



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0040333
(43) 공개일자 2023년03월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 35/17 (2015.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01) C12N 5/0783 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2887 (2013.01)
A61K 35/17 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7001635
(22) 출원일자(국제) 2021년07월16일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년01월13일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2021/106889
(87) 국제공개번호 WO 2022/012681
국제공개일자 2022년01월20일
(30) 우선권주장
PCT/CN2020/102470 2020년07월16일 중국(CN)

(71) 출원인
난징 레전드 바이오테크 씨오., 엘티디.
중국 211100 지양수 난징 지양닝 디스트릭트 룽미
안 애비뉴 넘버 568 빌딩 오브 난징 라이프 사이
언스 타운 넘버 6
(72) 발명자
판, 샤오후
캐나다 알버타 티6더블유 0케이3 에드몬튼 아미타
지 크레센트 사우스웨스트 1067
조우, 제
중국 지양수 211100 난징 지양닝 디스트릭트 징유
로드 넘버 33 칭후아 톱팡 인터스트리얼 파크 빌
딩 에이 4층
판, 홍보
중국 지양수 211100 난징 지양닝 디스트릭트 징유
로드 넘버 33 칭후아 톱팡 인터스트리얼 파크 빌
딩 에이 4층
(74) 대리인
박장원

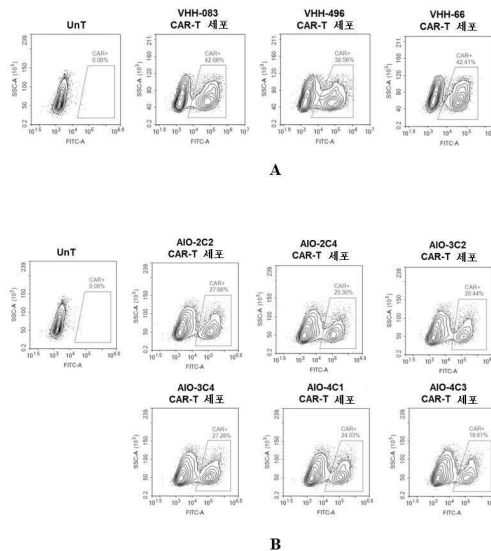
전체 청구항 수 : 총 48 항

(54) 발명의 명칭 다중특이성 키메라 항원 수용체 및 이의 용도

(57) 요약

본 개시내용은 CD20, CD19 및/또는 CD22를 표적으로 하는 키메라 항원 수용체를 제공한다. 키메라 항원 수용체를 포함하는 조작된 면역 효과기 세포(예컨대, T 세포)가 추가로 제공된다. 질환 또는 장애를 치료하는 약제학적 조성물, 키트 및 방법이 또한 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 39/001112 (2018.08)

A61K 39/001113 (2018.08)

A61K 39/001124 (2018.08)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 14/7051 (2013.01)

C07K 16/2803 (2013.01)

C12N 5/0636 (2013.01)

C07K 2319/02 (2013.01)

C07K 2319/03 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor: CAR)로서,

- (a) 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는, 세포의 항원 결합 도메인;
- (b) 막관통 도메인; 및
- (c) 세포내 신호전달 도메인

을 포함하되, 상기 막관통 도메인에 대한 상기 항-CD19 sdAb 또는 항-CD22 sdAb의 거리보다 상기 막관통 도메인에 대한 상기 항-CD20 sdAb의 거리가 더 가까운, 키메라 항원 수용체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항-CD19 sdAb는 상기 항-CD22 sdAb의 N-말단에 있는, CAR.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항-CD19 sdAb는 상기 항-CD22 sdAb의 C-말단에 있는, CAR.

청구항 4

키메라 항원 수용체(CAR)로서,

- (a) 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는, 세포의 항원 결합 도메인;
- (b) 막관통 도메인; 및
- (c) 세포내 신호전달 도메인,

을 포함하되, 상기 막관통 도메인에 대한 상기 항-CD20 sdAb 또는 항-CD22 sdAb의 거리보다 상기 막관통 도메인에 대한 상기 항-CD19 sdAb의 거리가 더 가까운, 키메라 항원 수용체.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 항-CD20 sdAb는 상기 항-CD22 sdAb의 N-말단에 있는, CAR.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 항-CD20 sdAb는 상기 항-CD22 sdAb의 C-말단에 있는, CAR.

청구항 7

키메라 항원 수용체(CAR)로서,

- (a) 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는, 세포의 항원 결합 도메인;
- (b) 막관통 도메인; 및
- (c) 세포내 신호전달 도메인

을 포함하되, 상기 막관통 도메인에 대한 상기 항-CD19 sdAb 또는 항-CD20 sdAb의 거리보다 상기 막관통 도메인에 대한 상기 항-CD22 sdAb의 거리가 더 가까운, 키메라 항원 수용체.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 항-CD19 sdAb는 상기 항-CD20 sdAb의 N-말단에 있는, CAR.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 항-CD19 sdAb는 상기 항-CD20 sdAb의 C-말단에 있는, CAR.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb는 서로 직접적으로 또는 하나 이상의 펩타이드 링커(들)를 통해 융합되고; 상기 하나 이상의 펩타이드 링커(들)는 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 이하의 아미노산을 포함하는, CAR.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 하나 이상의 펩타이드 링커(들)는 (GGGS)_n이고, n은 1, 2, 3 또는 4인, CAR.

청구항 12

키메라 항원 수용체(CAR)로서,

(a) 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는, 세포의 항원 결합 도메인;

(b) 막관통 도메인; 및

(c) 세포내 신호전달 도메인

을 포함하되, 상기 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb는 서로 직접적으로 또는 하나 이상의 펩타이드 링커(들)를 통해 융합되고;

상기 하나 이상의 펩타이드 링커(들)는 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 이하의 아미노산을 포함하는, 키메라 항원 수용체.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 하나 이상의 펩타이드 링커(들)는 (GGGS)_n이고, n은 1, 2, 3 또는 4인, CAR.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

(I) 상기 항-CD20 sdAb는,

(i) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iii) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iv) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(v) 서열번호 11 또는 311의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(vi) 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(vii) 서열번호 14 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(viii) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

- (ix) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (x) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xi) 서열번호 24 또는 313의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xii) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xiii) 서열번호 14 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xiv) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xv) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xvi) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xvii) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xviii) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xix) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xx) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
 - (xxi) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xxii) 서열번호 283 또는 314의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 284의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 285의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xx) 서열번호 286의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 287의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 288의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xxi) 서열번호 289 또는 315의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 290의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 291의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xxii) 서열번호 292의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 293의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 294의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xxiii) 서열번호 295 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 296의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 297의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
 - (xxiv) 서열번호 298의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 299의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 300의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3
- 을 포함하고,
- (II) 상기 항-CD19 sdAb는,
- (i) 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(ii) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iii) 서열번호 79 또는 317의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iv) 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(v) 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 307의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는

(vi) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3

을 포함하며,

(III) 상기 항-CD22 sdAb는,

(i) 서열번호 93 또는 318의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(ii) 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iii) 서열번호 99 또는 319의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iv) 서열번호 102의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(v) 서열번호 105 또는 320의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 106의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(vi) 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(vii) 서열번호 111 또는 321의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(viii) 서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(ix) 서열번호 117 또는 322의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 119의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(x) 서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xi) 서열번호 123 또는 323의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는

(xii) 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3

을 포함하는, CAR.

청구항 15

키메라 항원 수용체(CAR)로서,

(a) 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb 중 적어도 둘을 포함하는, 세포외 항원 결합 도메인;

(b) 막관통 도메인; 및

(c) 세포내 신호전달 도메인

을 포함하되,

(I) 상기 항-CD20 sdAb는,

(i) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iii) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iv) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(v) 서열번호 11 또는 311의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(vi) 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(vii) 서열번호 14 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(viii) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(ix) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(x) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xi) 서열번호 24 또는 313의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xii) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xiii) 서열번호 14 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xiv) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xv) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xvi) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xvii) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xviii) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xix) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2;

및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xx) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는

(xxi) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xxii) 서열번호 283 또는 314의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 284의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 285의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xx) 서열번호 286의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 287의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 288의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xxi) 서열번호 289 또는 315의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 290의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 291의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xxii) 서열번호 292의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 293의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 294의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(xxiii) 서열번호 295 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 296의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 297의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는

(xxiv) 서열번호 298의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 299의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 300의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3

을 포함하고,

(II) 상기 항-CD19 sdAb는,

(i) 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(ii) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iii) 서열번호 79 또는 317의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iv) 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(v) 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 307의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는

(vi) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3

을 포함하고;

(III) 상기 항-CD22 sdAb는,

(i) 서열번호 93 또는 318의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(ii) 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iii) 서열번호 99 또는 319의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(iv) 서열번호 102의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

- (v) 서열번호 105 또는 320의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 106의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (vi) 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (vii) 서열번호 111 또는 321의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (viii) 서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (ix) 서열번호 117 또는 322의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 119의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (x) 서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
 - (xi) 서열번호 123 또는 323의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
 - (xii) 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3
- 을 포함하는, 키메라 항원 수용체.

청구항 16

키메라 항원 수용체(CAR)로서,

- (a) 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb 중 적어도 둘을 포함하는, 세포외 항원 결합 도메인;
 - (b) 막관통 도메인; 및
 - (c) 세포내 신호전달 도메인
- 을 포함하되,
- (I) 상기 항-CD20 sdAb는,
- (i) 서열번호 39에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (ii) 서열번호 40에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (iii) 서열번호 41에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (iv) 서열번호 42에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (v) 서열번호 43에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (vi) 서열번호 44에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (vii) 서열번호 45에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (viii) 서열번호 46에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (ix) 서열번호 47에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (x) 서열번호 48에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (xi) 서열번호 49에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (xii) 서열번호 50에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;
 - (xiii) 서열번호 51에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및

CDR3;

(xiv) 서열번호 52에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(xv) 서열번호 53에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(xvi) 서열번호 54에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(xvii) 서열번호 55에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(xviii) 서열번호 301에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(xix) 서열번호 302에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; 또는

(xx) 서열번호 303에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하고,

(II) 상기 항-CD19 sdAb는,

(i) 서열번호 85에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(ii) 서열번호 86에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(iii) 서열번호 87에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(iv) 서열번호 88에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; 또는

(v) 서열번호 308에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하며; 그리고

(III) 상기 항-CD22 sdAb는,

(i) 서열번호 129에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(ii) 서열번호 130에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(iii) 서열번호 131에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(iv) 서열번호 132에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(v) 서열번호 133에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3;

(vi) 서열번호 134에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; 또는

(vii) 서열번호 135에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는, 키메라 항원 수용체.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 CDR1, CDR2 또는 CDR3은 Kabat numbering 체계, IMGT numbering 체계, AbM numbering 체계, Chothia numbering 체계, Contact numbering 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정되는, CAR.

청구항 18

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CAR은, (1) 상기 항-CD20 sdAb 및 상기 항-CD19 sdAb; (2) 상기 항-CD20 sdAb 및 상기 항-CD22 sdAb; (3) 상기 항-CD19 sdAb 및 상기 항-CD22 sdAb; 또는 (4) 상기 항-CD20 sdAb, 상기 항-CD19 sdAb 및 상기 항-CD22 sdAb를 포함하는, CAR.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD20 sdAb, 상기 항-CD19 sdAb 및 상기 항-CD22 sdAb는 각각 독립적으로 낙타과 sdAb 또는 인간화된 sdAb인, CAR.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

(I) 상기 항-CD20 sdAb는 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 301, 서열번호 302 또는 서열번호 303의 아미노산 서열을 포함하고;

(II) 상기 항-CD19 sdAb는 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88 또는 서열번호 308의 아미노산 서열을 포함하며; 그리고

(III) 상기 항-CD22 sdAb는 서열번호 129, 서열번호 130, 서열번호 131, 서열번호 132, 서열번호 133, 서열번호 134 또는 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는, CAR.

청구항 21

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

(I) 상기 항-CD20 sdAb는 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 301, 서열번호 302 또는 서열번호 303의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

(II) 상기 항-CD19 sdAb는 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88 또는 서열번호 308의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며; 그리고

(III) 상기 항-CD22 sdAb는 서열번호 129, 서열번호 130, 서열번호 131, 서열번호 132, 서열번호 133, 서열번호 134 또는 서열번호 135의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, CAR.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 막관통 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된 분자로부터 유래된, CAR.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 막관통 도메인은 CD8 α로부터 유래된, CAR.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포내 신호전달 도메인은 면역 효과기 세포의 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, CAR.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 1차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ로부터 유래된, CAR.

청구항 26

제24항 또는 제25항에 있어서, 상기 세포내 신호전달 도메인은 공자극 신호전달 도메인을 더 포함하는, CAR.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 공자극 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 공자극 분자로부터 유래된, CAR.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 공자극 신호전달 도메인은 CD137로부터 유래된, CAR.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 항원 결합 도메인의 C-말단과 상기 막관통 도메인의 N-말단 사이에 위치된 힌지 도메인을 더 포함하는, CAR.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 힌지 도메인은 CD8 α로부터 유래된, CAR.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드의 N-말단에 위치된 신호 펩타이드를 더 포함하는, CAR.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 신호 펩타이드는 CD8 α로부터 유래된, CAR.

청구항 33

키메라 항원 수용체(CAR)로서, (i) 서열번호 174 내지 226으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열; 또는 (ii) 서열번호 174 내지 226으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 키메라 항원 수용체.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항의 CAR을 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산.

청구항 35

제34항의 단리된 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 36

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항의 CAR, 제34항의 단리된 핵산 또는 제35항의 벡터를 포함하는, 조작된 면역 효과기 세포.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 면역 효과기 세포는 T 세포 또는 B 세포인, 조작된 면역 효과기 세포.

청구항 38

제36항 또는 제37항의 조작된 면역 효과기 세포 또는 제35항의 벡터 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 39

대상체의 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 유효량의 제36항 또는 제37항의 조작된 면역 효과기 세포, 또는 제38항의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 질환 또는 장애는 B 세포 연관 질환 또는 장애, CD19 연관 질환 또는 장애, CD20 연관

질환 또는 장애 및/또는 CD22 연관 질환 또는 장애인, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 질환 또는 장애는 암인, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 질환 또는 장애는 B 세포 악성종양인, 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 B 세포 악성종양은 B 세포 백혈병 또는 B 세포 림프종인, 방법.

청구항 44

제39항에 있어서, 상기 질환 또는 장애는 가장자리구역 림프종(예를 들어, 비장 가장자리구역 림프종), 광범위 큰 B 세포 림프종(DLBCL), 맨틀 세포 림프종(MCL), 원발 중추 신경계(CNS) 림프종, 원발 중격동 B 세포 림프종(PMBL), 소형 림프구성 림프종(SLL), B 세포 전림프구성 백혈병(B-PLL), 소포 림프종(FL), 버킷 림프종, 원발성 안구내 림프종, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 모발세포 백혈병(HCL), 전구 B 세포 림프모구 백혈병, 비호지킨 림프종(NHL), 고등급 B-세포 림프종(HGBL) 및 다발성 골수종(MM)으로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

청구항 45

제39항에 있어서, 상기 질환 또는 장애는 자가면역 및/또는 염증성 질환인, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 자가면역 및/또는 염증성 질환은 부적절한 또는 향상된 B 세포수 및/또는 활성화와 연관된, 방법.

청구항 47

제39항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 유효량의 상기 조작된 면역 효과기 세포를 상기 대상체에게 투여하기 전에 상기 대상체로부터 얻은 암 세포 상에서 발현된 CD19, CD20 및/또는 CD22 수준을 검출하고/하거나 측정하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 대상체로부터 얻은 상기 암 세포 상에서 발현된 CD19, CD20 및/또는 CD22 수준은 암을 치료하는 데 적합한 CAR을 발현시키는 조작된 면역 효과기 세포의 선택을 결정하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 상호참조

[0002] 본 출원은 2020년 7월 16일자로 출원된 국제특허출원 PCT/CN2020/102470의 우선권의 이익을 주장하며, 이의 내용은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0003] 서열목록

[0004] 본 출원은 2021년 7월 14일자로 생성된 파일명 14651-028-228_SEQ_LISTING.txt로서 본 출원과 함께 제출된 참조 서열목록을 인용하며, 이는 용량이 536,002 바이트이다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 개시내용은 CD19, CD20 및/또는 CD22를 표적으로 하는 키메라 항원 수용체, 이를 포함하는 조작된 면역 효과기 세포 및 이의 사용 방법에 관한 것이다. 본 개시내용은 추가로 치료 용도를 위한 세포의 활성화 및 확장, 특

히 키메라 항원 수용체-기반 T 세포 면역요법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0007] CD20은 B-세포 분화의 특정 단계에서 발현되는 표면 항원이다. 치료적 단클론성 항체(mAb)로 CD20-양성 B 세포를 표적화하는 것은 혈액 악성종양, 예컨대, 비호지킨 림프종(NHL) 및 만성 림프구성 백혈병(CLL)의 치료에서 효과적인 전략이었다. 리툭시맵(RTX)에 의한 초기 성장은 더 효과적인 CD20 기반 치료의 생성 및 개발을 조장하였다. 그러나, 통상적인 mAb에 의한 치료는 난치성/재발성 질환과 같은 문제를 극복하는 데 적합하지 않았다(Shanehbandi *et al.*, *Current Cancer Drug Targets*, 17(5): 423-444 (2007)).
- [0008] CD19는 정상 B 세포 상에서 그리고 대부분의 B 세포 악성종양을 비롯한 다양한 질환 및 병태의 세포 및 조직에 의해 발현된다. CD19는 B 세포 수용체-의존적 및 독립적 신호전달의 조절을 통해 고유한 B 세포 신호전달 역치를 확립하는 데 중요하게 관련된다. CD19는 성숙 B 세포 표면 상에서 다중분자 복합체의 우세한 신호전달 성분으로서 작용하며, 체액성, 항원-유도 반응과 면역관용유도(tolerance induction) 사이에서 균형을 유지하는 데 중요한 역할을 한다. 문헌[Wang *et al.*, *Exp Hematol Oncol.* 1: 36 (2012)]을 참조한다.
- [0009] BL-CAM, B3, Leu-14, Lyb-8 및 Siglec-2로도 알려진 CD22는 사이알로 어드헤진(sialoadhesin) 패밀리의 세포 표면 I형 당단백질이다. CD22는 B 림프구에 의해 특이적으로 발현되는 것으로 나타났고, B 림프구 활성화의 음성 조절자로서 기능적으로 중요하다(Nitschke, *Curr. Opin. Immunol.*, 17: 290-297 (2005)). CD22는 BCR 신호전달을 하향조절하고 B 세포 과자극을 차단하는 저해 공동-수용체이고, 가장자리구역, 최적의 B 세포 항원 수용체-유도 증식 및 B 세포 전환(turnover) 등에서 B 세포 집단의 유지에 중요한 역할을 한다. 대다수의 B-세포 악성종양은 CD22를 발현시켜, 이를 암 치료에서 유망한 표적으로 만든다. 또한, CD22의 표적화를 통한 B 세포 활성의 선택적 조절은 자가면역질환을 치료하기 위해 제안되었다(예를 들어, 문헌[Steinfeld and Youinou, *Expert. Opin. Biol.Ther.*, 6: 943-949 (2006)] 참조).
- [0010] 키메라 항원 수용체 T(CAR-T) 세포 요법은 최근에 만들어졌고, 특히, 혈액 악성종양에서 효과적인 암 면역요법이다. 그러나, CAR-T 세포의 적용은 유해효과, 예컨대, 사이토카인 방출 증후군 및 종양 표적 외 독성(on-target off-tumor toxicity)에 의해 방해된다(Yu *et al.*, *Molecular Cancer* 18 (1): 125 (2019)).
- [0011] 개선된 결합 분자 및 조작된 세포가 요구된다. 예를 들어, 더 효과적 또는 효율적인 CAR-T 요법에서 사용하기 위한 안정적이고 치료적으로 효과적인 CD20, CD19 및/또는 CD22 결합 분자를 개발할 필요가 있다.

