200 205

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

210 215 220
Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly
225 230 235 240

Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
245 250 255
Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
260 265 270
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
275 280 285
Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn
290 295 300

Ser

305

<210> 40

<211> 269

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

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

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

100 105 110
 Ala Phe Thr Thr Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu
 115 120 125
 Thr Val Ile Pro Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu
 130 135 140
 Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe
 145 150 155 160
 Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile
 165 170 175

 Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn
 180 185 190
 Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile
 195 200 205
 Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp
 210 215 220
 Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe
 225 230 235 240

 Gln Asn Leu Ser Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
 245 250 255
 Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 260 265

 <210> 41
 <211> 310
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 41
 Met Gly Ser Trp Thr Leu Cys Cys Val Ser Leu Cys Ile Leu Val Ala
 1 5 10 15
 Lys His Thr Asp Ala Gly Val Ile Gln Ser Pro Arg His Glu Val Thr

20 25 30

Glu Met Gly Gln Glu Val Thr Leu Arg Cys Lys Pro Ile Ser Gly His
 35 40 45
 Asp Tyr Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Thr Met Met Arg Gly Leu Glu Leu
 50 55 60
 Leu Ile Tyr Phe Asn Asn Asn Val Pro Ile Asp Asp Ser Gly Met Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Arg Phe Ser Ala Lys Met Pro Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu
 85 90 95
 Lys Ile Gln Pro Ser Glu Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala
 100 105 110
 Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Asn Gln Pro Gln His Phe Gly Asp
 115 120 125
 Gly Thr Arg Leu Ser Ile Leu Glu Asp Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr
 130 135 140
 Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn
 145 150 155 160
 Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp
 165 170 175
 His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly
 180 185 190
 Val Ser Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys
 195 200 205
 Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg
 210 215 220
 Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp
 225 230 235 240
 Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala
 245 250 255
 Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln
 260 265 270
 Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys

275	280	285	
Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met			
290	295	300	
Val Lys Arg Lys Asn Ser			
305	310		
<210>	42		
<211>	393		
<212>	DNA		
<213>	Homo sapiens		
<400>	42		
atgaccagca tcagggccgt gttcatcttc ctgtggctgc agctggacct ggtgaacggc		60	
gagaacgtgg agcagcacc cagcaccttg agcgtgcagg agggcgacag cgccgtgatc		120	
aagtgcacct acagcgacag cgccagcaac tacttccct ggtacaagca ggagctgggc		180	
aagggcccc agctgatcat cgacatcagg agcaacgtgg gcgagaagaa ggaccagagg		240	
atgccgtga cctgaacaa gaccgccaag cacttcagcc tgcacatcac cgagaccag		300	
cccaggaca gcgccgtga cttctgcgc gccagcaccg gcggcggcaa caagctgacc		360	
ttcggcaccg gcaccagct gaaggtggag ctg		393	
<210>	43		
<211>	393		
<212>	DNA		
<213>	Homo sapiens		
<400>	43		
atgaccagca tcagggccgt gttcatcttc ctgtggctgc agctggacct ggtgaacggc		60	
gagaacgtgg agcagcacc cagcaccttg agcgtgcagg agggcgacag cgccgtgatc		120	
aagtgcacct acagcgacag cgccagcaac tacttccct ggtacaagca ggagctgggc		180	
aagggcccc agctgatcat cgacatcagg agcaacgtgg gcgagaagaa ggaccagagg		240	
atgccgtga cctgaacaa gaccgccaag cacttcagcc tgcacatcac cgagaccag		300	
cccaggaca gcgccgtga cttctgcgc gccagcaccg gcggcggcaa caagctgacc		360	
ttcggcaccg gcaccagct gaaggtggag ctg		393	
<210>	44		
<211>	396		
<212>	DNA		
<213>	Homo sapiens		

<400> 44

atggagaaga accccctggc cgccccctg ctgatcctgt ggttccacct ggactgcgtg 60

agcagcatcc tgaacgtgga gcagagcccc cagagcctgc acgtgcagga gggcgacagc 120

accaacttca cctgcagctt ccccgacagc aacttctacg ccttgactg gtacaggtgg 180

gagaccgcca agagccccga ggccctgttc gtgatgacct tgaacggcga cgagaagaag 240

aagggcagga tcagcgccac cctgaacacc aaggagggt acagctacct gtacatcaag 300

ggcagccagc ccgaggacag cgccacctac ctgtgcgcct tcaccaccgg caaccagttc 360

tacttcggca ccggcaccag cctgaccgtg atcccc 396

<210> 45

<211> 411

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 45

atgggcagct ggacctgtg ctgcgtgagc ctgtgcatcc tgggtggccaa gcacaccgac 60

gccggcgtga tccagagccc caggcacgag gtgaccgaga tgggccagga ggtgaccctg 120

aggtgcaagc ccatcagcgg ccacgactac ctgttctggt acaggcagac catgatgagg 180

ggcctggagc tgctgatcta ttcaacaac aacgtgcccc tcgacgacag cggcatgccc 240

gaggacaggt tcagcgccaa gatgcccaac gccagcttca gcacctgaa gatccagccc 300

agcgagcccc gggacagcgc cgtgtacttc tgcgccagca gcagctacgg cggtacagc 360

aaccagcccc agcacttcgg cgacggcacc aggctgagca tcctggagga c 411

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys

1 5 10

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys

1 5 10

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys Ser

1 5 10

<210>

49

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys

1 5 10

<210> 50

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys Ser

1 5 10

<210> 51

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys Ser Ala

1 5 10

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

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

1 5 10 15

<210> 53

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

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

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile

20

<210> 54

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

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

1 5 10 15

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

25

<210> 55

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

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

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile

20

<210> 56

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile

20