발명의 내용

- [0012] 일 양상에서, (a) 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는, 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 키메라 항원 수용체(CAR)가 본 명세서에서 제공되며, 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb 또는 항-CD22 sdAb의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD20 sdAb의 거리가 더 가깝다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD22 sdAb의 N-말단에 있다. 다른 실시형태에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD22 sdAb의 C-말단에 있다.
- [0013] 다른 양상에서, (a) 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는, 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, CAR이 본 명세서에 제공되며, 막관통 도메인에 대한 항-CD20 sdAb 또는 항-CD22 sdAb의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb의 거리가 더 가깝다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 sdAb는 항-CD22 sdAb의 N-말단에 있다. 다른 실시형태에서, 항-CD20 sdAb는 항-CD22 sdAb의 C-말단에 있다.
- [0014] 다른 양상에서, (a) 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는, 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, CAR이 본 명세서에 제공되며, 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb 또는 항-CD20 sdAb의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD22 sdAb의 거리가 더 가깝다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 N-말단에 있다. 다른 실시형태에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 C-말단에 있다.
- [0015] 일부 실시형태에서, 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb는 서로 직접적으로 또는 하나 이상의 펩타이드 링커(들)를 통해 융합되고; 하나 이상의 펩타이드 링커(들)는 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 이하의 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 펩타이드 링커(들)는 (GGGGGS)*n*이고, *n*은 1, 2, 3 또는 4이다.

[0016] 또 다른 양상에서, (a) 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는, 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, CAR이 본 명세서에 제공되; 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb는 서로 직접적으로 또는 하나 이상의 펩타이드 링커(들)를 통해 융합되며; 하나 이상의 펩타이드 링커(들)는 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 이하의 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 펩타이드 링커(들)는 (GGGS)_n이고, n은 1, 2, 3 또는 4이다.

[0017] 일부 실시형태에서, 항-CD20 sdAb는, (i) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iii) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iv) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (v) 서열번호 11 또는 311의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (vi) 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (vii) 서열번호 14 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (viii) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ix) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (x) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xi) 서열번호 24 또는 313의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xii) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xiii) 서열번호 14 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xiv) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xv) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xvi) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xvii) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xviii) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xix) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xx) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (xxi) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxii) 서열번호 283 또는 314의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 284의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 285의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxiii) 서열번호 286의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 287의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 288의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxiv) 서열번호 289 또는 315의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 290의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 291의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxv) 서열번호 292의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 293의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 294의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxiv) 서열번호 295 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 296의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 297의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (xxvii) 서열번호 298의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 299의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 300의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 항-CD19 sdAb는, (i) 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ii) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iii) 서열번호 79 또는 317의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iv) 서열번호

호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (v) 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 307의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (vi) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 항-CD22 sdAb는, (i) 서열번호 93 또는 318의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ii) 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iii) 서열번호 99 또는 319의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (v) 서열번호 102의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (v) 서열번호 105 또는 320의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 106의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (vi) 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (vii) 서열번호 111 또는 321의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (viii) 서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ix) 서열번호 117 또는 322의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 119의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (x) 서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xi) 서열번호 123 또는 323의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (xii) 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0018]

또 다른 양상에서, (a) 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb 중 적어도 둘을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR이 본 명세서에 제공되되, 항-CD20 sdAb는, (i) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iii) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iv) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (v) 서열번호 11 또는 311의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (vi) 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (vii) 서열번호 14 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (viii) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ix) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (x) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xi) 서열번호 24 또는 313의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xii) 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xiii) 서열번호 14 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xiv) 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xv) 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xvi) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xvii) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xviii) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xix) 서열번호 20 또는

312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xx) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (xxi) 서열번호 20 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxii) 서열번호 283 또는 314의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 284의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 285의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxiii) 서열번호 286의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 287의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 288의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxiv) 서열번호 289 또는 315의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 290의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 291의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxv) 서열번호 292의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 293의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 294의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xxvi) 서열번호 295 또는 312의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 296의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 297의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (xxvii) 서열번호 298의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 299의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 300의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 항-CD19 sdAb는, (i) 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ii) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iii) 서열번호 79 또는 317의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (iv) 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (v) 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 307의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 항-CD22 sdAb는, (i) 서열번호 93 또는 318의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ii) 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 97의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 98의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (iii) 서열번호 99 또는 319의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 100의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 101의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (v) 서열번호 102의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 103의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 104의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (v) 서열번호 105 또는 320의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 106의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (vi) 서열번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (vii) 서열번호 111 또는 321의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (viii) 서열번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (ix) 서열번호 117 또는 322의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 119의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (x) 서열번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; (xi) 서열번호 123 또는 323의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는 (xii) 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0019] 또 다른 양상에서, (a) 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb 중 적어도 둘을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR이 본 명세서에 제공되되, 항-CD20 sdAb는 (i) 서열번호 39에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (ii) 서열번호 40에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (iii) 서열번호 41에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (iv) 서열번호 42에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (v) 서열번호 43에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (vi) 서열번호 44에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (vii) 서열번호 45에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (viii) 서열번호 46에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (ix) 서열번호 47에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는

CDR1, CDR2 및 CDR3; (x) 서열번호 48에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xi) 서열번호 49에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xii) 서열번호 50에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xiii) 서열번호 51에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xiv) 서열번호 52에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xv) 서열번호 53에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xvi) 서열번호 54에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xvii) 서열번호 55에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xviii) 서열번호 301에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (xix) 서열번호 302에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; 또는 (xx) 서열번호 303에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하고; 항-CD19 sdAb는, (i) 서열번호 85에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (ii) 서열번호 86에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (iii) 서열번호 87에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; 또는 (iv) 서열번호 88에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; 또는 (v) 서열번호 308에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하고; 항-CD22 sdAb는 (i) 서열번호 129에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (ii) 서열번호 130에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (iii) 서열번호 131에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (iv) 서열번호 132에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (v) 서열번호 133에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; (vi) 서열번호 134에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3; 또는 (vii) 서열번호 135에 제시된 바와 같이 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 각각 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, CDR1, CDR2 또는 CDR3은 Kabat 넘버링 체계, IMGT 넘버링 체계, AbM 넘버링 체계, Chothia 넘버링 체계, Contact 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정된다.

[0020] 일부 실시형태에서, CAR은, (1) 항-CD20 sdAb 및 항-CD19 sdAb; (2) 항-CD20 sdAb 및 항-CD22 sdAb; (3) 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb; 또는 (4) 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함한다.

[0021] 일부 실시형태에서, 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb는 각각 독립적으로 낙타파 sdAb 또는 인간화된 sdAb이다.

[0022] 일부 실시형태에서, 항-CD20 sdAb는 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 301, 서열번호 302 또는 서열번호 303의 아미노산 서열을 포함하고; 항-CD19 sdAb는 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88 또는 서열번호 308의 아미노산 서열을 포함하며; 항-CD22 sdAb는 서열번호 129, 서열번호 130, 서열번호 131, 서열번호 132, 서열번호 133, 서열번호 134 또는 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함한다.

[0023] 다른 실시형태에서, 항-CD20 sdAb는 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 301, 서열번호 302 또는 서열번호 303의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 항-CD19 sdAb는 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88 또는 서열번호 308의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며; 항-CD22 sdAb는 서열번호 129, 서열번호 130, 서열번호 131, 서열번호 132, 서열번호 133, 서열번호 134 또는 서열번호 135의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0024] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된 분자로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 CD8 α 로부터 유래된다.

[0025] 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 효과기 세포의 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일

부 실시형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ로부터 유래된다.

- [0026] 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공자극 신호전달 도메인을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 공자극 분자로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 CD137로부터 유래된다.
- [0027] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C-말단과 막관통 도메인의 N-말단 사이에 위치한 힌지 도메인을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 CD8 α로부터 유래된다.
- [0028] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 폴리펩타이드의 N-말단에 위치한 신호 펩타이드를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 CD8 α로부터 유래된다.
- [0029] 다른 양상에서, (i) 서열번호 174 내지 226으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열; 또는 (ii) 서열번호 174 내지 226으로 이루어진 군으로부터 선택된 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, CAR이 본 명세서에 제공된다.
- [0030] 또 다른 양상에서, 본 명세서에 제공된 CAR을 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 본 명세서에 제공된다. 다른 양상에서, 본 명세서에 제공된 CAR을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터가 본 명세서에 제공된다.
- [0031] 또 다른 양상에서, CAR, 단리된 핵산 또는 본 명세서에 제공된 벡터를 포함하는, 조작된 면역 효과기 세포가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 효과기 세포는 T 세포 또는 B 세포이다.
- [0032] 다른 양상에서, 조작된 면역 효과기 세포, 또는 본 명세서에 제공된 벡터, 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물이 본 명세서에 제공된다.
- [0033] 또 다른 양상에서, 유효량의 조작된 면역 효과기 세포, 또는 본 명세서에 제공된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 B 세포 연관 질환 또는 장애, CD19 연관 질환 또는 장애, CD20 연관 질환 또는 장애 및/또는 CD22 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 암이다. 다른 실시형태에서, 질환 또는 장애는 B 세포 악성종양이다. 일부 실시형태에서, B 세포 악성종양은 B 세포 백혈병 또는 B 세포 림프종이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 가장자리구역 림프종(예를 들어, 비장 가장자리구역 림프종), 광범위 큰 B 세포 림프종(DLBCL), 맨틀 세포 림프종(MCL), 원발 중추 신경계(CNS) 림프종, 원발 종격동 B 세포 림프종(PMBL), 소형 림프구성 림프종(SLL), B 세포 전림프구성 백혈병(B-PLL), 소포 림프종(FL), 버킷 림프종, 원발성 안구내 림프종, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 모발세포 백혈병(HCL), 전구 B 세포 림프모구 백혈병, 비호지킨 림프종(NHL), 고등급 B-세포 림프종(HGBL) 및 다발성 골수종(MM)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다른 실시형태에서, 질환 또는 장애는 자가면역 및/또는 염증성 질환이다. 일부 실시형태에서, 자가면역 및/또는 염증성 질환은 부적절한 또는 향상된 B 세포수 및/또는 활성화와 연관된다.
- [0034] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 방법은 유효량의 조작된 면역 효과기 세포를 대상체에게 투여하기 전에 대상체로부터 얻은 암 세포 상에서 발현된 CD19, CD20 및/또는 CD22 수준을 검출하고/하거나 측정하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터 얻은 암 세포 상에서 발현된 CD19, CD20 및/또는 CD22 수준은 암을 표적화하는 데 적합한 CAR을 발현시키는 조작된 면역 효과기 세포의 선택을 결정한다.

도면의 간단한 설명

- [0035] **도 1A 내지 도 1B**는 예시적인 단일-특이성 VHH CAR-T 세포(**도 1A**) 및 삼중특이성 VHH CAR-T 세포(**도 1B**)의 형질도입 효율을 도시한 도면. UnT는 CAR에 의해 형질도입되지 않은 T 세포를 지칭한다.
- 도 2A 내지 도 2I**는 세포주 Raji.Luc(**도 2A, 도 2G 및 도 2J**), Nalm.6.Luc(**도 2B, 도 2I 및 도 2K**), K562-CD19.Luc(**도 2C**), K562-CD20.Luc(**도 2D**), K562-CD22.Luc(**도 2E**), K562.Luc(**도 2F**) 및 Daudi.Luc(**도 2H**)에 대해 단일-특이성 VHH CAR-T 세포 또는 단일-특이성 scFv CAR-T 세포와 비교되는 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 시험관내 세포독성을 도시한 도면.
- 도 3A 내지 도 3B**는 24시간 동안 상이한 E:T 비로 Raji.Luc 또는 K562.Luc 세포와 함께 공동배양시킨 후의 단일-특이성 VHH CAR-T 세포에 비해서 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 IFN-γ 방출 수준 및 세포독성을 도시한 도면. T 검정을 이용하여 P 값을 분석하였다.
- 도 4A 내지 도 4G**는 Raji 이중이식 NCG 마우스 모델에서 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 생체내 항-종양 효능을

도시한 도면. 상이한 용량의 삼중특이성 VHH CAR-T 세포로 처리한 마우스를 생물발광 영상화에 의한 종양 성장의 정기적 모니터링(도 4A 내지 도 4F), 및 체중(도 4G)에 대해 평가하였다.

도 5A 내지 도 5B는 예시적인 단일-특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포(도 5A) 및 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포(도 5B)의 형질도입 효율을 도시한 도면. UnT는 CAR에 의해 형질도입되지 않은 T 세포를 지칭한다.

도 6A 내지 도 6F는 림프종 세포주 - Raji.Luc를 발현시키는 삼중-양성 항원(도 6A, 도 6C 및 도 6E) 및 백혈병 세포주 - Nalm.6.Luc를 발현시키는 이중-양성 항원(도 6B, 도 6D 및 도 6F)에 대한 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 시험관내 세포독성을 도시한 도면.

도 7A 내지 도 7F는 단일-항원 발현 세포주 - K562-CD19.Luc(도 7A 및 도 7D), K562-CD20.Luc(도 7B 및 도 7E) 및 K562-CD22.Luc(도 7C 및 도 7F)에 대한 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 시험관내 세포독성을 도시한 도면.

도 8은 24시간 동안 상이한 E:T 비로 Raji.Luc 또는 K562.Luc 세포와 함께 공동 배양 후에 단일-특이성 scFv CAR-T 세포에 비해서 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 IFN- γ 방출 수준을 도시한 도면.

도 9는 Raji.Luc, 단핵구 또는 표적 세포 둘 다 및 단핵구와 함께 24시간 동안 공동 배양 후에 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 IL-6 방출 수준을 도시한 도면.

도 10A 내지 도 10F는 CD19 유전자 녹아웃을 갖는 Raji 세포에 대해 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 시험관내 세포독성을 도시한 도면.

도 11A 내지 도 11D는 Raji 이종이식 NCG 마우스 모델에서 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 생체내 항-종양 효능을 도시한 도면. 마우스를 생물발광 영상화에 의한 종양 성장의 정기적 모니터링(도 11A 및 도 11B), 체중(도 11C) 및 생존(도 11D)에 대해 평가하였다.

도 12A 내지 도 12C는 AIO-huIgG1Fc mAb 또는 huAIO-huIgG1Fc mAb의 결합 친화도를 평가하는 연구로부터의 결과를 나타낸다. MFI=평균 형광 강도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 본 개시내용은 CD20, CD19 및/또는 CD22에 결합하는 신규한 다중특이성 키메라 항원 수용체 또는 이를 포함하는 조작된 세포, 및 이들의 개선된 특성에 부분적으로 기반한다.

[0037] 몇몇 유의미한 질환은 B 림프구와 관련된다. 예를 들어, B 세포의 악성 형질전환은 림프종, 예를 들어, 다발성 골수종 및 비호지킨 림프종을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 암을 야기한다. 다양한 형태의 치료에 대한 B 세포 악성종양의 반응은 혼합된다. 화학요법 및 방사선요법을 비롯한, B 세포 악성종양의 전통적인 치료 방법은 독성 부작용으로 인해 효용이 제한되었다. 항-CD19, 항-CD20, 항-CD22, 항-CD23 및 항-CD80 치료 항체에 의한 면역요법은, 부분적으로 불량한 약물동태학 프로파일, 혈청 프로테아제에 의한 항체의 빠른 제거 및 사구체에서의 여과, 및 종양 부위의 제한된 침투 및 암 세포 상에서 표적 항원의 발현 수준으로 인해, 제한된 성공이 제공되었다. 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현시키는 유전자 변형된 세포를 사용하기 위한 시도는 또한 CAR T 세포의 불량한 생체내 확장, 주입 후 세포의 빠른 소멸, 사이토카인 방출 증후군(CRS), 종양 항원 탈출 등으로 인해 제한된 성공으로 충족되었다.

[0038] 인간 CD19 항원은 면역글로불린 슈퍼패밀리에 속하는 95kDa 막관통 당단백질이다. CD20은 4개의 막관통-결합 영역 및 세포내 아미노 및 카복시 말단을 갖는 33-kDa 내지 37-kDa의, 비글리코실화된 인단백질이다. CD19와 CD20은 둘 다 초기 B 세포 전(pre-B)으로부터 성숙 B 세포 단계까지의 B 세포 발생에서 널리 발현되지만, 형질세포에 대한 분화에서는 상실된다. CD22는 또한 130 내지 150kDa의 B 세포 계통의 제한된 세포 표면 인산화 당단백질이다. 세포질 CD22는 B-세포 분화의 가장 초기에 CD19와 함께 발현되며, CD20의 발현 전에 존재한다. CD19, CD20 및 CD22는 모든 B-세포 악성종양 상에서 발현된다.

[0039] B 세포 표면 항원의 표적화는 매력적인 치료 전략이었지만, 종양학 분야에서의 오래된 난제는 표적 항원의 상실 또는 하향조절이 있는 종양의 출현이다. 항원 손실 또는 항원의 낮은 탈출(antigen-low escape)은 표적 항원 발현에서의 더 큰 이질성으로 인해 고형 종양에서의 성공에 대한 훨씬 더 큰 장벽으로서 나타날 가능성이 있다.

[0040] CAR-T 세포는 암 세포 상에서 적절한 양의 종양 연관 표면 항원(TAA)과 만날 때 강력하다. 종양 세포는 "항원 탈출"(CAR에 의해 인식되는 세포의 에피토프를 결여하는 TAA의 대안의 형태를 발현시킴) 또는 "항원 하향조절"(CAR-T 세포 활성화를 촉발함에 있어서 TAA 발현 수준을 역치 미만으로 감소시킴)에 의해 CAR-T의 사멸을 탈

출할 수 있다. 예를 들어, CD19 CAR 처리 후에 ALL 또는 BCL 환자의 30 내지 60%는 재발된 것으로 보고되었으며, 이는 CD19 항원의 탈출 또는 하향조절로 인한 것일 가능성이 있다. 유사하게, ALL에서 보고된 관해율은 블리나투모맵(CD19xCD3 이중특이성 항체) 또는 CAR-T 세포 표적화 CD19 또는 CD22 중 하나에 의해 40% 내지 94%로 변하며, CD19 발현의 상실 및 CD22 하향조절로 인한 것일 가능성이 있다.

[0041] 본 개시내용은 부분적으로, TAA의 보다 낮은 발현 수준에 반응하고, 항원 탈출과 항원 하향조절에 대응하고, CAR-T 세포 활성화, 증식, 세포독성 및 사이토카인 방출에서 더 효율적이 되는 다중 특이성을 갖는, 조작된 CAR 및 CAR-T 세포에 의한 기존의 요법에 대해 위에서 언급한 문제를 해결하는 것을 목적으로 한다.

[0042] 그러나, 다수의 연구가 나타내는 바와 같이, 효과적인 다중특이성 CAR의 생성은 또한 난제이다. 예를 들어, 현재 이용 가능한 CAR-T 요법은 scFv에 기반하지만, 그러나, 탠덤 CAR 접근은 2개 초과 scFv에 대해 사용될 가능성이 매우 적다. 3개 이상의 scFv를 갖는 탠덤 CAR은 매우 큰 분자이고 scFv는 서로에 대해 폴드백(fold back)될 수 있기 때문에, 항원-결합 부위를 가리며, VH-VL 도메인의 미스매치 및 오작동으로 이어질 수 있다. 또한, 2개 이상의 scFv에 의해 막관통 도메인으로부터 분리된 가장 원위의 scFv에 의한 중앙 항원 특이적 결합은 T 세포 활성화 및 활성을 촉발할 수 없을 것이다.

[0043] 본 CAR은 이들 문제를 다루며, 이들은 면역 세포 표면 상에서 효과적인 3개 이상의 탠덤 CAR 특이성을 생성할 궁극적인 필요를 충족시킬 뿐만 아니라, "항원 탈출 항원" 및/또는 "항원 하향조절"의 중앙 요법 문제에 대한 효과적인 해결책을 제공한다.

[0044] 일 양상에서, 본 개시내용은 다중 B 세포 특이적 마커를 동시에 표적화하는 단일 CAR(삼중특이성 CAR 또는 올-인-원(All-in-One: AIO) CAR)을 생성하는 시도에서 탠덤에 3개의 VHH(CD19에 특이적인 하나, CD20에 특이적인 하나 및 CD22에 특이적인 하나)를 포함하는 신규한 CAR을 개발하였다. AIO CAR의 세포외 도메인은 단일 막관통 부분에 연결된 탠덤으로 3개의 항원 결합 특이성(예를 들어, VHH)을 포함하며, 하나의 VHH는 막에 병치되어 있고, 하나의 VHH는 중간에 있으며, 다른 하나는 VHH는 원위 위치에 있으며, 이들은 선택적으로 Gly-Ser 링커(들)에 의해 결합된다.

[0045] 아래의 부분 6에 기재하는 바와 같이, 본 명세서에 제공된 AIO CAR은 B 세포 상에서 CD19, CD20 및 CD22 항원에 대해 뚜렷한 T 세포 반응성을 유도하는 것으로 나타났다. VHH 순서 배열은 CD19(20 내지 291aa), CD20(79 내지 84aa 및 142 내지 188aa) 및 CD22(20 내지 687aa)의 세포외 도메인의 각 길이에 기반하여 선택될 수 있으며, 특정 공간 배열에 적합하게 한다. 공간적 유연성을 향상시키기 위해, 상이한 길이의 Gly-Ser 링커(들)가 설계되고, 선택되었다. 병치-, 중간- 및 원위-위치 VHH의 접근 불가능 또는 차단 효과가 또한 연구되었다.

[0046] 나타낸 바와 같이, 재발 또는 난치성 B 세포 림프종 및 백혈병의 궁극적인 의학적 요구는 본 다중-특이성 CAR-T에 의해 해결될 수 있다. 본 개시내용은 놀라게도, CAR의 세포외 도메인에서 탠덤으로 배열된 3개의 VHH 도메인이 서로 구조적으로 방해하는 일 없이 우수한 효과를 생성한다는 것을 발견한다.

[0047] 5.1. 정의

[0048] 본 명세서에 기재되거나 언급된 기법 및 절차는 당업자에 의한 통상적인 방법, 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3d ed. 2001); Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 2003); Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed. 2009); Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols (Albitar ed. 2010); 및 Antibody Engineering Vols 1 and 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)]에 기재된 널리 이용되는 방법을 이용하여 일반적으로 잘 이해되고/되거나 통상적으로 사용되는 것을 포함한다. 본 명세서에서 달리 정의되지 않는 한, 본 설명에서 사용되는 기술적 및 과학적 용어는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 갖는다. 본 명세서를 해석하는 목적을 위해, 용어의 다음의 설명을 적용할 것이며, 적절한 경우 언제든지, 단수로 사용되는 용어는 또한 복수를 포함할 것이고, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 용어의 임의의 설명이 본 명세서에 참조로 인용되는 임의의 문헌과 상충되는 경우에, 아래에 제시하는 용어의 설명으로 조절할 것이다.

[0049] 용어 "항체", "면역글로불린" 또는 "Ig"는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되고, 가장 넓은 범위로 사용되며, 구체적으로는, 예를 들어, 단클론성 항체(작용제, 길항제, 중화 항체, 전장 또는 무손상 단클론성 항체를 포함), 폴리클로날 또는 모노클로날 특이성을 갖는 항체 조성물, 다클론성 또는 1가 항체, 다가 항체, 다중 특이성 항체(예를 들어, 목적하는 생물학적 활성을 나타낸다면 이중특이성 항체)를 아우르며, 아래에 기재하는 바와 같이, 적어도 2개의 무손상 항체, 단일쇄 항체 및 이들의 단편(예를 들어, 도메인 항체)으로부터 형성된다. 항체는 인간, 인간화, 키메라 및/또는 친화도 성숙뿐만 아니라 다른 종, 예를 들어, 마우스, 토끼,

라마 등으로부터의 항체일 수 있다. 용어 "항체"는 특정 분자 항원에 결합할 수 있고 폴리펩타이드 쇠의 2개의 동일한 쌍으로 구성된 폴리펩타이드의 면역글로불린 부류 내의 B 세포의 폴리펩타이드 생성물을 포함하는 것으로 의도되되, 각각의 쌍은 1개의 중쇄(약 50 내지 70kDa) 및 1개의 경쇄(약 25kDa)를 갖고, 각 쇠의 각 아미노-말단 부분은 약 100 내지 약 130개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함하고, 각 쇠의 각 카복시-말단 부분은 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 문헌[*Antibody Engineering* (Borrebæck ed., 2d ed. 1995); 및 Kuby, *Immunology* (3d ed. 1997)]을 참조한다. 항체는 또한 합성 항체, 재조합적으로 생성된 항체, 낙타과 종(예를 들어, 라마 또는 알파카)을 포함하는 단일 도메인 항체 또는 이들의 인간화된 변이체, 인트라바디, 항-유전자형(항-Id) 항체 및 상기 중 어느 것의 기능성 단편(예를 들어, 항원-결합 단편)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않으며, 이런 기능성 단편은 단편이 유래된 항체의 결합 활성 중 일부 또는 모두를 보유하는 항체 중쇄 또는 경쇄 폴리펩타이드의 일부를 지칭한다. 기능성 단편(예를 들어, 항원-결합 단편)의 비제한적 예는 단일쇄 Fv(scFv)(예를 들어, 단일특이성, 이중특이성 등을 포함), Fab 단편, F(ab') 단편, F(ab)₂ 단편, F(ab')₂ 단편, 이항화연결된 Fv(dsFv), Fd 단편, Fv 단편, 다이아바디, 트라이아바디, 테트라바디 및 미니바디를 포함한다. 특히, 본 명세서에 제공된 항체는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 부분, 예를 들어, 항원에 결합하는 항원 결합 부위(예를 들어, 항체의 하나 이상의 CDR)를 포함하는 항원-결합 도메인 또는 분자를 포함한다. 이러한 항체 단편은, 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (1989); *Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference* (Myers ed., 1995); Huston *et al.*, 1993, *Cell Biophysics* 22:189-224; Plückthun and Skerra, 1989, *Meth. Enzymol.* 178:497-515; 및 Day, *Advanced Immunochemistry* (2d ed. 1990)]에서 찾을 수 있다. 본 명세서에 제공된 항체는 임의의 부류(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD 및 IgA) 또는 임의의 하위부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2)의 면역글로불린 분자를 가질 수 있다. 항체는 작용성 항체 또는 길항성 항체일 수 있다. 항체는 작용성도 또는 길항성도 아닐 수 있다.

[0050] "항원"은 항체가 선택적으로 결합하는 구조이다. 표적 항원은 폴리펩타이드, 탄수화물, 핵산, 지질, 합텐 또는 기타 천연 유래 또는 합성 화합물일 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 항원은 폴리펩타이드이다. 특정 실시형태에서, 항원은 세포와 연관되며, 예를 들어, 세포 상에 또는 세포에 존재한다.

[0051] "무손상" 항체는 항원-결합 부위뿐만 아니라 CL 및 적어도 중쇄 불변 영역, CH1, CH2 및 CH3을 포함하는 것이다. 불변 영역은 인간 불변 영역 또는 이의 아미노산 서열 변이체를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 무손상 항체는 하나 이상의 효과기 기능을 갖는다.

[0052] "sFv" 또는 "scFv"로도 약칭되는 "단일쇄 Fv"는 단일 폴리펩타이드 쇠에 연결된 VH 및 VL 항체 도메인을 포함하는 항체 단편이다. 바람직하게는, sFv 폴리펩타이드는 VH와 VL 도메인 사이에 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함하는데 이는 sFv가 항원 결합을 위한 목적하는 구조를 형성하는 것을 가능하게 한다. sFv의 검토를 위해, 문헌[Plückthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다.

[0053] 용어 "중쇄-단독 항체" 또는 "HCAb"는 중쇄를 포함하지만, 4-쇄 항체에서 보통 발견되는 경쇄를 결여하는 기능성 항체를 지칭한다. 낙타과 동물(예컨대 낙타, 라마 또는 알파카)은 HCAb를 생성하는 것으로 알려져 있다.

[0054] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "단일 도메인 항체" 또는 "sdAb"는 항원 결합할 수 있는 단일 단량체 가변 항체 도메인을 지칭한다(예를 들어, CD20, CD19 또는 CD22에 결합하는 단일 도메인 항체). 단일 도메인 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같은 VHH 도메인을 포함한다. 단일 도메인 항체의 예는 자연적으로 경쇄가 결핍된 항체, 예컨대, 낙타과 종(예를 들어, 라마)으로부터의 항체, 통상적인 4-쇄 항체로부터 유래된 단일 도메인 항체, 조각된 항체 및 항체로부터 유래된 것 이외의 단일 도메인 스캐폴드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 단일 도메인 항체는 마우스, 인간, 낙타, 라마, 염소, 토끼 및 소를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 단일 도메인 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같이 낙타과 종, 예를 들어, 낙타, 라마, 단봉 낙타, 알파카 및 과나코에서 상승된 항체로부터 유래될 수 있다. 낙타과 이외의 다른 종은 자연적으로 경쇄가 결핍된 중쇄 항체를 생성할 수 있고; 이러한 다른 종으로부터 유래된 VHH는 본 개시내용의 범주 이내이다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 단일 도메인 항체(예를 들어, VHH)는 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4의 구조를 갖는다. 단일 도메인 항체는 본 명세서에 기재된 바와 같이 다른 분자(예를 들어, 제제)에 유전적으로 융합되거나 화학적으로 접합될 수 있다. 단일 도메인 항체는 더 큰 결합 분자(예를 들어, 다중특이성 항체 또는 키메라 항원 수용체)의 부분일 수 있다.

- [0055] 용어 "결합하다" 또는 "결합하는"은, 예를 들어, 복합체 형성을 포함하는, 분자 사이의 상호작용을 지칭한다. 상호작용은, 예를 들어, 수소 결합, 이온 결합, 소수성 상호작용 및/또는 반데르 발스 상호작용을 비롯한, 비공유 상호작용일 수 있다. 복합체는 또한 공유 또는 비공유 결합, 상호작용 또는 힘에 의해 함께 보유되는 2개 이상의 분자의 결합을 포함할 수 있다. 항체 상의 단일 항원-결합 부위와 표적 분자, 예컨대, 항원의 단일 에피토프 사이의 총 비공유 상호작용 강도는 해당 에피토프에 대한 항체 또는 단편의 친화도이다. 1가 항원에 대한 결합 분자(예를 들어, 항체)의 해리 속도(k_{off}) 대 결합 속도(k_{on})의 비(k_{off}/k_{on})는 친화도와 반비례 관계가 있는 해리 상수 K_D 이다. K_D 값이 낮을수록, 항체 친화도는 높다. K_D 의 값은 항체와 항원의 상이한 복합체에 대해 다르며, k_{on} 과 k_{off} 둘 다에 따른다. 본 명세서에 제공된 항체에 대한 해리 상수 K_D 는 본 명세서에 제공된 임의의 방법 또는 당업자에게 잘 공지된 임의의 다른 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 하나의 결합 부위에서 친화도는 항체와 항원 사이의 상호작용의 진정한 강도를 항상 반영하지는 않는다. 다중, 반복 항원 결정인자, 예컨대, 다가 항원을 포함하는 복잡한 항원이 다중 결합 부위를 포함하는 항체와 접촉할 때, 하나의 부위에서 항체와 항원의 상호작용은 제2 부위에서의 반응 가능성을 증가시킬 것이다. 다가 항체와 항원 사이의 이러한 다중 상호작용 강도는 결합활성으로 불린다.
- [0056] 본 명세서에 기재된 결합 분자와 관련하여, "~에 결합하다", "~에 특이적으로 결합하다" 및 유사한 용어와 같은 용어는 또한 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되며, 폴리펩타이드와 같은 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인의 결합 분자를 지칭한다. 항원에 결합하거나 특이적으로 결합하는 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은, 예를 들어, 면역분석, Octet[®], Biacore[®] 또는 당업자에게 공지된 다른 기법에 의해 확인될 수 있다. 일부 실시형태에서, 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은, 방사면역측정법(RIA) 및 효소결합면역흡착측정법(ELISA)과 같은 실험 기법을 이용하여 결정되는 바와 같은 임의의 교차-반응 항원보다 높은 친화도로 항원에 결합할 때, 항원에 결합 또는 특이적으로 결합한다. 전형적으로, 특정 또는 선택적 반응은 적어도 2회의 배경 신호 또는 노이즈이고, 10회 초과인 배경일 수 있다. 예를 들어, 결합 특이성에 관한 논의를 위해 문헌[Fundamental Immunology 332-36 (Paul ed., 2d ed. 1989)]을 참조한다. 특정 실시형태에서, "비-표적" 단백질에 대한 결합 분자 또는 항원 결합 도메인의 결합 정도는, 예를 들어, 형광 활성화 세포 분류(FACS) 분석 또는 RIA에 의해 결정되는 바와 같이, 특정 표적 항원에 대한 결합 분자 또는 항원 결합 도메인 결합의 약 10% 미만이다. 항원에 결합하는 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은, 결합 분자가, 예를 들어, 항원을 표적으로 함에 있어서 치료제 및/또는 진단제로서 유용하도록, 충분한 친화도로 항원에 결합할 수 있는 것을 포함한다. 특정 실시형태에서, 항원에 결합하는 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은 해리상수(K_D)가 1 μ M, 800nM, 600nM, 550nM, 500nM, 300nM, 250nM, 100nM, 50nM, 10nM, 5nM, 4nM, 3nM, 2nM, 1nM, 0.9nM, 0.8nM, 0.7nM, 0.6nM, 0.5nM, 0.4nM, 0.3nM, 0.2nM 또는 0.1nM 이하이다. 특정 실시형태에서, 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은 상이한 종으로부터의 항원에서 보존된 항원의 에피토프에 결합한다.
- [0057] 특정 실시형태에서, 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은, 이들이 목적하는 생물학적 활성을 나타낸다면, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래된 항체에서 대응하는 서열과 동일하거나 상동성이거나 또는 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 한편, 쇄(들)의 나머지는 다른 종으로부터 유래된 항체에서 대응하는 서열과 동일하거나 상동성이거나, 또는 다른 항체 부류 또는 하위부류, 이러한 항체의 단편에 속하는 "키메라" 서열을 포함한다(미국 특허 제4,816,567호; 문헌[Morrison *et al.*, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-55] 참조). 키메라 서열은 인간화된 서열을 포함할 수 있다.
- [0058] 특정 실시형태에서, 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은 인간 면역글로불린으로부터의 서열을 포함하는 비인간(예를 들어, 낙타과, 무린, 비인간 영장류) 항체(예를 들어, 수용자 항체)의 "인간화된" 형태의 일부를 포함할 수 있으며, 이때 천연 CDR 잔기는 목적하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비인간 종(예를 들어, 공여자 항체), 예컨대, 낙타과, 마우스, 래트, 토끼 또는 비인간 영장류의 대응하는 CDR로부터의 잔기로 대체된다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린 서열의 하나 이상의 FR 영역 잔기는 대응하는 비인간 잔기로 대체된다. 더 나아가, 인간화된 항체는 수용자 항체에서 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 추가로 개선시키도록 만들어진다. 인간화된 항체 중쇄 또는 경쇄는 적어도 하나 이상의 가변 영역의 실질적으로 모두를 포함할 수 있으며, 이때 CDR의 모두 또는 실질적으로 모두가 비인간 면역글로불린에 대응하고, FR의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 면역글로불린 서열에 대응한다. 특정 실시형태에서, 인간화된 항체는 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함할 것이다. 추가적인 상세한 설명을 위해, 문헌[Jones *et al.*, Nature 321:522-25 (1986); Riechmann *et al.*, Nature 332:323-29 (1988); Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-96 (1992); Carter *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA

89:4285-89 (1992)]; 미국 특허 제6,800,738호; 제6,719,971호; 제6,639,055호; 제6,407,213호; 및 제 6,054,297호를 참조한다.

[0059] 특정 실시형태에서, 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은 "완전 인간 항체" 또는 "인간 항체"의 일부를 포함할 수 있되, 상기 용어는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되고, 인간 가변 영역 및, 예를 들어, 인간 불변 영역을 포함하는 항체를 지칭한다. 결합 분자는 단일 도메인 항체 서열을 포함할 수 있다. 구체적 실시형태에서, 상기 용어는 인간 유래의 가변 영역 및 불변 영역을 포함하는 항체를 지칭한다. "완전 인간" 항체는, 특정 실시형태에서, 또한 폴리펩타이드에 결합하고 인간 생식계열 면역글로불린 핵산 서열의 천연 유래 체세포 변이체인 핵산 서열에 의해 암호화되는 항체를 포함할 수 있다. 용어 "완전 인간 항체"는 Kabat 등에 의해 기재되는 바와 같이 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 대응하는 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함한다 (문헌[Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조). "인간 항체"는 인간에 의해 생성된 항체에 대응하는 아미노산 서열을 갖고/갖거나 인간 항체의 제조를 위한 임의의 기법을 이용하여 생성된 항체이다. 인간 항체의 이런 정의는 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화된 항체를 구체적으로 제외한다. 인간 항체는 파지-디스플레이 라이브러리(Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.* 227:381 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222:581 (1991)) 및 효모 디스플레이 라이브러리(Chao *et al.*, *Nature Protocols* 1: 755-68 (2006))를 포함하는 당업계에서 공지된 다양한 기법을 이용하여 생성될 수 있다. 또한 인간 단클론성 항체의 제조를 위해 문헌[Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77 (1985); Boerner *et al.*, *J. Immunol.* 147(1):86-95 (1991); 및 van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001)]에 기재된 방법을 이용 가능하다. 인간 항체는 항원 시험감염에 반응하여 이러한 항체를 생성하도록 변형되었지만, 내인성 좌위는 이용할 수 없는 유전자이식 동물, 예를 들어, 마우스에 항원을 투여함으로써 제조될 수 있다(예를 들어, XENOMOUSE™ 기술에 관해 문헌[Jakovovits, *Curr. Opin. Biotechnol.* 6(5):561-66 (1995); Brüggemann and Taussing, *Curr. Opin. Biotechnol.* 8(4):455-58 (1997)]; 및 미국 특허 제6,075,181호 및 제6,150,584호 참조). 또한, 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체에 관해, 예를 들어, 문헌[Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:3557-62 (2006)]을 참조한다.

[0060] 특정 실시형태에서, 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은 "재조합 인간 항체"의 일부를 포함할 수 있되, 상기 어구는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 인간 항체, 예컨대, 숙주 세포에 형질감염된 재조합 발현 벡터를 이용하여 발현된 항체, 재조합체로부터 단리된 항체, 조합 인간 항체 라이브러리, 인간 면역글로불린 유전자에 대해 유전자이식 및/또는 염색체 이식인 동물(예를 들어, 마우스 또는 소)로부터 단리된 항체(예를 들어, 문헌[Taylor, L. D. *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295 (1992)] 참조) 또는 인간 면역글로불린 유전자 서열의 다른 DNA 서열로의 스플라이싱을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함한다. 이러한 재조합 인간 항체는 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 가질 수 있다(문헌[Kabat, E. A. *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조). 특정 실시형태에서, 그러나, 이러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이유발(또는 인간 Ig 서열에 대한 동물 유전자이식이 사용될 때, 생체내 체세포 돌연변이유발) 처리되며, 따라서, 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은, 인간 생식계열 VH 및 VL 서열로부터 유래되거나 관련되지만, 생체내 인간 항체 생식계열 레퍼토리 내에서 자연적으로 존재하지 않을 수도 있는 서열이다.

[0061] 특정 실시형태에서, 결합 분자 또는 항원 결합 도메인은 "단클론성 항체"의 일부를 포함할 수 있되, 본 명세서에서 사용되는 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 동종인 항체의 집단으로부터 얻으며, 예를 들어, 집단을 포함하는 개개 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 유래 돌연변이 또는 잘 공지된 번역 후 변형, 예컨대, 아미노산 이성질체화 또는 탈아미드화, 메티오닌 산화 또는 아스파라긴 또는 글루타민 탈아미드화를 제외하고 동일하며, 각각의 단클론성 항체는 전형적으로 항원 상의 단일 에피토프를 인식할 것이다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "단클론성 항체"는 단일 하이브리도마 또는 기타 세포에 의해 생성되는 항체이다. 용어 "단클론성"은 항체의 제조를 위해 임의의 특정 방법으로 제한되지 않는다. 예를 들어, 본 개시내용에서 유용한 단클론성 항체는 문헌[Kohler *et al.*, *Nature* 256:495 (1975)]에 의해 처음 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 박테리아 또는 진핵 동물 또는 식물 세포에서 재조합 DNA 방법을 이용하여 제조될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조). "단클론성 항체"는, 예를 들어, 문헌[Clackson *et al.*, *Nature* 352:624-28 (1991) 및 Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222:581-97 (1991)]에 기재된 기법을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 클론 세포주 및 이에 의해 발현된 단클론성 항체

의 제조를 위한 다른 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel *et al.* eds., 5th ed. 2002)]을 참조한다.

[0062] 전형적인 4-쇄 항체 단위는 2개의 동일한 경(L) 쇠 및 2개의 동일한 중(H) 쇠로 구성된 이형이량체 당단백질이다. IgG의 경우에, 4-쇄 단위는 일반적으로 약 150,000 달톤이다. 각각의 L 쇠는 하나의 공유 이황화 결합에 의해 H 쇠에 연결되는 한편, 2개의 H 쇠는 H 쇠 아이소타입에 따라서 하나 이상의 이황화 결합에 의해 서로 연결된다. 각각의 H 및 L 쇠는 또한 규칙적으로 간격을 둔 쇠내 이황화 브리지를 가진다. 각각의 H 쇠는 N-말단에서, α 및 γ 쇠 각각에 대해 가변 도메인(VH) 다음에 3개의 불변 도메인(CH) 및 μ 및 ϵ 아이소타입에 대해 4개의 CH 도메인을 가진다. 각각의 L 쇠는 N-말단에서, 가변 도메인(VL) 다음에 이의 다른 말단에서 불변 도메인(CL)을 가진다. VL은 VH와 함께 정렬되고, CL은 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)과 함께 정렬된다. 특정 아미노산 잔기는 경쇄와 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성하는 것으로 여겨진다. VH와 VL의 쌍은 함께 단일 항원-결합 부위를 형성한다. 상이한 부류의 항체의 구조 및 특성에 대해, 예를 들어, 문헌[Basic and Clinical Immunology 71 (Stites *et al.* eds., 8th ed. 1994); 및 Immunobiology (Janeway *et al.* eds., 5th ed. 2001)]을 참조한다.

[0063] 용어 "Fab" 또는 "Fab 영역"은 항원에 결합하는 항체 영역을 지칭한다. 통상적인 IgG는 보통 2개의 Fab 영역을 포함하며, 각각은 Y-형 IgG 구조의 2개 아암 중 하나에 존재한다. 각각의 Fab 영역은 전형적으로 중쇄 및 경쇄 각각의 하나의 가변 영역 및 하나의 불변 영역으로 구성된다. 더 구체적으로는, Fab 영역에서 중쇄의 가변 영역 및 불변 영역은 VH 및 CH1 영역이고, Fab 영역에서 경쇄의 가변 영역 및 불변 영역은 VL 및 CL 영역이다. Fab 영역에서 VH, CH1, VL 및 CL은 본 개시내용에 따른 항원 결합 능력을 부여하기 위해 다양한 방법으로 배열될 수 있다. 예를 들어, VH 및 CH1 영역은 하나의 폴리펩타이드 상에 있을 수 있고, VL 및 CL 영역은 통상적인 IgG의 Fab 영역과 유사하게 별도의 폴리펩타이드 상에 있을 수 있다. 대안적으로, VH, CH1, VL 및 CL 영역은 모두 동일한 폴리펩타이드 상에 있을 수 있고, 아래 부문에서 더욱 상세하게 기재되는 바와 같이 상이한 순서로 배향된다.

[0064] 용어 "가변 영역", "가변 도메인", "V 영역" 또는 "V 도메인"은 경쇄 또는 중쇄의 아미노 말단에 일반적으로 위치되고 중쇄에서 약 120 내지 130개의 아미노산 및 경쇄에서 약 100 내지 110개의 아미노산 길이를 갖는 항체의 경쇄 또는 중쇄 부분을 지칭하며, 특정 항원에 대해 각 특정 항체의 결합 및 특이성에서 사용된다. 중쇄의 가변 영역은 "VH"로서 지칭될 수 있다. 경쇄의 가변 영역은 "VL"로서 지칭될 수 있다. 용어 "가변"은 가변 영역의 특정 세그먼트가 항체 중에서 서열이 광범위하게 다르다는 사실을 지칭한다. V 영역은 항원 결합을 매개하고, 특정 항원에 대해 특정 항체의 특이성을 정한다. 그러나, 가변성은 가변 영역의 110개 아미노산 스팬(span)에 걸쳐 균일하게 분포되지 않는다. 대신에, V 영역은 각각 약 9 내지 12개의 아미노산 길이인 "초가변 영역"으로 불리는 더 큰 가변성(예를 들어, 극도의 가변성)의 보다 짧은 영역에 의해 분리되는 약 15 내지 30개 아미노산의 프레임워크 영역(FR)으로 불리는 덜 가변성(예를 들어, 상대적으로 비변이체)인 신장부로 이루어진다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은, 루프 연결을 형성하고, 일부 경우에 β 시트 구조의 부분을 형성하는 3개의 초가변 영역에 의해 연결되는 β 시트 입체배치를 대부분 채택하는, 4개의 FR을 각각 포함한다. 각각의 쇠에서 초가변 영역은 FR에 의해 근위에서 함께 보유되고, 다른 쇠로부터의 초가변 영역과 함께, 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다(예를 들어, 문헌[Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th ed. 1991)]을 참조한다). 불변 영역은 항원에 대한 항체의 결합에 직접적으로 관련되지는 않지만, 다양한 효과기 기능, 예컨대, 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC) 및 보체 의존적 세포독성(CDC)에의 항체 참여를 나타낸다. 가변 영역은 상이한 항체 사이에서 서열이 광범위하게 다르다. 구체적 실시형태에서, 가변 영역은 인간 가변 영역이다.

[0065] 용어 "Kabat에 따른 가변 영역 잔기 넘버링" 또는 "Kabat에서와 같은 아미노산 위치 넘버링" 및 이들의 변형은 문헌[Kabat *et al.*, 상기 참조]에서 항체 편집본의 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역에 대해 사용한 넘버링 시스템을 지칭한다. 이 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 CDR의 단축 또는 삽입에 대응하는 소수의 또는 추가적인 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 잔기 52 다음의 단일 아미노산 삽입(Kabat에 따라 잔기 52a) 및 잔기 82 다음에 3개의 삽입된 잔기(예를 들어, Kabat에 따라 잔기 82a, 82b 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 Kabat 넘버링은 "표준" Kabat 넘버링된 서열과 항체 서열의 상동성 영역에서 정렬에 의해 주어진 항체에 대해 결정될 수 있다. Kabat 넘버링 시스템은 일반적으로 가변 도메인의 잔기(대략 경쇄의 잔기 1 내지 107 및 중쇄의 잔기 1 내지 113)를 지칭할 때 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat *et al.*, 상기 참조]). "EU 넘버링 시스템" 또는 "EU 지표"는 일반적으로 면역글로불린 중쇄 불변 영역에서 잔기를 지칭할 때 일반적으로 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat *et al.*, 상기 참조]에서 보고된 EU 지표). "Kabat에서와 같은 EU 색인"은 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다. 다른 넘버링 시스

템, 예를 들어, AbM, Chothia, Contact, IMGT 및 AHon이 기재되었다.

[0066] 항체와 관련하여 사용될 때 용어 "중쇄"는 약 50 내지 70 kDa의 폴리펩타이드 쇄를 지칭하되, 아미노-말단의 부분은 약 120 내지 130개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함하고, 카복시-말단의 부분은 불변 영역을 포함한다. 불변 영역은 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열에 기반하여, 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ϵ), 감마(γ) 및 뮤(μ)로서 지칭되는 5개의 별개의 유형(예를 들어, 아이소타입) 중 하나일 수 있다. 별도의 중쇄는 크기가 상이하며: α , δ 및 γ 는 대략 450개의 아미노산을 포함하는 반면, μ 및 ϵ 는 대략 550개의 아미노산을 포함한다. 경쇄와 조합할 때, 중쇄의 이들 별도의 유형은 IgG의 4개의 하위 부류, 즉, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하는, 5가지의 잘 알려진 부류(예를 들어, 아이소타입)의 항체인 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM을 생성한다.

[0067] 항체와 관련하여 사용될 때 용어 "경쇄"는 약 25kDa의 폴리펩타이드 쇄를 지칭하되, 아미노-말단의 부분은 약 100 내지 약 110개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함하고, 카복시-말단의 부분은 불변 영역을 포함한다. 경쇄의 대략적인 길이는 211 내지 217개의 아미노산이다. 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반하여 카파(κ) 또는 람다(λ)로서 지칭되는 2개의 별개의 유형이 있다.

[0068] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "초가변 영역", "HVR", "상보성 결정 영역" 및 "CDR"은 상호 호환적으로 사용된다. "CDR"은 면역글로불린(Ig 또는 항체) VH β -시트 프레임워크의 비-프레임워크 영역 내의 3개의 초가변 영역(H1, H2 또는 H3) 중 하나, 또는 항체 VL β -시트 프레임워크의 비프레임워크 영역 내에서 3개의 초가변 영역(L1, L2 또는 L3) 중 하나를 지칭한다. 따라서, CDR은 프레임워크 영역 서열 내에 배치되는 가변 영역 서열이다.

[0069] CDR 영역은 당업자에게 잘 공지되어 있고, 잘 공지된 넘버링 시스템에 의해 규정되었다. 예를 들어, Kabat 상보성 결정 영역(CDR)은 서열 가변성에 기반하며, 가장 통상적으로 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat *et al.*, 상기 참조] 참조). Chothia는 대신에 구조적 루프의 위치를 언급한다(예를 들어, 문헌[Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-17 (1987)] 참조). Kabat 넘버링 체계를 이용하여 넘버링될 때 Chothia CDR-H1 루프의 단부는 루프 길이에 따라서 H32 내지 H34로 변한다(이는 Kabat 넘버링 체계가 H35A 및 H35B에서 삽입을 위치시키기 때문이며; 35A도 35B도 존재하지 않는 경우, 루프는 32에서 종결되고; 35A만이 존재한다면, 루프는 33에서 종결되고; 35A와 35B가 둘 다 존재한다면, 루프는 34에서 종결된다). AbM 초가변 영역은 Kabat CDR과 Chothia 구조적 루프 사이의 절충을 나타내며, 옥스포드 몰레큘러(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다(예를 들어, 문헌[Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and **Dübel** eds., 2d ed. 2010)] 참조). "Contact" 초가변 영역은 이용 가능한 복합체 결정 구조의 분석에 기반한다. 개발되고 널리 채택되는 다른 보편적인 넘버링 시스템은 ImMunoGeneTics(IMG) Information System[®](Lafranc *et al.*, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77 (2003))이다. IMGT는 인간 및 기타 척추동물의 면역글로불린(IG), T-세포 수용체(TCR) 및 구조적 적합 복합체(MHC)에서 전문화되는 통합된 정보 시스템이다. 본 명세서에서, CDR은 경쇄와 중쇄 내의 아미노산 서열과 위치 둘 다에 관해 지칭된다. 면역글로불린 가변 도메인 구조 내에서 CDR의 "위치"는 종 간에 보존되고 루프로 불리는 구조로 존재하기 때문에, 구조적 특징에 따라 가변 도메인 서열을 정렬하는 넘버링 시스템을 이용함으로써, CDR 및 프레임워크 잔기는 용이하게 확인된다. 이 정보는 CDR 잔기를 하나의 종의 면역글로불린으로부터 전형적으로 인간 항체로부터의 수용자(acceptor) 프레임워크에 이식하고 대체하는 데 사용될 수 있다. 추가적인 넘버링 시스템(AHon)은 문헌[Honegger and **Plückthun**, J. Mol. Biol. 309: 657-70 (2001)]에 의해 발생되었다. 예를 들어, Kabat 넘버링 및 IMGT 고유 넘버링 시스템을 비롯한 넘버링 시스템 사이의 대응도는 당업자에게 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Kabat, 상기 참조; Chothia and Lesk, 상기 참조; Martin, 상기 참조; Lefranc *et al.*, 상기 참조] 참조). 이들 초가변 영역 또는 CDR 각각으로부터의 잔기를 아래의 표 1에서 예시한다.

표 1

다양한 넘버링 시스템에 따른 예시적인 CDR

루프	Kabat	AbM	Chothia	Contact	IMGT
CDR L1	L24--L34	L24--L34	L26--L32 또는 L24--L34	L30--L36	L27--L38
CDR L2	L50--L56	L50--L56	L50--L52 또는 L50--L56	L46--L55	L56--L65
CDR L3	L89--L97	L89--L97	L91--L96 또는 L89--L97	L89--L96	L105-L117
CDR H1	H31--H35B (Kabat 넘버링)	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B	H27--H38
CDR H1	H31--H35 (Chothia 넘버링)	H26--H35	H26--H32	H30--H35	
CDR H2	H50--H65	H50--H58	H53--H55 또는 H52--H56	H47--H58	H56--H65
CDR H3	H95--H102	H95--H102	H96--H101 또는 H95--H102	H93--H101	H105-H117

[0070]

[0071]

주어진 CDR의 경계는 식별을 위해 사용되는 체계에 따라 다를 수 있다. 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 주어진 항체 또는 이의 영역, 예컨대, 가변 영역의 "CDR" 및 "상보성 결정 영역"이라는 용어뿐만 아니라 항체 또는 이의 영역의 개개 CDR(예를 들어, CDR-H1, CDR-H2)은 본 명세서에서 상기 기재된 임의의 알려진 체계에 의해 정의된 바와 같은 상보성 결정 영역을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 일부 예에서, IMGT, Kabat, Chothia 또는 Contact 방법에 의해 정의된 바와 같은 CDR과 같이 특정 CDR 또는 CDR들의 식별을 위한 체계가 명시된다. 일부 예에서, Kabat 넘버링에 따른 하나 이상의 위치는 실제 서열에서는 점유되지 않을 수도 있고, 또는 실제 서열은 Kabat 넘버링에 의해 가능하게 되는 수보다 더 많은 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 예를 들어, Kabat에 따른 VHH 도메인에 대한 예시적인 넘버링에 대해 문헌[Deschacht *et al.*, 2010. J Immunol 184: 5696-704]을 참조한다. 다른 경우에, CDR의 특정 아미노산 서열이 주어진다. CDR 영역은 또한 다양한 넘버링 시스템의 조합, 예를 들어, Kabat와 Chothia 넘버링 시스템의 조합, 또는 Kabat와 IMGT 넘버링 시스템의 조합에 의해 정의될 수 있다는 것이 언급되어야 한다. 따라서, "특정 VH 또는 VHH에 제시된 바와 같은 CDR"과 같은 용어는 상기 기재된 예시적인 CDR 넘버링 시스템에 의해 정의된 바와 같은 임의의 CDR1을 포함하지만, 이에 의해 제한되지는 않는다. 일단 가변 영역(예를 들어, VHH, VH 또는 VL)이 주어진다, 당업자는 영역 내의 CDR이 상이한 넘버링 시스템 또는 이들의 조합에 의해 정의될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0072]

초가변 영역은 다음과 같이 "연장된 초가변 영역"을 포함할 수 있다: VL에서 24 내지 36 또는 24 내지 34(L1), 46 내지 56 또는 50 내지 56(L2), 및 89 내지 97 또는 89 내지 96(L3), 및 VH에서 26 내지 35 또는 26 내지 35A(H1), 50 내지 65 또는 49 내지 65(H2), 및 93 내지 102, 94 내지 102, 또는 95 내지 102(H3).

[0073]

용어 "불변 영역" 또는 "불변 도메인"은 항원에 대한 항체 결합에 직접 관련되지 않지만 Fc 수용체와의 상호작용과 같이 다양한 효과기 기능을 나타내는 경쇄 및 중쇄의 카복시 말단 부분을 지칭한다. 상기 용어는 면역글로불린의 다른 부분, 즉, 항원 결합 부위를 함유하는 가변 영역에 비해 더 보존된 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 분자의 부분을 지칭한다. 불변 영역은 중쇄의 CH1, CH2 및 CH3 영역 및 경쇄의 CL 영역을 함유할 수 있다.

[0074]

용어 "프레임워크" 또는 "FR"은 CDR에 측접하는 해당 가변 영역 잔기를 지칭한다. FR 잔기는, 예를 들어, 키메라, 인간화, 인간, 도메인 항체(예를 들어, 단일 도메인 항체), 다이머바디, 선형 항체 및 이중특이성 항체에 존재한다. FR 잔기는 초가변 영역 잔기 또는 CDR 잔기 이외의 해당 가변 도메인 잔기이다.

[0075]

본 명세서에서 용어 "Fc 영역"은, 예를 들어, 천연 서열 Fc 영역, 재조합 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 다를

수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 종종 위치 Cys226에서 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230로부터 이의 카복실-말단까지 신장되는 것으로 정의된다. Fc 영역의 C-말단의 리신(EU 넘버링 시스템에 따른 잔기 447)은, 예를 들어, 항체의 생성 또는 정제 동안, 또는 항체의 중쇄를 암호화하는 핵산을 재조합적으로 조합함으로써 제거될 수 있다. 따라서, 무손상 항체의 조성물은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 집단, K447 잔기가 제거되지 않은 항체 집단, 및 K447 잔기가 있는 항체와 없는 항체의 혼합물을 갖는 항체 집단을 포함할 수 있다. "기능성 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 "효과기 기능"을 갖는다. 예시적인 "효과기 기능"은 C1q 결합; CDC; Fc 수용체 결합; ADCC; 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향조절 등을 포함한다. 이러한 효과기 기능은 일반적으로 결합 영역 또는 결합 도메인(예를 들어, 항체 가변 영역 또는 도메인)과 조합될 Fc 영역을 필요로 하며, 당업자에게 공지된 다양한 분석을 이용하여 평가될 수 있다. "변이체 Fc 영역"은 적어도 하나의 아미노산 변형(예를 들어, 치환, 첨가 또는 결실)으로 인해 천연 서열 Fc 영역의 아미노산 서열과 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역에서 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역에서 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역과 비교하여 적어도 1개의 아미노산 치환, 예를 들어, 약 1 내지 약 10개의 아미노산 치환, 또는 약 1 내지 약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 본 명세서의 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 및/또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역과 적어도 약 80% 상동성, 또는 이와 적어도 약 90% 상동성, 예를 들어, 이와 적어도 약 95% 상동성을 가질 수 있다.

[0076] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "에피토프"는 당업계의 용어이며, 결합 분자(예를 들어, 단일 도메인 항체 서열을 포함하는 항체)가 특이적으로 결합하는 항원의 국제화된 영역을 지칭한다. 에피토프는 선형 에피토프 또는 입체구조적, 비선형 또는 불연속 에피토프일 수 있다. 폴리펩타이드 항원의 경우에, 예를 들어, 에피토프는 폴리펩타이드의 인접한 아미노산("선형" 에피토프)일 수 있거나 또는 에피토프는 폴리펩타이드의 둘 이상의 비인접 영역으로부터의 아미노산을 포함할 수 있다("입체구조적", "비선형" 또는 "불연속" 에피토프). 당업자는, 일반적으로, 선형 에피토프가 2차, 3차 또는 4차 구조에 따를 수도 있고 따르지 않을 수도 있다는 것을 인식할 것이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 결합 분자는, 이들이 천연 3차원 단백질 구조에서 폴딩되는지의 여부와 상관없이 아미노산 기에 결합한다. 다른 실시형태에서, 결합 분자는 에피토프를 인식하고 결합하기 위해 특정 입체구조(예를 들어, 굽힘, 트위스트, 턴 또는 폴딩)을 나타내도록 에피토프를 구성하는 아미노산 잔기를 필요로 한다.

[0077] "차단" 항체 또는 "길항제" 항체가 결합하는 항원의 생물학적 활성을 저해하거나 감소시키는 것이다. "일부 실시형태에서, 차단 항체 또는 길항제 항체는 항원의 생물학적 활성을 실질적으로 또는 완전히 저해한다.

[0078] "작용제" 또는 활성화 항체는 이것이 결합하는 항원에 의해 신호전달을 향상시키거나 개시하는 것이다. 일부 실시형태에서, 작용제 항체는 천연 리간드의 존재 없이 신호전달을 야기하거나 활성화시킨다.

[0079] 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 항체 서열에 대한 "아미노산 서열 동일성 백분율(%)" 및 "상동성"은, 필요하다면, 최대 서열 동일성 백분율을 달성하기 위해, 서열 동일성의 부분으로서 임의의 보존적 치환을 고려하지 않고, 서열을 정렬하고 갭을 도입한 후에, 특정 펩타이드 또는 폴리펩타이드 서열 내 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성 백분율을 결정하는 목적을 위한 정렬은, 예를 들어, 공중이 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 MEGALIGN™(DNASTAR) 소프트웨어를 이용하여 당업계의 기술 내인 다양한 방법으로 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하는 정렬을 측정하기 위한 적절한 매개변수를 결정할 수 있다.

[0080] 용어 "특이성"은 항원의 특정 에피토프에 대한 항원 결합 단백질(예컨대 CAR 또는 sdAb)의 선택적 인식을 지칭한다. 천연 항체는, 예를 들어, 단일특이성이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "다중특이성"은 항원 결합 단백질(예컨대, CAR 또는 sdAb)이 둘 이상의 항원-결합 부위를 갖고, 이 중 적어도 둘은 상이한 항원에 결합한다는 것을 나타낸다. 본 명세서에 사용된 "이중특이성"은 항원 결합 단백질(예컨대, CAR 또는 sdAb)이 2개의 상이한 항원-결합 특이성을 가진다는 것을 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "단일특이성" CAR은 하나 이상의 결합 부위를 갖고 이들 각각이 동일한 항원에 결합하는 항원 결합 단백질(예컨대, CAR 또는 sdAb)을 의미한다.

[0081] 본 명세서에서 사용되는 용어 "~가"는 항원 결합 단백질(예컨대, CAR 또는 sdAb) 내 결합 부위의 특정된 수의 존재를 의미한다. 예를 들어, 천연 항체 또는 전장 항체는 2개의 결합 부위를 가지며, 2가이다. 이렇게 해서, 용어 "3가", "4가", "5가" 및 "6가"는 항원 결합 단백질(예컨대, CAR 또는 sdAb) 내 각각 2개의 결합 부위, 3개의 결합 부위, 4개의 결합 부위, 5개의 결합부위 및 6개의 결합 부위의 존재를 나타낸다.

- [0082] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "키메라 항원 수용체" 또는 "CAR"은 하나 이상의 항원을 면역 효과기 세포, 예컨대, T 세포 상에 특이적으로 접합시키는 데 사용될 수 있는 유전적으로 조작된 수용체를 지칭한다. 일부 CAR은 "인공 T-세포 수용체", "키메라 T 세포 수용체" 또는 "키메라 면역 수용체"로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, CAR은 하나 이상의 항원(예컨대, 중앙 항원)에 특이적인 세포외 항원 결합 도메인, 막관통 도메인 및 T 세포 및/또는 다른 수용체의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. "CAR-T 세포"는 CAR을 발현시키는 T 세포를 지칭한다.
- [0083] 용어 "폴리펩타이드" 및 "펩타이드" 및 "단백질"은 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되고, 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭한다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있고, 이는 변형된 아미노산을 포함할 수 있고, 비아미노산에 의해 가로막힐 수 있다. 상기 용어는 또한 자연적으로 또는 개입; 예를 들어, 이황화결합 형성, 글리코실화, 절단, 아세틸화, 인산화 또는 임의의 다른 조작 또는 변형에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함한다. 또한, 예를 들어, 비천연 아미노산뿐만 아니라 당업계에 공지된 다른 변형을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 아미노산의 하나 이상의 유사체를 포함하는 폴리펩타이드가 정의 내에 포함된다. 본 개시내용의 폴리펩타이드는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 항체 또는 다른 구성원에 기반할 수 있기 때문에, 특정 실시형태에서, "폴리펩타이드"는 단일체로서 또는 둘 이상의 연관된 체로서 발생할 수 있다는 것이 이해된다.
- [0084] 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되는 바와 같은 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오타이드 중합체를 지칭하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해 또는 합성 반응에 의해 중합체에 혼입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대, 메틸화된 뉴클레오타이드 및 이들의 유사체를 포함할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "올리고뉴클레오타이드"는 반드시 아니지만 일반적으로 약 200개 미만 뉴클레오타이드 길이인 짧은, 일반적으로 단일 가닥의, 합성 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 용어 "올리고뉴클레오타이드" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 상호 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 위의 설명은 동일하며, 올리고뉴클레오타이드에 완전히 적용 가능하다. 본 개시내용의 결합 분자를 생성하는 세포는 모 하이브리도마 세포뿐만 아니라 항체를 암호화하는 핵산이 도입된 박테리아 및 진핵 숙주 세포를 포함할 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에 개시된 임의의 단일-가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 좌편 단부는 5' 단부이고; 이중-가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 좌편 방향은 5' 방향으로서 지칭된다. 초기 RNA 전사체의 5'에서 3'으로의 첨가 방향은 전사 방향으로서 지칭되고; RNA 전사체의 5'에서 5' 단부인 RNA 전사체와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥의 서열 영역은 "상류 서열"로서 지칭되고; RNA 전사체의 3'에서 3' 단부인 RNA 전사체와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 서열 영역은 "하류의 서열"로서 지칭된다.
- [0085] "단리된 핵산"은 핵산, 예를 들어, RNA, DNA, 또는 다른 게놈 DNA 서열로부터 실질적으로 분리되는 혼합된 핵산뿐만 아니라 단백질 또는 복합체, 예컨대, 천연 서열을 자연적으로 수반하는 리보솜 또는 중합효소이다. "단리된" 핵산 분자는 핵산 분자의 천연 공급원에 존재하는 다른 핵산 분자로부터 분리된 분자이다. 게다가, "단리된" 핵산 분자, 예컨대, cDNA 분자는 재조합 기법에 의해 생성될 때 다른 세포 물질 또는 배양물 배지가 실질적으로 없거나, 또는 화학적으로 합성될 때 화학물질 잔여물 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다. 구체적인 실시형태에서, 단일 도메인 항체 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체를 암호화하는 하나 이상의 핵산 분자는 단리 또는 정제된다. 상기 용어는 이들의 천연 유래 환경으로부터 제거되고, 재조합 또는 클로닝된 DNA 단리물 및 화학적으로 합성된 유사체 또는 이중 시스템에 의해 생물학적으로 합성된 유사체를 포함하는, 핵산 서열을 포함한다. 실질적으로 순수한 분자는 분자의 단리된 형태를 포함할 수 있다. 구체적으로는, 본 명세서에 기재된 CAR 또는 sdAb를 암호화하는 "단리된" 핵산 분자는 이것이 생성된 환경과 보통 연관되는 적어도 하나의 오염 핵산 분자로부터 확인되고 분리되는 핵산 분자이다.
- [0086] 용어 "제어 서열"은 특정 숙주 유기체에서 작동 가능하게 연결된 암호 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 지칭한다. 원핵생물에 적합한 제어 서열은, 예를 들어, 프로모터, 선택적으로 오퍼레이터 서열 및 리보솜 결합 부위를 포함한다. 진핵 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호 및 인핸서를 이용하는 것으로 알려져 있다.
- [0087] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "작동 가능하게 연결된" 및 유사한 어구(예를 들어, 유전적으로 융합된)는, 핵산 또는 아미노산과 관련하여 사용될 때, 서로 기능적 관계에 놓인 핵산 서열 또는 아미노산 서열의 작동적 결합을 각각 지칭한다. 예를 들어, 작동 가능하게 연결된 프로모터, 인핸서 요소, 오픈 리딩 프레임, 5' 및 3' UTR, 및 종결자 서열은 핵산 분자(예를 들어, RNA)의 정확한 생성을 초래한다. 일부 실시형태에서, 작동 가능하게 연결된 핵산 요소는 오픈 리딩 프레임의 전사 및 궁극적으로는 폴리펩타이드의 생성(즉, 오픈 리딩 프레임의 발현)을 초래한다. 다른 예로서, 작동 가능하게 연결된 펩타이드는 기능성 도메인이 각 도메인의 의도된 기능을

부여하기 위해 서로로부터 적절한 거리에 위치된 것이다.

- [0088] 용어 "백터"는, 예를 들어, 핵산 서열을 숙주 세포에 도입하기 위해, 본 명세서에 기재된 바와 같은 결합 분자 (예를 들어, 항체)를 암호화하는 핵산 서열을 포함하는, 핵산 서열을 운반하거나 포함하기 위해 사용되는 물질을 지칭한다. 사용에 적용 가능한 백터는, 예를 들어, 발현 백터, 플라스미드, 파지 백터, 바이러스 백터, 에피솜 및 인공 염색체를 포함하고, 이들은 숙주 세포의 염색체에 안정한 통합을 위해 작동 가능한 선택 서열 또는 마커를 포함할 수 있다. 추가적으로, 백터는 하나 이상의 선택 가능한 마커 유전자 및 적절한 발현 제어 서열을 포함할 수 있다. 포함될 수 있는 선택 가능한 마커 유전자는, 예를 들어, 항생제 또는 독소에 대한 내성, 보체 영양요구성 결핍증을 제공하거나, 배양 배지에 존재하지 않는 중요한 영양소를 공급한다. 발현 제어 서열은 당 업계에 잘 공지된 구성적 및 유도성 프로모터, 전사 인핸서, 전사 종결자 등을 포함할 수 있다. 둘 이상의 핵산 분자가 공동 발현될 때(예를 들어, 항체 중쇄와 경쇄 둘 다 또는 항체 VH와 VL), 핵산 분자는 둘 다, 예를 들어, 단일 발현 백터에 또는 별도의 발현 백터에 삽입될 수 있다. 단일 백터 발현에 대해, 암호화 핵산은 하나의 공통 발현 제어 서열에 작동적으로 연결되거나 또는 상이한 발현 제어 서열, 예컨대, 하나의 유도성 프로모터 및 하나의 구성적 프로모터에 연결될 수 있다. 숙주 세포 내로 핵산 분자의 도입은 당 업계에 잘 공지된 방법을 이용하여 확인될 수 있다. 이러한 방법은, 예를 들어, 핵산 분석, 예컨대, mRNA의 노던 블롯 또는 중합효소 연쇄반응(PCR) 증폭, 유전자 산물의 발현을 위한 면역블롯팅, 또는 도입된 핵산 서열 또는 이의 대응하는 유전자 산물 발현을 시험하기 위한 다른 적합한 분석 방법을 포함한다. 당업자라면 핵산 분자가 목적하는 생성물을 생성하기 위한 충분한 양으로 발현된다는 것을 이해하며, 추가로 발현 수준이 당 업계에 잘 공지된 방법을 이용하여 충분한 발현을 얻도록 최적화될 수 있다는 것을 이해한다.
- [0089] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "숙주"는 동물, 예컨대, 포유류(예를 들어, 인간)를 지칭한다.
- [0090] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "숙주 세포"는 핵산 분자 및 이러한 세포의 자손 또는 잠재적 자손으로 형질감염될 수 있는 특정 대상체 세포를 지칭한다. 이러한 세포의 자손은 숙주 세포 계능 내로의 핵산 분자의 계속되는 생성 또는 통합에서 일어날 수 있는 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 핵산 분자로 형질감염된 모 세포와 동일하지 않을 수도 있다.
- [0091] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "자가(autologous)"는 이후에 개체에 재도입될 동일 개체로부터 유래된 임의의 물질을 지칭하는 것으로 의도된다.
- [0092] "동종이계"는 동일한 종의 상이한 개체로부터 유래된 접합물을 지칭한다.
- [0093] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"은 내인성 핵산이 전달되거나 숙주 세포 내로 도입된 공정을 지칭한다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 세포는 내인성 핵산으로 형질감염되거나, 형질전환되거나 형질도입된 것이다. 세포는 1차 대상 세포 및 이의 자손을 포함한다.
- [0094] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "약제학적으로 허용 가능한"은 연방 또는 주정부의 규제기관에 의해 승인되거나, 미국 약전, 유럽 약전 또는 동물용, 더 구체적으로는 인간용으로 다른 일반적으로 인식되는 약전에 열거된 것을 의미한다.
- [0095] "부형제"는 약제학적으로-허용 가능한 물질, 조성물 또는 비히클, 예컨대, 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 용매 또는 캡슐화 물질을 의미한다. 부형제는, 예를 들어, 캡슐화 물질 또는 첨가제, 예컨대, 흡수 촉진제, 항산화제, 결합제, 완충제, 담체, 코팅제, 착색제, 희석제, 봉해제, 유화제, 증량제, 충전제, 향미제, 보습제, 윤활제, 향료, 보존제, 추진제, 이형제, 멸균제, 감미제, 가용화제, 습윤제 및 이들의 혼합물을 포함한다. 용어 "부형제"는 또한 희석제, 아쥘반트(예를 들어, 프로인드 아쥘반트(완전 또는 불완전) 또는 비히클을 지칭할 수 있다.
- [0096] 일부 실시형태에서, 부형제는 약제학적으로 허용 가능한 부형제이다. 약제학적으로 허용 가능한 부형제의 예는 완충제, 예컨대, 인산염, 시트르산염 및 다른 유기산; 아스코르브산을 포함하는 항산화제; 저분자량(약 10개 미만의 아미노산 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 알기닌 또는 라이신; 단당류, 이당류, 및 글리코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대, EDTA; 당 알코올, 예컨대, 만니톨 또는 솔비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대, 나트륨; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대, TWEEN™, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 PLURONIC™를 포함한다. 약제학적으로 허용 가능한 부형제의 다른 예는 문헌 [Remington and Gennaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990)]에 기재되어 있다.

- [0097] 일 실시형태에서, 각 성분은 약제학적 제형의 다른 성분과 양립 가능하고, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 면역원성 또는 다른 문제 또는 합병증 없이, 합리적인 유해/유익비에 비례하는, 인간 및 동물의 조직 또는 기관과 접촉하여 사용하기에 적합하다는 의미에서 "약제학적으로 허용 가능"하다. 예를 들어, 문헌[Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.; Rowe et al., Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd ed.; Ash and Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2nd ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 부형제는 사용되는 투약량 및 농도에서 이에 노출 중인 세포 또는 포유류에 대해 비독성이다. 일부 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 부형제는 수성 pH 완충 용액이다.
- [0098] 일부 실시형태에서, 부형제는 물, 및 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 유래의 오일, 예컨대, 땅콩유, 광유, 참깨유 등과 같은 멸균 액체이다. 물은 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)이 정맥내로 투여될 때 예시적인 부형제이다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액은 또한 특히 주사용 용액에 대해 액체 부형제로서 사용될 수 있다. 부형제는 또한 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 벼, 밀가루, 실리카겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함할 수 있다. 조성물은, 원한다면, 또한 소량의 습윤제 또는 유화제 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 조성물은 용액, 현탁액, 에멀션, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속 방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 제형을 포함하는 경구 조성물은 표준 부형제, 예컨대, 약제학적 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 사카린나트륨, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등을 포함할 수 있다.
- [0099] 약제학적 화합물을 포함하는 조성물은 적합한 양의 부형제와 함께 결합 분자(예를 들어, 항체)를, 예를 들어, 단리 또는 정제된 형태로 함유할 수 있다.
- [0100] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 목적하는 결과를 초래하기에 충분한, 본 명세서에 제공된 제제 및 단일 도메인 항체 또는 약제학적 조성물을 포함하는 단일 도메인 항체 또는 치료 분자의 양을 지칭한다.
- [0101] 용어 "대상체"와 "환자"는 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 특정 실시형태에서, 대상체는 포유류, 예컨대, 비영장류 또는 영장류(예를 들어, 인간)이다. 구체적 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 일 실시형태에서, 대상체는 질환 또는 장애로 진단된 포유류, 예를 들어, 인간이다. 다른 실시형태에서, 대상체는 질환 또는 장애가 발생할 위험에 있는 포유류, 예를 들어, 인간이다.
- [0102] "투여하다" 또는 "투여"는 점막, 진피내, 정맥내, 근육내 전달에 의해, 및/또는 본 명세서에 기재되거나 당업계에 공지된 임의의 다른 물리적 전달 방법에 의해 신체 외부에 존재하는 물질을 환자에게 주사하거나 다르게는 물리적으로 전달하는 행동을 지칭한다.
- [0103] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 1회 이상의 요법의 투여로부터 초래되는 질환 또는 병태의 진행, 중증도 및/또는 지속기간의 감소 또는 개선을 지칭한다. 치료는 환자가 여전히 기저 장애를 앓고 있을 수도 있지만, 환자에 의해 개선이 관찰되도록 기저 장애와 연관된 한 가지 이상의 증상의 감소, 경감 및/또는 완화가 있는지의 여부를 평가함으로써 결정될 수 있다. 용어 "치료하는"은 질환을 관리하고 호전시키는 것을 포함한다. 용어 "관리하다", "관리하는" 및 "관리"는 대상체가 질환의 치유를 반드시 초래하지는 않는 요법으로부터 얻는 유리한 효과를 지칭한다.
- [0104] 용어 "예방하다", "예방하는" 및 "예방"은 질환, 장애, 병태 또는 연관된 증상(들)(예를 들어, 당뇨병 또는 암)의 발병(또는 재발) 가능성을 감소시키는 것을 지칭한다.
- [0105] 본 명세서에 사용된 바와 같은, 암 발생을 "지연시키는"은 질환 발생을 연기시키고/시키거나, 방해하고/하거나, 늦추고/늦추거나, 지연시키고/시키거나 안정화시키고/시키거나, 미루는 것을 의미한다. 이 지연은 치료 중인 질환 및/또는 개체의 병력에 따라서 시간 길이가 다를 수 있다. 당업자에게 분명할 바와 같이, 충분한 또는 유의미한 지연은, 사실상, 개체에서 질환이 발생되지 않는다는 점에서 예방을 포함할 수 있다. 암 발생을 "지연시키는" 방법은, 방법을 이용하지 않을 때에 비해, 주어진 시간 틀에 질환 발생 가능성을 감소시키고/시키거나 주어진 시간틀에 질환 정도를 감소시키는 방법이다. 이러한 비교는 전형적으로 통계학적으로 유의한 수의 개체를 이용하는 임상 연구에 기반한다. 암 발생은 컴퓨터 축 단층촬영술(CAT 스캔), 자기 공명 영상(MRI), 복부 초음파, 응고 검사, 동맥조영법 또는 생검을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 표준 방법을 이용하여 검출 가능하다. 개발은 또한 초기에 검출 가능하지 않을 수 있고, 발생, 재발 및 개시를 포함하는 암 진행을 지칭할 수 있다.

- [0106] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "B 세포 연관 질환 또는 장애"는 B 세포에 의해 매개되거나 또는 비정상 B 세포 기능(예컨대, B-세포 기능의 조절장애)에 의해 부여되는 질환 또는 장애를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "B 세포 연관 질환 또는 장애"는 B 세포 악성종양, 예컨대, B 세포 백혈병 또는 B 세포 림프종을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이는 또한 가장자리구역 림프종(예를 들어, 비장 가장자리구역 림프종), 광범위 큰 B 세포 림프종(DLBCL), 맨틀 세포 림프종(MCL), 원발 중추 신경계(CNS) 림프종, 원발 종격동 B 세포 림프종(PMBL), 소형 림프구성 림프종(SLL), B 세포 전림프구성 백혈병(B-PLL), 소포 림프종(FL), 버킷 림프종, 원발성 안구내 림프종, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 모발세포 백혈병(HCL), 전구 B 세포 림프모구 백혈병, 비호지킨 림프종(NHL), 고등급 B-세포 림프종(HGBL) 및 다발성 골수종(MM)을 포함한다. "B 세포 연관 질환 또는 장애"는 또한 특정 자가면역 및/또는 염증성 질환, 예컨대, 부적절한 또는 향상된 B 세포 수 및/또는 활성화와 연관된 것을 포함한다.
- [0107] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "CD20 연관 질환 또는 장애"는 CD20이 발현되는 세포 또는 조직을 포함하는 질환 또는 장애를 지칭한다. 일부 실시형태에서, CD20 연관 질환 또는 장애는 CD20이 비정상적으로 발현되는 세포를 포함한다. 다른 실시형태에서, CD20 연관 질환 또는 장애는 CD20이 결핍된 세포를 포함한다.
- [0108] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "CD19 연관 질환 또는 장애"는 CD19가 발현되는 세포 또는 조직을 포함하는 질환 또는 장애를 지칭한다. 일부 실시형태에서, CD19 연관 질환 또는 장애는 CD19가 비정상적으로 발현되는, 예를 들어, 정상 세포보다 더 크게 발현되는 세포를 포함한다. 다른 실시형태에서, CD19 연관 질환 또는 장애는 CD19가 결핍된 세포를 포함한다.
- [0109] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "CD22 연관 질환 또는 장애"는 CD22가 발현되는 세포 또는 조직을 포함하는 질환 또는 장애를 지칭한다. 일부 실시형태에서, CD22 연관 질환 또는 장애는 CD22가 비정상적으로 발현되는 세포를 포함한다. 다른 실시형태에서, CD22 연관 질환 또는 장애는 CD22가 결핍된 세포를 포함한다.
- [0110] 용어 "약" 및 "대략"은 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내, 9% 이내, 8% 이내, 7% 이내, 6% 이내, 5% 이내, 4% 이내, 3% 이내, 2% 이내, 1% 이내 또는 주어진 값 또는 범위 미만을 의미한다.
- [0111] 본 개시내용 및 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태는 달리 분명하게 나타내지 않는 한 복수의 형태를 포함한다.
- [0112] "포함하는"이라는 용어와 함께 실시형태가 설명되는 경우 "이루어진" 및/또는 "본질적으로 이루어진"에 관해 기재된 다른 유사한 실시형태가 또한 제공된다는 것이 이해된다. 또한 "본질적으로 이루어진"이라는 어구와 함께 실시형태가 설명되는 경우 "이루어진"에 관해 기재된 다른 유사한 실시형태가 또한 제공된다는 것이 이해된다.
- [0113] "A와 B 사이" 또는 "A에서 B 사이"와 같은 어구에서 사용되는 "사이"라는 용어는 A와 B를 둘 다 포함하는 범위를 지칭한다.
- [0114] 본 명세서의 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용되는 바와 같은 용어 "및/또는"은 A와 B 둘 다; A 또는 B; A (단독); 및 B(단독)을 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용되는 바와 같은 용어 "및/또는"은 다음의 실시형태 각각을 포함하는 것으로 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).
- [0115] **5.2.키메라 항원 수용체**
- [0116] 일 양상에서, (a) 본 명세서에 제공된 항-CD20 단일 도메인 항체(sdAb), 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb 중 둘 또는 셋을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 폴리펩타이드를 포함하는 다중특이성 키메라 항원 수용체(CAR)가 본 명세서에 제공된다. 아래의 부분 6에서 입증하는 바와 같이, 본 다중특이성 CAR은 기존의 CAR 작제물 이상으로 이점을 제공한다.
- [0117] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 CD20 및 CD19에 결합하는 이중특이성 CAR이다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 CD20 및 CD22에 결합하는 이중특이성 CAR이다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 CD19 및 CD22에 결합하는 이중특이성 CAR이다. 또 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 CD20, CD19 및 CD22 모두에 결합하는 삼중특이성 CAR이다.
- [0118] 각 성분 및 추가 영역은 아래에 더욱 상세하게 기재한다.
- [0119] **5.2.1.세포외 항원 결합 도메인**
- [0120] 본 명세서에 기재된 CAR의 세포외 항원 결합 도메인은 2, 3개 이상의 단일 도메인 항체를 포함한다. 단일 도메

인 항체는 펩타이드 결합을 통해, 또는 펩타이드 링커를 통해 서로 직접 융합될 수 있다.

[0121] 5.2.1.1. 단일 도메인 항체

[0122] 본 개시내용의 CAR은 다중 단일 도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 포함한다. sdAb는 동일 또는 상이한 유래를 가질 수 있고, 동일 또는 상이한 크기를 가질 수 있다. 예시적인 sdAb는 중쇄 단독 항체로부터의 중쇄 가변 도메인(예를 들어, V_HH 또는 V_{NAR}), 경쇄가 자연적으로 결합된 결합 분자, 통상적인 4-쇄 항체로부터 유래된 단일 도메인(예컨대 V_H 또는 V_L), 인간화된 중쇄 단독 항체, 인간 중쇄 세그먼트를 발현시키는 유전자 이식 마우스 또는 래트에 의해 생성된 인간 단일 도메인 항체, 및 항체로부터 유래된 것 이외의 조작된 도메인 및 단일 도메인 스캐폴드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 개시내용에서 위에 기재된 단일 도메인 항체를 포함하는 당업계에 공지되거나 본 개시내용에 의해 개발된 임의의 sdAb는 본 명세서에 기재된 CAR을 대체하는 데 사용될 수 있다. sdAb는 마우스, 래트, 인간, 낙타, 라마, 칠성장어, 어류, 상어, 염소, 토끼 및 소를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 본 명세서에 상정된 단일 도메인 항체는 또한 낙타과 및 상어 이외의 종으로부터 유래된 천연 유래 단일 도메인 항체 분자를 포함한다.

[0123] 일부 실시형태에서, sdAb는 경쇄가 없는 중쇄 항체(또한 본 명세서에서 "중쇄-단독 항체"로서 지칭됨)로서 알려진 천연 유래 단일 도메인 항원 결합 분자로부터 유래된다. 이러한 단일 도메인 분자는, 예를 들어, WO 94/04678 및 문헌[Hamers-Casterman, C. *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993)]에 개시되어 있다. 명확성을 위해, 자연적으로 경쇄가 결합된 중쇄 분자로부터 유래된 가변 도메인은 이를 4-쇄 면역글로불린의 통상적인 V_H와 구별하기 위해 본 명세서에서 V_HH로서 알려져 있다. 이러한 V_HH 분자는 낙타과 종, 예를 들어, 낙타, 라마, 비쿠나, 단봉 낙타, 알파카 및 과나코에서 상승된 항체로부터 유래될 수 있다. 낙타과 이외의 다른 종은 자연적으로 경쇄가 결합된 중쇄 분자를 생성할 수 있으며, 이러한 V_HH는 본 개시내용의 범주 내에 있다. 또한, V_HH의 인간화된 형태뿐만 아니라 다른 변형 및 변이체가 또한 상정되며, 본 개시내용의 범주 이내이다.

[0124] 낙타과로부터의 V_HH 분자는 IgG 분자보다 약 10배 더 작다. 이들은 단일 폴리펩타이드이고, 매우 안정하여, 극도의 pH 및 온도 조건에 저항할 수 있다. 게다가, 이들은 통상적인 4-쇄 항체에 대한 경우가 아닌 프로테아제의 작용에 대해 저항성이 있을 수 있다. 더 나아가, V_HH의 시험관내 발현은 고수율의, 적절하게 폴딩된 기능성 V_HH를 생성한다. 추가로, 낙타과에서 생성된 항체는 항체 라이브러리의 사용을 통해 또는 낙타과 이외의 포유류의 면역화를 통해 시험관내에서 생성된 항체에 의해 인식된 것 이외의 에피토프를 인식할 수 있다(예를 들어, WO9749805 참조). 이렇게 해서, 하나 이상의 V_HH 도메인을 포함하는 다중특이성 또는 다가 CAR은 통상적인 4-쇄 항체로부터 유래된 항원 결합 단편을 포함하는 다중특이성 또는 다가 CAR보다 표적과 더 효율적으로 상호작용할 수 있다. V_HH는 '흔치 않은' 에피토프, 예컨대, 공동(cavity) 또는 홈(groove)에 결합하는 것으로 알려져 있기 때문에, 이러한 V_HH를 포함하는 CAR의 친화도는 통상적인 다중특이성 폴리펩타이드보다 치료적 처치에 더 적합할 수 있다.

[0125] 일부 실시형태에서, sdAb는 연골어류에서 발견되는 면역글로불린의 가변 영역으로부터 유래된다. 예를 들어, sdAb는 상어 혈청에서 발견되는 신규한 항원 수용체(NAR)로서 알려진 면역글로불린 아이소타입으로부터 유래될 수 있다. NAR의 가변 영역으로부터 유래된 단일 도메인 분자("IgNAR")의 생성 방법은 WO 03/014161 및 문헌[Streltsov, *Protein Sci.* 14:2901-2909(2005)]에 기재되어 있다.

[0126] 일부 실시형태에서, sdAb는 재조합, CDR-접합, 인간화, 낙타화, 탈면역화 및/또는 시험관내 생성된다(예를 들어, 파지 디스플레이에 의해 선택됨). 일부 실시형태에서, 프레임워크 영역의 아미노산 서열은 프레임워크 영역 내 특정 아미노산 잔기의 "낙타화"에 의해 변경될 수 있다. 낙타화는 통상적인 4-쇄 항체로부터의 (천연 유래) V_H 도메인의 아미노산 서열 내 하나 이상의 아미노산 잔기의 중쇄 항체의 V_HH 도메인 내 대응하는 위치(들)에서 생기는 아미노산 잔기 중 하나 이상에 의한 대체 또는 치환을 지칭한다. 이는 당업자에게 분명한 당업계에 공지된 방식으로 수행될 수 있다. 이러한 "낙타화" 치환은 바람직하게는 본 명세서에 정의된 바와 같은 V_H-V_L 계면에서, 그리고/또는 소위 낙타과 특징 잔기에서 형성되고/되거나 존재하는 아미노산 위치에 삽입된다(예를 들어, WO 94/04678, 문헌[Davies and Riechmann *FEBS Letters* 339: 285-290 (1994); Davies and Riechmann, *Protein Engineering* 9 (6): 531-537 (1996); Riechmann, J. *Mol. Biol.* 259: 957-969 (1996); 및 Riechmann and Muyldermans, J. *Immunol. Meth.* 231: 25-38 (1999)] 참조).

[0127] 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 인간 중쇄 세그먼트를 발현시키는 유전자 이식 마우스 또는 래트에 의해 생성되는 인간 sdAb이다. 예를 들어, US20090307787, 미국 특허 제8,754,287호, US20150289489, US20100122358

및 WO2004049794를 참조한다. 일부 실시형태에서, sdAb는 친화도 성숙이다.

[0128] 일부 실시형태에서, 특정 항원 또는 표적에 대한 천연 유래 VHH 도메인은 낙타과 VHH 서열의 (미경험 또는 면역) 라이브러리로부터 얻을 수 있다. 이러한 방법은 당업계에 공지된 하나 이상의 선별 기법을 이용하여 상기 항원 또는 표적, 또는 이의 적어도 하나의 부분, 단편, 항원 결정소 또는 에피토프를 이용하는 이러한 라이브러리의 선별을 수반할 수도 있고 수반하지 않을 수도 있다. 이러한 라이브러리 및 기법은, 예를 들어, WO 99/37681, WO 01/90190, WO 03/025020 및 WO 03/035694에 기재되어 있다. 대안적으로, (미경험 또는 면역) VHH 라이브러리로부터 유래된 개선된 합성 또는 반합성 라이브러리, 예를 들어, WO 00/43507에 기재된 바와 같은 무작위 돌연변이유발 및/또는 CDR 셔플링과 같은 기법에 의해 (미경험 또는 면역) VHH 라이브러리로부터 얻은, 예컨대, VHH 라이브러리가 사용될 수 있다.

[0129] 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 통상적인 4-쇄 항체로부터 생성된다. 예를 들어, 유럽 특허 제0 368 684호, 문헌[Ward et al., *Nature*, 341 (6242): 544-6 (1989); Holt et al., *Trends Biotechnol.*, 21(11):484-490 (2003)]; WO 06/030220; 및 WO 06/003388 참조.

[0130] 본 명세서에 제공된 CAR에서 예시적인 단일 도메인 항체는 표 2에 열거된다.

표 2

예시적인 단일 도메인 항체

VHH	클론 ID	VHH aa	CDR1	CDR2	CDR3
항-CD20 VHH	VHH-273	서열번호 39 또는 310	서열번호 1	서열번호 2	서열번호 3
			서열번호 4	서열번호 5	서열번호 6
	VHH-283	서열번호 40 또는 310	서열번호 1	서열번호 7	서열번호 8
			서열번호 4	서열번호 9	서열번호 10
	VHH-313	서열번호 41 또는 311	서열번호 11	서열번호 12	서열번호 8
			서열번호 13	서열번호 9	서열번호 10
	VHH-440	서열번호 42 또는 312	서열번호 14	서열번호 15	서열번호 16
			서열번호 17	서열번호 18	서열번호 19
	VHH-466	서열번호 43 또는 312	서열번호 20	서열번호 21	서열번호 16
			서열번호 22	서열번호 23	서열번호 19
	VHH-496	서열번호 44 또는 313	서열번호 24	서열번호 25	서열번호 26
			서열번호 27	서열번호 28	서열번호 29
	VHH-653	서열번호 45 또는 312	서열번호 14	서열번호 30	서열번호 16
			서열번호 17	서열번호 31	서열번호 19
	huVHH-253	서열번호 46 또는 310	서열번호 1	서열번호 32	서열번호 3
			서열번호 4	서열번호 33	서열번호 6
	huVHH-256	서열번호 47 또는 310	서열번호 1	서열번호 2	서열번호 3
			서열번호 4	서열번호 33	서열번호 6

[0131]

VHH	클론 ID	VHH aa	CDR1	CDR2	CDR3
	huVHH-260	서열번호 48	서열번호 11 또는 311	서열번호 12	서열번호 8
			서열번호 13	서열번호 9	서열번호 10
	huVHH-746	서열번호 49	서열번호 24 또는 313	서열번호 25	서열번호 26
			서열번호 27	서열번호 28	서열번호 29
	huVHH-750	서열번호 50	서열번호 24 또는 313	서열번호 25	서열번호 26
			서열번호 27	서열번호 28	서열번호 29
	huVHH-753	서열번호 51	서열번호 24 또는 313	서열번호 25	서열번호 26
			서열번호 27	서열번호 28	서열번호 29
	huVHH-836	서열번호 52	서열번호 20 또는 312	서열번호 34	서열번호 16
			서열번호 22	서열번호 35	서열번호 19
	huVHH-840	서열번호 53	서열번호 20 또는 312	서열번호 36	서열번호 16
			서열번호 22	서열번호 23	서열번호 19
	huVHH-843	서열번호 54	서열번호 20 또는 312	서열번호 37	서열번호 16
			서열번호 22	서열번호 23	서열번호 19
	huVHH-846	서열번호 55	서열번호 20 또는 312	서열번호 38	서열번호 16
			서열번호 22	서열번호 23	서열번호 19
	VHH-623	서열번호 301	서열번호 283 또는 314	서열번호 284	서열번호 285
			서열번호 286	서열번호 287	서열번호 288
	VHH-640	서열번호 302	서열번호 289 또는 315	서열번호 290	서열번호 291
			서열번호 292	서열번호 293	서열번호 294

[0132]

VHH	클론 ID	VHH aa	CDR1	CDR2	CDR3
항-CD19 VHH	VHH-657	서열번호 303	서열번호 295 또는 312	서열번호 296	서열번호 297
			서열번호 298	서열번호 299	서열번호 300
	VHH-083	서열번호 85	서열번호 73 또는 316	서열번호 74	서열번호 75
			서열번호 76	서열번호 77	서열번호 78
	VHH-111	서열번호 86	서열번호 79 또는 317	서열번호 80	서열번호 81
			서열번호 82	서열번호 83	서열번호 84
	huVHH-773	서열번호 87	서열번호 73 또는 316	서열번호 74	서열번호 75
			서열번호 76	서열번호 77	서열번호 78
	huVHH-776	서열번호 88	서열번호 73 또는 316	서열번호 74	서열번호 75
			서열번호 76	서열번호 77	서열번호 78
	VHH-131	서열번호 308	서열번호 73 또는 316	서열번호 307	서열번호 75
			서열번호 76	서열번호 77	서열번호 78
항-CD22 VHH	VHH-18	서열번호 129	서열번호 93 또는 318	서열번호 94	서열번호 95
			서열번호 96	서열번호 97	서열번호 98
	VHH-66	서열번호 130	서열번호 99 또는 319	서열번호 100	서열번호 101
			서열번호 102	서열번호 103	서열번호 104
	VHH-87	서열번호 131	서열번호 105 또는 320	서열번호 106	서열번호 107
			서열번호 108	서열번호 109	서열번호 110
	VHH-90	서열번호 132	서열번호 111 또는 321	서열번호 112	서열번호 113
			서열번호 114	서열번호 115	서열번호 116

[0133]

VHH	클론 ID	VHH aa	CDR1	CDR2	CDR3
	VHH-102	서열번호 133	서열번호 117 또는 322	서열번호 118	서열번호 119
			서열번호 120	서열번호 121	서열번호 122
	VHH-105	서열번호 134	서열번호 123 또는 323	서열번호 124	서열번호 125
			서열번호 126	서열번호 127	서열번호 128
	huVHH-077	서열번호 135	서열번호 99 또는 319	서열번호 100	서열번호 101
			서열번호 102	서열번호 103	서열번호 104

[0134]

[0135]

CD20에 결합하는 단일 도메인 항체

[0136]

일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR에서 항-CD20 단일 도메인 항체(예를 들어, VHH)는 인간 CD20에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD20 단일 도메인 항체는 하나 이상의 CD20 활성을 조절한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD20 단일 도메인 항체는 길항제 항체이다.

[0137]

일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD20 단일 도메인 항체는 $1\mu\text{M}$ 이하, 100nM 이하, 10nM 이하, 1nM 이하, 0.1nM 이하, 0.01nM 이하, 또는 0.001nM 이하(예를 들어, 10^{-8}M 이하, 예를 들어, 10^{-8}M 내지 10^{-13}M , 예를 들어, 10^{-9}M 내지 10^{-13}M)의 해리상수(K_D)로 CD20(예를 들어, 인간 CD20)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 이 중 어느 것은, 예를 들어, 관심 항체 및 이의 항원의 Fab 형태에 의해 수행되는 RIA에 의해(Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865-81); 예를 들어, Octet®Red96 시스템을 이용하는 Octet®에 의해 또는, 예를 들어, Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 이용하는, Biacore®에 의해, 생물층 간섭계(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 분석에 의하는 것을 포함하여, 본 개시내용의 목적을 위해 사용될 수 있다. "온 속도(on-rate)" 또는 "결합 속도" 또는 "회합 속도" 또는 "kon"은 또한, 예를 들어, Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 이용하여, 위에 기재한 동일한 생물층 간섭계(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법에 의해 결정될 수 있다.

[0138]

일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR에서 항-CD20 단일 도메인 항체는 VHH 도메인이다. 본 명세서에 제공된 예시적인 VHH 도메인은 아래의 부문 6에 기재된 바와 같이 생성되고, 이들 VHH 도메인은 위의 표 2에 또한 나타낸 바와 같이, VHH-273, VHH-283, VHH-313, VHH-440, VHH-466, VHH-496, VHH-653, VHH-623, VHH-640, VHH-657, huVHH-253, huVHH-256, huVHH-260, huVHH-746, huVHH-750, huVHH-753, huVHH-836, huVHH-840, huVHH-843 및 huVHH-846으로 지칭된다.

[0139]

따라서, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 VHH-273, VHH-283, VHH-313, VHH-440, VHH-466, VHH-496, VHH-653, VHH-623, VHH-640, VHH-657, huVHH-253, huVHH-256, huVHH-260, huVHH-746, huVHH-750, huVHH-753, huVHH-836, huVHH-840, huVHH-843 및/또는 huVHH-846 중 어느 하나의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 다음의 구조: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, CDR 서열은 VHH-273, VHH-283, VHH-313, VHH-440, VHH-466, VHH-496, VHH-653, VHH-623, VHH-640, VHH-657, huVHH-253, huVHH-256, huVHH-260, huVHH-746, huVHH-750, huVHH-753, huVHH-836, huVHH-840, huVHH-843 및 huVHH-846으로부터 선택된다.

[0140]

일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 39의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 40의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 41의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 42의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 43의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 44의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 45의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는

워크를 포함한다.

[0161] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 다음의 구조 : FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, (i) CDR1은 서열번호 1 또는 310, 서열번호 4, 서열번호 11 또는 311, 서열번호 13, 서열번호 14 또는 312, 서열번호 17, 서열번호 20 또는 312, 서열번호 22, 서열번호 24 또는 313, 서열번호 27, 서열번호 283 또는 314, 서열번호 286, 서열번호 289 또는 315, 서열번호 292, 서열번호 295 또는 312, 서열번호 298의 아미노산 서열을 포함하고; (ii) CDR2는 서열번호 2, 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 9, 서열번호 12, 서열번호 15, 서열번호 18, 서열번호 21, 서열번호 23, 서열번호 25, 서열번호 28, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34, 서열번호 35, 서열번호 36, 서열번호 37, 서열번호 38, 서열번호 284, 서열번호 287, 서열번호 290, 서열번호 293, 서열번호 296 또는 서열번호 299의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 (iii) CDR3은 서열번호 3, 서열번호 6, 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 16, 서열번호 19, 서열번호 26, 서열번호 29, 서열번호 285, 서열번호 288, 서열번호 291, 서열번호 294, 서열번호 297 또는 서열번호 300의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0162] 다른 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 다음의 구조: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, (i) CDR1은 서열번호 1 또는 310, 서열번호 4, 서열번호 11 또는 311, 서열번호 13, 서열번호 14 또는 312, 서열번호 17, 서열번호 20 또는 312, 서열번호 22, 서열번호 24 또는 313, 서열번호 27, 서열번호 283 또는 314, 서열번호 286, 서열번호 289 또는 315, 서열번호 292, 서열번호 295 또는 312, 서열번호 298에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; (ii) CDR2는 서열번호 2, 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 9, 서열번호 12, 서열번호 15, 서열번호 18, 서열번호 21, 서열번호 23, 서열번호 25, 서열번호 28, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34, 서열번호 35, 서열번호 36, 서열번호 37, 서열번호 38, 서열번호 284, 서열번호 287, 서열번호 290, 서열번호 293, 서열번호 296 또는 서열번호 299에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 (iii) CDR3은 서열번호 3, 서열번호 6, 서열번호 8, 서열번호 10, 서열번호 16, 서열번호 19, 서열번호 26, 서열번호 29, 서열번호 285, 서열번호 288, 서열번호 291, 서열번호 294, 서열번호 297 또는 서열번호 300에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0163] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0164] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0165] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 1 또는 310의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본

다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 49의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 50의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 51의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 52의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 53의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 54의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 55의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 301의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 302의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 303의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다.

[0191] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 단일 도메인 항체는 인간화된 단일 도메인 항체이다. 일부 실시형태에서, 인간화된 단일 도메인 항체는 아래의 부문 6에 예시된 방법 또는 아래의 부문에 기재된 방법을 이용하여 생성될 수 있다.

[0192] 본 명세서에 기재된 프레임워크 영역은 CDR 넘버링 시스템의 경계에 기반하여 결정된다. 다시 말해서, CDR이, 예를 들어, Kabat, IMGT 또는 Chothia에 의해 결정되는 경우, 프레임워크 영역은, N-말단에서 C-말단까지: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 형식으로 가변 영역에서 CDR을 둘러싸는 아미노산 잔기이다. 예를 들어, FR1은, 예를 들어, Kabat 넘버링 시스템, IMGT 넘버링 시스템 또는 Chothia 넘버링 시스템에 의해 정의되는 바와 같이 CDR1 아미노산 잔기에 대해 N-말단의 아미노산 잔기로서 정의되고, FR2는, 예를 들어, Kabat 넘버링 시스템, IMGT 넘버링 시스템, 또는 Chothia 넘버링 시스템에 의해 정의되는 바와 같이 CDR1과 CDR2 아미노산 잔기 사이의 아미노산 잔기로서 정의되며, FR3은, 예를 들어, Kabat 넘버링 시스템, IMGT 넘버링 시스템 또는 Chothia 넘버링 시스템에 의해 정의되는 바와 같이 CDR2와 CDR3 아미노산 잔기 사이의 아미노산 잔기로서 정의되고, FR4는, 예를 들어, Kabat 넘버링 시스템, IMGT 넘버링 시스템 또는 Chothia 넘버링 시스템에 의해 정의되는 바와 같이 CDR3 아미노산 잔기에 대해 C-말단의 아미노산 잔기로서 정의된다.

[0193] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 39의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 41의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 42의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 43의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 44의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 45의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 46의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 47의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 48의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 49의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 50의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 51의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 52의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 54의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 55의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 301의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 302의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 303의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다.

[0194] 특정 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 항체 VHH-273, VHH-283, VHH-313, VHH-440, VHH-466, VHH-496, VHH-653, VHH-623, VHH-640, VHH-657, huVHH-253, huVHH-256, huVHH-260, huVHH-746, huVHH-750, huVHH-753, huVHH-836, huVHH-840, huVHH-843 및 huVHH-846 중 어느 하나에 대해 특정 동일성 백분율을 갖는 아미노산 서

열을 포함한다.

[0195] 두 서열(예를 들어, 아미노산 서열 또는 핵산 서열) 사이의 동일성 백분율 결정은 수학적 알고리즘을 이용하여 달성될 수 있다. 두 서열의 비교를 위해 이용되는 수학적 알고리즘의 비제한적 예는 문헌[Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873 5877 (1993)]에서와 같이 변형된 문헌[Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264 2268 (1990)]의 알고리즘이다. 이러한 알고리즘은 문헌[Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403 (1990)]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램에 혼입된다. BLAST 뉴클레오타이드 검색은 NBLAST 뉴클레오타이드 프로그램 파라미터 세트에 의해 수행될 수 있으며, 예를 들어, 점수=100의 경우, 본 명세서에 기재된 핵산 분자와 상동성인 뉴클레오타이드 서열을 얻기 위해 단어 길이=12이다. BLAST 단백질 검색은 XBLAST 프로그램 파라미터 세트에 의해 수행될 수 있으며, 예를 들어, 점수 50에 대해, 본 명세서에 기재된 단백질 분자와 상동성인 아미노산 서열을 얻기 위해 단어 길이=3이다. 비교 목적을 위한 갭핑 정렬을 얻기 위해, 갭핑 BLAST는 문헌[Altschul *et al.*, Nucleic Acids Res. 25:3389 3402 (1997)]에 기재된 바와 같이 이용될 수 있다. 대안적으로, PSI BLAST는 분자 사이의 먼 관계를 검출하는 반복 검색을 수행하기 위해 사용될 수 있다(이하 참조). BLAST, 갭핑된 BLAST 및 PSI Blast 프로그램을 이용할 때, 각 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터가 사용될 수 있다(예를 들어, 월드 와이드 웹, ncbi.nlm.nih.gov 상의 미국 국립생물정보센터(NCBI)). 서열 비교를 위해 이용되는 수학적 알고리즘의 다른 비제한적 예는 문헌[Myers and Miller, CABIOS 4:11-17 (1998)]의 알고리즘이다. 이러한 알고리즘은 GCG 서열 정렬 소프트웨어 패키지의 부분인 ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 혼입된다. 아미노산 서열을 비교하기 위해 ALIGN 프로그램을 이용할 때, PAM120 가중치 잔기표, 12의 갭 길이 페널티 및 4의 갭 페널티가 사용될 수 있다. 두 서열 사이의 동일성 백분율은 허용되는 갭의 유무와 상관없이 상기 기재한 것과 유사한 기법을 이용하여 결정될 수 있다. 동일성 백분율을 계산함에 있어서, 전형적으로 정확한 매칭만이 계수된다.

[0196] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 39 내지 55 및 301 내지 303으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중 적어도 약 어느 하나를 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중 적어도 약 어느 하나를 갖는 VHH 서열은 참조 서열에 비해 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 포함하지만, 해당 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체는 CD20에 결합하는 능력을 보유한다. 일부 실시형태에서, 서열번호 39 내지 55 및 301 내지 303으로부터 선택된 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시형태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 일어난다. 선택적으로, 항-CD20 단일 도메인 항체는, 해당 서열의 번역 후 변형을 포함하여 서열번호 39 내지 55 및 301 내지 303으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0197] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 39의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD20에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 40의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD20에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 41의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD20에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 42의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD20에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 43의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD20에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 44의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD20에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 45

[illegible]

[0198] 일부 실시형태에서, 기능성 에피토프는 본 명세서에 제공된 항-CD20 단일 도메인 항체와의 상호작용에 필수적인 CD20 단백질의 아미노산을 확인하기 위해, 예를 들어, 조합 알라닌 스캐닝에 의해, 맵핑될 수 있다. 일부 실시형태에서, CD20에 결합된 항-CD20 단일 도메인 항체의 입체구조적 및 결정 구조는 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 본 명세서에 제공된 항-CD20 단일 도메인 항체 중 어느 것과 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는

[illegible]

[0199]

일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 본 명세서에 기재된 항-CD20 단일 도메인 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 경쟁적 결합은 ELISA 분석을 이용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 47의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 48의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 49의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 51의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 52의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 53의 아

미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 54의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 301의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 302의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 서열번호 303의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합한다.

[0200] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD20 sdAb는 아래의 부문 5.2.1.2 내지 5.2.1.4에 기재된 바와 같이 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 혼입할 수 있다.

[0201] **CD19에 결합하는 단일 도메인 항체**

[0202] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR에서 항-CD19 단일 도메인 항체(예를 들어, VHH)는 인간 CD19에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD19 단일 도메인 항체는 하나 이상의 CD19 활성을 조절한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD19 단일 도메인 항체는 길항제 항체이다.

[0203] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD19 단일 도메인 항체는 1 μ M 이하, 100nM 이하, 10nM 이하, 1nM 이하, 0.1nM 이하, 0.01nM 이하, 또는 0.001nM 이하(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리상수(K_D)로 CD19(예를 들어, 인간 CD19)에 결합한다.

[0204] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR에서 항-CD19 단일 도메인 항체는 VHH 도메인이다. 본 명세서에 제공된 예시적인 VHH 도메인은 아래의 부문 6에 기재된 바와 같이 생성되고, 이들 VHH 도메인은 위의 표 2에 또한 나타낸 바와 같이, VHH-083, VHH-111, VHH-131, huVHH-773 및 huVHH-776으로 지칭된다.

[0205] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 VHH-083, VHH-111, VHH-131, huVHH-773 및/또는 huVHH-776 중 어느 하나의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 다음의 구조: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, CDR 서열은 VHH-083, VHH-111, VHH-131, huVHH-773 및 huVHH-776으로부터 선택된다.

[0206] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 85의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 86의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 87의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 88의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0207] 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 85에 제시된 CDR1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 85에 제시된 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 갖는다. 다른 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 85에 제시된 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 85에 제시된 CDR1 및 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및 CDR2를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 85에 제시된 CDR1 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 85에 제시된 CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 85에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 갖는다. CDR 서열은 잘 공지된 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 Kabat 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Chothia 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함

의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 308에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 갖는다. CDR 서열은 잘 공지된 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 Kabat 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Chothia 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0212] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 다음의 구조: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, (i) CDR1은 서열번호 73 또는 316, 서열번호 76, 서열번호 79 또는 317, 또는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하고; (ii) CDR2는 서열번호 74, 서열번호 77, 서열번호 80, 서열번호 83 또는 서열번호 307의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 (iii) CDR3은 서열번호 75, 서열번호 78, 서열번호 81 또는 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0213] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 다음의 구조: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, (i) CDR1은 서열번호 73 또는 316, 서열번호 76, 서열번호 79 또는 317, 또는 서열번호 82에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; (ii) CDR2는 서열번호 74, 서열번호 77, 서열번호 80, 서열번호 83 또는 서열번호 307에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 (iii) CDR3은 서열번호 75, 서열번호 78, 서열번호 81 또는 서열번호 84에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0214] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0215] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0216] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 79 또는 317의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 317의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공

통 프레임워크를 포함한다.

- [0217] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0218] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 73 또는 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 307의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 307의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 316의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 307의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0219] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0220] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 단일 도메인 항체는 VHH-083, VHH-131, VHH-111, huVHH-773 및/또는 huVHH-776의 하나 이상의 프레임워크 영역(들)을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 85의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 86의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 87의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 88의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 308의 서열을 포함하는 VHH 도메인으로부터 유래된 하나 이상의 프레임워크(들)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 단일 도메인 항체는 인간화된 단일 도메인 항체이다.
- [0221] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 85의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 86의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 87의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 88의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 308의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다.
- [0222] 특정 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 항체 VHH-083, VHH-111, VHH-131, huVHH-773 및/또는 huVHH-776 중 어느 하나에 대해 특정 동일성 백분율을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0223] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 85 내지 88 및 308로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중 적어도 약 어느 하나를 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중 적어도 약 어느 하나를 갖는 VHH 서열은 참조 서열에 비해 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 포함하지만, 해당 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체는 CD19에 결합하는 능력을 보유한다. 일부 실시형태에서, 서열번호 85 내지 88 및 308로부터 선택된 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시형태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 일어난다. 선택적으로, 항-CD19 단일 도메인 항체는, 해당 서열의 번역 후 변형을 포함하여 서열번호 85 내지 88 및 308로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0224] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 85의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%,

적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD19에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 86의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD19에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 87의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD19에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 88의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD19에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 308의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD19에 결합한다.

[0225] 일부 실시형태에서, 기능성 에피토프는 본 명세서에 제공된 항-CD19 단일 도메인 항체와의 상호작용에 필수적인 CD19 단백질의 아미노산을 확인하기 위해, 예를 들어, 조합 알려진 스캐닝에 의해, 맵핑될 수 있다. 일부 실시형태에서, CD19에 결합된 항-CD19 단일 도메인 항체의 입체구조적 및 결정 구조는 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 본 명세서에 제공된 항-CD19 단일 도메인 항체 중 어느 것과 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 308의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0226] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 본 명세서에 기재된 항-CD19 단일 도메인 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 CD19에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 경쟁적 결합은 ELISA 분석을 이용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD19에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD19에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD19에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD19에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 서열번호 308의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD19에 특이적으로 결합한다.

[0227] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD19 sdAb는 아래의 부분 5.2.1.2 내지 5.2.1.4에 기재된 바와 같이 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 혼입할 수 있다.

[0228] **CD22에 결합하는 단일 도메인 항체**

[0229] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR에서 항-CD22 단일 도메인 항체(예를 들어, VHH)는 인간 CD22에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD22 단일 도메인 항체는 하나 이상의 CD22 활성을 조절한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD22 단일 도메인 항체는 길항제 항체이다.

[0230] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD22 단일 도메인 항체는 $1\mu\text{M}$ 이하, 100nM 이하, 10nM 이하, 1nM 이하, 0.1nM 이하, 0.01nM 이하, 또는 0.001nM 이하(예를 들어, 10^{-8}M 이하, 예를 들어, 10^{-8}M 내지 10^{-13}M , 예를 들어, 10^{-9}M 내지 10^{-13}M)의 해리상수(K_D)로 CD22(예를 들어, 인간 CD22)에 결합한다.

- [0231] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR에서 항-CD22 단일 도메인 항체는 VHH 도메인이다. 본 명세서에 제공된 예시적인 VHH 도메인은 아래의 부문 6에 기재된 바와 같이 생성되고, 이들 VHH 도메인은 위의 표 2에 또한 나타난 바와 같이, VHH-18, VHH-66, VHH-87, VHH-90, VHH-102, VHH-105 및 huVHH-077로 지칭된다.
- [0232] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 VHH-18, VHH-66, VHH-87, VHH-90, VHH-102, VHH-105 및/또는 huVHH-077 중 어느 하나의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다.
- [0233] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 다음의 구조: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, CDR 서열은 VHH-18, VHH-66, VHH-87, VHH-90, VHH-102, VHH-105 및 huVHH-077로부터 선택된다.
- [0234] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 129의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 130의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 131의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 132의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 133의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 134의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 135의 아미노산 서열의 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0235] 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 129에 제시된 CDR1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 129에 제시된 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 갖는다. 다른 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 129에 제시된 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 129에 제시된 CDR1 및 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및 CDR2를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 129에 제시된 CDR1 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 129에 제시된 CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 129에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 갖는다. CDR 서열은 잘 공지된 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 Kabat 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Chothia 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0236] 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 130에 제시된 CDR1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 130에 제시된 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 갖는다. 다른 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 130에 제시된 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 130에 제시된 CDR1 및 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및 CDR2를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 130에 제시된 CDR1 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 130에 제시된 CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 130에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 갖는다. CDR 서열은 잘 공지된 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 Kabat 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Chothia 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0237] 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 131에 제시된 CDR1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 131에 제시된 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 갖는다.

버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0241] 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 135에 제시된 CDR1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 135에 제시된 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2를 갖는다. 다른 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 135에 제시된 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 135에 제시된 CDR1 및 CDR2의 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및 CDR2를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 135에 제시된 CDR1 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 135에 제시된 CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR2 및 CDR3을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 서열번호 135에 제시된 CDR1, CDR2 및 CDR3의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 갖는다. CDR 서열은 잘 공지된 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 Kabat 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Chothia 넘버링에 따른다. 다른 실시형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0242] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 다음의 구조: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, (i) CDR1은 서열번호 93 또는 318, 서열번호 96, 서열번호 99 또는 319, 서열번호 102, 서열번호 105 또는 320, 서열번호 108, 서열번호 111 또는 321, 서열번호 114, 서열번호 117 또는 322, 서열번호 120, 서열번호 123 또는 323, 또는 서열번호 126의 아미노산 서열을 포함하고; (ii) CDR2는 서열번호 94, 서열번호 97, 서열번호 100, 서열번호 103, 서열번호 106, 서열번호 109, 서열번호 112, 서열번호 115, 서열번호 118, 서열번호 121, 서열번호 124 또는 서열번호 127의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 (iii) CDR3은 서열번호 95, 서열번호 98, 서열번호 101, 서열번호 104, 서열번호 107, 서열번호 110, 서열번호 113, 서열번호 116, 서열번호 119, 서열번호 122, 서열번호 125 또는 서열번호 128의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0243] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 다음의 구조: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4를 포함하되, (i) CDR1은 서열번호 93 또는 318, 서열번호 96, 서열번호 99 또는 319, 서열번호 102, 서열번호 105 또는 320, 서열번호 108, 서열번호 111 또는 321, 서열번호 114, 서열번호 117 또는 322, 서열번호 120, 서열번호 123 또는 323, 또는 서열번호 126에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; (ii) CDR2는 서열번호 94, 서열번호 97, 서열번호 100, 서열번호 103, 서열번호 106, 서열번호 109, 서열번호 112, 서열번호 115, 서열번호 118, 서열번호 121, 서열번호 124 또는 서열번호 127에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는 (iii) CDR3은 서열번호 95, 서열번호 98, 서열번호 101, 서열번호 104, 서열번호 107, 서열번호 110, 서열번호 113, 서열번호 116, 서열번호 119, 서열번호 122, 서열번호 125 또는 서열번호 128에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 낙타과이다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0244] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 93 또는 318의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 318의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일

다. 일부 실시형태에서, 항-CD22 단일 도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

- [illegible]

일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 135의 아미노산 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다.

[0259] 특정 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 항체 VHH-18, VHH-66, VHH-87, VHH-90, VHH-102, VHH-105 및 huVHH-077 중 어느 하나에 대해 특정 동일성 백분율을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0260] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 129 내지 135로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중 적어도 약 어느 하나를 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중 적어도 약 어느 하나를 갖는 VHH 서열은 참조 서열에 비해 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입 또는 결실을 포함하지만, 해당 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체는 CD22에 결합하는 능력을 보유한다. 일부 실시형태에서, 서열번호 129 내지 135로부터 선택된 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시형태에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 일어난다. 선택적으로, 항-CD22 단일 도메인 항체는, 해당 서열의 번역 후 변형을 포함하여 서열번호 129 내지 135로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0261] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 129의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD22에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 130의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD22에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 131의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD22에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 132의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD22에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 133의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD22에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 134의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD22에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 서열번호 135의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VHH 도메인을 포함하되, 단일 도메인 항체는 CD22에 결합한다.

[0262] 일부 실시형태에서, 기능성 에피토프는 본 명세서에 제공된 항-CD22 단일 도메인 항체와의 상호작용에 필수적인 CD22 단백질의 아미노산을 확인하기 위해, 예를 들어, 조합 알라닌 스캐닝에 의해, 맵핑될 수 있다. 일부 실시형태에서, CD22에 결합된 항-CD22 단일 도메인 항체의 입체구조적 및 결정 구조는 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 본 명세서에 제공된 항-CD22 단일 도메인 항체 중 어느 것과 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-

CD22 sdAb는 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0263] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 본 명세서에 기재된 항-CD22 단일 도메인 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 CD22에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 경쟁적 결합은 ELISA 분석을 이용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD22에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD22에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD22에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD22에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD22에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD22에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 서열번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD22 단일 도메인 항체와 경쟁적으로 CD22에 특이적으로 결합한다.

[0264] 일부 실시형태에서, 본 CAR에서 항-CD22 sdAb는 아래의 부분 5.2.1.2 내지 5.2.1.4에 기재된 바와 같이 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 혼입할 수 있다.

[0265] 서열번호 56 내지 72, 89 내지 92, 136 내지 142 및 304 내지 306 및 309를 포함하는 위에서 기재한 sdAb(VHH)를 암호화하는 핵산 서열은 본 개시내용에 포함된다.

[0266] 5.2.1.2. 인간화된 단일 도메인 항체

[0267] 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체는 인간화된 단일 도메인 항체를 포함한다. 낙타과 종으로부터 단일 도메인 항체를 인간화시키기 위한 일반적인 전략이 기재되었고(예를 들어, 문헌[Vincke *et al.*, J. Biol. Chem., 284(5):3273-3284 (2009)] 참조), 본 명세서에 개시된 바와 같이 인간화된 VHH 도메인을 생성하는 데 유용할 수 있다. 낙타과 종으로부터의 인간화된 단일 도메인 항체의 설계는 VHH에서 특정 잔기, 예컨대, 잔기 11, 37, 44, 45 및 47(Kabat에 따라 잔기 넘버링)을 포함할 수 있다(Muyldermans, Reviews Mol Biotech 74:277-302 (2001)).

[0268] 인간화된 항체, 예컨대, 본 명세서에 개시된 인간화된 단일 도메인 항체는 또한 CDR-접합(유럽 특허 제239,400호; 국제 특허 출원 공개 WO 91/09967; 및 미국 특허 제5,225,539호, 제5,530,101호 및 제5,585,089호), 베니어링(veneering) 또는 리서페이싱(resurfacing)(유럽 특허 EP 592,106호 및 EP 519,596호; 문헌[Padlan, Molecular Immunology 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka *et al.*, Protein Engineering 7(6):805-814 (1994); 및 Roguska *et al.*, PNAS 91:969-973 (1994)]), 쉘 서플링(미국 특허 제5,565,332호), 및 예를 들어, 미국 특허 제6,407,213호, 미국 특허 제5,766,886호, WO 9317105, 문헌[Tan *et al.*, J. Immunol. 169:1119 25 (2002), Caldas *et al.*, Protein Eng. 13(5):353-60 (2000), Morea *et al.*, Methods 20(3):267 79 (2000), Baca *et al.*, J. Biol. Chem. 272(16):10678-84 (1997), Roguska *et al.*, Protein Eng. 9(10):895 904 (1996), Couto *et al.*, Cancer Res. 55 (23 Supp):5973s- 5977s (1995), Couto *et al.*, Cancer Res. 55(8):1717-22 (1995), Sandhu JS, Gene 150(2):409-10 (1994), 및 Pedersen *et al.*, J. Mol. Biol. 235(3):959-73 (1994)]에 개시된 기법을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 당업계에 공지된 다양한 기법을 이용하여 생성될 수 있다. 또한 미국 특허 공개 제2005/0042664 A1호(2005년 2월 24일)를 참조하며, 이는 본 명세서에 전문이 참조에 의해 인용된다.

[0269] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 단일 도메인 항체는 CD20, CD19 또는 CD22에 결합하는 인간화된 단일 도메인 항체일 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 인간화된 단일쇄 항체는 서열번호 39 내지 55, 85 내지 88, 129 내지 135, 301 내지 303 및 308에 제시된 하나 이상의 CDR을 포함할 수 있다. 비인간 항체를 인간화하는 다양한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 일반적으로, 인간화된 항체는 비인간인 공급원으로부터 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 이들 비인간 아미노산 잔기는 전형적으로 "이입(import)" 가변 도메인으로부터 취해지는 "이입" 잔기로서 종종 지칭된다. 인간화는, 인간 항체의 대응하는 서열을 추가변 영역 서열로 치환함으로써, 예를 들어, 문헌[Jones *et al.*, Nature 321:522-25 (1986); Riechmann *et al.*, Nature 332:323-27 (1988); 및 Verhoeyen *et al.*, Science 239:1534-36 (1988)]의 방법에 따라 수행될 수 있다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 단일 도메인 항체의 인간화는 아래의 부분 6에 기재되는 바와 같이 수행된다.

- [0270] 일부 경우에, 인간화된 항체는 CDR 접합에 의해 작제되고, 이때, 모 비-인간 항체의 CDR의 아미노산 서열은 인간 항체 프레임워크 상에 접합된다. 예를 들어, Padlan 등은 CDR에서 잔기의 약 1/3만이 실제로 항원과 접촉되고, 이들을 "특이성 결정 잔기" 또는 SDR로 지칭한다는 것을 결정하였다(Padlan *et al.*, FASEB J. 9:133-39 (1995)). SDR 접합 기법에서, SDR 잔기만이 인간 항체 프레임워크 상에 접합된다(예를 들어, 문헌[Kashmiri *et al.*, Methods 36:25-34 (2005)] 참조).
- [0271] 인간화된 항체를 제조하는 데 사용될 인간 가변 도메인의 선택은 항원성을 감소시키는 데 중요할 수 있다. 예를 들어, 소위 "최적-적합(best-fit)" 방법에 따르면, 비인간 항체의 가변 도메인의 서열은 공지된 인간 가변-도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 선별된다. 비-인간 항체의 서열에 가장 가까운 인간 서열은 인간화된 항체에 대한 인간 프레임워크로서 선택될 수 있다(Sims *et al.*, J. Immunol. 151:2296-308 (1993); 및 Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-17 (1987)). 다른 방법은 경쇄 또는 중쇄의 특정 하위그룹의 모든 인간 항체의 공통 서열로부터 유래된 특정 프레임워크를 사용한다. 동일한 프레임워크는 몇몇 상이한 인간화된 항체에 대해 사용될 수 있다(문헌[Carter *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89 (1992); 및 Presta *et al.*, J. Immunol. 151:2623-32 (1993)]). 일부 경우에, 프레임워크는 가장 흔한 인간 하위부류인 V_L6 하위집단 I(V_L6I) 및 V_H 하위집단 III (V_HIII)의 공통 서열로부터 유래된다. 다른 방법에서, 인간 생식계열 유전자는 프레임워크 영역의 공급원으로서 사용된다.
- [0272] 초인간화(superhumanization)로 불리는 CDR의 비교에 기반한 대안의 패러다임에서, FR 상동성은 관련없다. 상기 방법은 기능성 인간 생식계열 유전자 레퍼토리와 비인간 서열의 비교로 이루어진다. 이어서, 이를 암호화하는 해당 유전자 또는 유전 서열과 밀접하게 관련된 표준 구조가 선택된다. 다음에, 비-인간 항체와 표준 구조를 공유하는 유전자 내에서, CDR 내에서 가장 큰 상동성을 갖는 것이 FR 공여자로서 선택된다. 최종적으로, 비인간 CDR은 이들 FR 상에 접합된다(예를 들어, 문헌[Tan *et al.*, J. Immunol. 169:1119-25 (2002)] 참조).
- [0273] 추가로 항체는 항원 및 다른 바람직한 생물학적 특성에 대해 이들의 친화도를 보유하면서 인간화된다는 것이 일반적으로 바람직하다. 이 목적을 달성하기 위해, 한 가지 방법에 따르면, 모 및 인간화된 서열의 3차원 모델을 이용하는 모 서열 및 다양한 개념 인간화 산물의 분석 과정에 의해 인간화된 항체가 제조된다. 3차원 번역글로 불린 방법은 통상적으로 이용 가능하며, 당업자에게 익숙하다. 선택된 후보 번역글로불린 서열의 가능성 있는 3차원 입체구조를 도식하고 나타내는 컴퓨터 프로그램을 이용 가능하다. 이들은, 예를 들어, WAM(Whitelegg and Rees, Protein Eng. 13:819-24 (2002)), Modeller(Sali and Blundell, J. Mol. Biol. 234:779-815 (1993)) 및 Swiss PDB Viewer(Guex and Peitsch, Electrophoresis 18:2714-23 (1997))를 포함한다. 이들 디스플레이의 검사는 후보 번역글로불린 서열의 기능화에서 잔기의 가능성 있는 역할의 분석, 예를 들어, 항원에 결합하는 후보 번역글로불린의 능력에 영향을 미치는 잔기의 분석을 허용한다. 이런 방법에서, 목적하는 항체 특징, 예컨대, 표적 항원(들)에 대한 증가된 친화도가 달성되도록 FR 잔기는 수용자 및 이입 서열로부터 선택되고 조합될 수 있다. 일반적으로, 초가변 영역 잔기는 항원 결합에 영향을 미침에 있어서 직접적으로 그리고 가장 실질적으로 연루된다.
- [0274] 항체 인간화를 위한 다른 방법은 인간 스트링 내용(Human String Content: HSC)으로 불리는 항체 인간성(humanness)의 측정 기준에 기반한다. 이 방법은 마우스 서열을 인간 생식계열 유전자의 레퍼토리와 비교하고, 차이를 HSC로서 점수화한다. 이어서, 표적 서열은 여러 다양한 인간화된 변이체를 생성하기 위해 전반적 식별(global identity) 척도를 이용하기보다는 HSC를 최대화함으로써 인간화된다(Lazar *et al.*, Mol. Immunol. 44:1986-98 (2007)).
- [0275] 위에서 기재한 방법에 추가로, 경험적 방법을 사용하여 인간화된 항체를 생성 및 선택할 수 있다. 이들 방법은 풍부화 기술 또는 고속대량 선별 기법(high throughput screening technique)을 이용하여 인간화된 변이체의 대형 라이브러리의 생성 및 최고 클론의 선택에 기반하는 것을 포함한다. 항체 변이체는 파지, 리보솜 및 효모 디스플레이 라이브러리로부터 뿐만 아니라 박테리아 콜로니 선별에 의해 분리될 수 있다(예를 들어, 문헌[Hoogenboom, Nat. Biotechnol. 23:1105-16 (2005); Dufner *et al.*, Trends Biotechnol. 24:523-29 (2006); Feldhaus *et al.*, Nat. Biotechnol. 21:163-70 (2003); 및 Schlapschky *et al.*, Protein Eng. Des. Sel. 17:847-60 (2004)] 참조).
- [0276] FR 라이브러리 접근에서, FR 내 특정 위치에 잔여 변이체의 수집이 도입된 후에, 접합된 CDR을 가장 잘 뒷받침하는 FR을 선택하기 위해 라이브러리의 선별이 이어진다. 치환된 잔기는 CDR 구조에 잠재적으로 기여하는 것으로 확인되거나(예를 들어, 문헌[Foote and Winter, J. Mol. Biol. 224:487-99 (1992)] 참조), 또는 문헌[Baca *et al.*, J. Biol. Chem. 272:10678-84 (1997)]에 의해 확인되는 표적 전가의 더 제한된 세트로부터의 "베니어

(Vernier)" 잔기의 일부 또는 모두를 포함할 수 있다.

- [0277] FR 서플링에서, 전체 FR은 선택된 잔기 변이체의 조합 라이브러리를 생성하는 대신에 비인간 CDR과 조합된다(예를 들어, 문헌[Dall'Acqua *et al.*, Methods 36:43-60 (2005)] 참조). 1단계 FR 서플링 공정이 사용될 수 있다. 이러한 공정은, 얻어진 항체가 향상된 발현, 증가된 친화도 및 열 안정성을 포함하는 개선된 생화학적 및 물리화학적 특성을 나타냈기 때문에, 효율적인 것으로 나타났다(예를 들어, 문헌[Damschroder *et al.*, Mol. Immunol. 44:3049-60 (2007)] 참조).
- [0278] "휴머니어링(humaneering)" 방법은 필수 최소 특이성 결정인자(MSD)의 실험적 식별에 기반하며, 비인간 단편의 인간 FR의 라이브러리로의 서열 대체 및 결합 평가에 기반한다. 이 방법은 전형적으로 에피토프 보유, 및 별도의 인간 V-세그먼트 CDR을 갖는 여러 하위부류로부터의 항체의 식별을 초래한다.
- [0279] "인간 조작" 방법은 본래의 비-인간 항체의 바람직한 결합 특성을 보유한다고 해도, 인간에서 면역원성이 감소된 변형된 항체를 생성하기 위해 항체의 아미노산 서열에 대한 특정 변화를 생성함으로써 비-인간 항체 또는 항체 단편을 변경시키는 것을 수반한다. 일반적으로, 상기 기법은 비-인간 항체의 아미노산 잔기를 "저위험", "중간 위험" 또는 "고위험" 잔기로서 분류하는 것을 수반한다. 분류는 얻어진 항체의 폴딩에 치환이 영향을 미칠 위험에 대해 (예를 들어, 인간에서의 면역원성에 대해) 특정 치환을 생성하는 예측된 유익을 평가하는 전반적 위험/보상 계산을 이용하여 수행된다. 비-인간 항체 서열의 주어진 위치(예를 들어, 저위험 또는 중간 위험)에서 치환될 특정 인간 아미노산 잔기는 특정 또는 공통 인간 항체 서열의 대응하는 영역을 갖는 비-인간 항체의 가변 영역으로부터 아미노산 서열을 정렬함으로써 선택될 수 있다. 비인간 서열에서 저위험 또는 중간 위험의 아미노산 잔기는 정렬에 따라 인간 항체 서열에서 대응하는 잔기를 치환할 수 있다. 인간 조작 단백질을 제조하기 위한 기법은 문헌[Studnicka *et al.*, Protein Engineering 7:805-14 (1994)]; 미국 특허 제5,766,886호; 제5,770,196호; 5,821,123호; 및 제5,869,619호; 및 PCT 공개 WO 93/11794에 더 상세하게 기재되어 있다.
- [0280] 복합 인간 항체는, 예를 들어, Composite Human Antibody™ 기술(Antitope Ltd., 영국 캠브리지 소재)을 이용하여 생성될 수 있다. 복합 인간 항체를 생성하기 위해, 가변 영역은 T 세포 에피토프를 피하는 방식으로 다중 인간 항체 가변 영역 서열의 단편으로부터 설계되고, 이에 의해 얻어진 항체의 면역원성을 최소화한다.
- [0281] 탈면역화 항체는 T 세포 에피토프가 제거된 항체이다. 탈면역화 항체의 제조 방법이 기재되었다. 예를 들어, 문헌[Jones *et al.*, Methods Mol Biol. 525:405-23 (2009), xiv, 및 De Groot *et al.*, Cell. Immunol. 244:148-153(2006)]을 참조한다. 탈면역화된 항체는 T 세포 에피토프-고갈 가변 영역 및 인간 불변 영역을 포함한다. 간략히 말해서, 항체의 가변 영역은 클로닝되고, T-세포 에피토프는 후속적으로 T 세포 증식 분석에서 항체의 가변 영역으로부터 유래된 중복 펩타이드를 시험함으로써 확인된다. T 세포 에피토프는 인간 MHC 클래스 II에 대한 펩타이드 결합을 확인하기 위해 인실리코 방법을 통해 확인된다. 돌연변이는 인간 MHC 클래스 II에 대한 결합을 없애기 위해 가변 영역에 도입된다. 이어서, 돌연변이된 가변 영역은 탈면역화된 항체를 생성하는 데 이용된다.
- [0282] **5.2.1.3. 단일 도메인 항체 변이체**
- [0283] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 CAR에서 단일 도메인 항체의 아미노산 서열 변형(들)이 상정된다. 예를 들어, 특이성, 열 안정성, 발현 수준, 효과기 기능, 글리코실화, 감소된 면역원성 또는 용해도를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 최적화하는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체에 추가로, 본 명세서에 기재된 단일 도메인 항체의 변이체가 제조될 수 있다는 것이 상정된다. 예를 들어, 단일 도메인 항체 변이체는 적절한 뉴클레오타이드 변화를 암호화 DNA에 도입함으로써, 그리고/또는 목적하는 항체 또는 폴리펩타이드의 합성에 의해 제조될 수 있다. 당업자는 아미노산 변화가 단일 도메인 항체의 번역 후 과정을 변경시킬 수 있다는 것을 인식한다.
- [0284] 변이는 본래 항체 또는 폴리펩타이드에 비해서 아미노산 서열의 변화를 초래하는 단일 도메인 항체 또는 폴리펩타이드를 암호화하는 하나 이상의 코돈의 치환, 결실 또는 삽입일 수 있다. 치환 돌연변이유발을 위한 관심 대상 부위는 CDR 및 FR을 포함한다.
- [0285] 아미노산 치환은 하나의 아미노산을 유사한 구조적 및/또는 화학적 특성을 갖는 다른 아미노산으로 대체하는 것, 예컨대, 류신의 세린으로의 대체, 예를 들어, 보존적 아미노산 대체의 결과일 수 있다. 당업자에게 공지된 표준 기법은, 예를 들어, 아미노산 치환을 초래하는 부위 지정 돌연변이유발 및 PCR-매개 돌연변이유발을 포함하는, 본 명세서에 제공된 분자를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 돌연변이를 도입하기 위해 사용될 수 있다. 삽입 또는 결실은 선택적으로 약 1 내지 5개의 아미노산 범위일 수 있다. 특정 실시형태에서, 치환, 결실

또는 삽입은 본래 분자에 비해서 25개 미만의 아미노산 치환, 20개 미만의 아미노산 치환, 15개 미만의 아미노산 치환, 10개 미만의 아미노산 치환, 5개 미만의 아미노산 치환, 4개 미만의 아미노산 치환, 3개 미만의 아미노산 치환 또는 2개 미만의 아미노산 치환을 포함한다. 구체적 실시형태에서, 치환은 하나 이상의 예측된 비필수 아미노산 잔기에서 생성된 보존적 아미노산 치환이다. 허용되는 변이는 서열 내 아미노산의 삽입, 결실 또는 치환을 체계적으로 생성하고, 얻어진 변이체를 모 항체에 의해 나타나는 활성에 대해 시험함으로써 결정될 수 있다.

[0286] 아미노산 서열 삽입은 길이가 1개의 잔기 내지 다수 잔기를 함유하는 폴리펩타이드의 범위로 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단의 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다.

[0287] 보존적 아미노산 치환에 의해 생성되는 단일 도메인 항체가 본 개시내용에 포함된다. 보존적 아미노산 치환에서, 아미노산 잔기는 유사한 전하를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된다. 상기 기재한 바와 같이, 유사한 전하를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 당업계에서 정의되었다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄(예를 들어, 라이신, 알라닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 타이로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 타이로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 대안적으로, 돌연변이는 암호화 서열의 모두 또는 일부를 따라서, 예컨대, 포화 돌연변이유발에 의해 무작위로 도입될 수 있고, 얻어진 돌연변이체는 활성을 보유하는 돌연변이체를 확인하기 위해 생물학적 활성에 대해 선별될 수 있다. 돌연변이유발 후에, 암호화된 단백질은 발현될 수 있고, 단백질의 활성은 결정될 수 있다. 특성을 유지하기 위해 또는 특성을 유의미하게 변화시키지 않기 위해 보존적(예를 들어, 유사한 특성을 갖는 아미노산기 및/또는 측쇄 내의) 치환이 이루어질 수 있다. 예시적인 치환을 아래의 표 3에 나타낸다.

표 3

아미노산 치환

본래의 잔기	예시적인 치환	본래의 잔기	예시적인 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Met (M)	Leu; Phe; Ile
Asp (D)	Glu; Asn	Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Cys (C)	Ser; Ala	Pro (P)	Ala
Gln (Q)	Asn; Glu	Ser (S)	Thr
Glu (E)	Asp; Gln	Thr (T)	Val; Ser
Gly (G)	Ala	Trp (W)	Tyr; Phe
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신

[0288]

[0289] 아미노산은 이들의 측쇄 특성의 유사성에 따라 그룹화될 수 있다(예를 들어, 문헌[Lehninger, Biochemistry 73-75 (2d ed. 1975)] 참조): (1) 비극성: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M); (2) 비하전 극성: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q); (3) 산성: Asp (D), Glu (E); 및 (4) 염기성: Lys (K), Arg (R), His(H). 대안적으로, 천연 유래 잔기는 통상적인 측쇄 특성에 기반한 그룹으로 나눌 수 있다: (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) 산성: Asp, Glu; (4) 염기성: His, Lys, Arg; (5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro; 및 (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe. 예를 들어, 단일 도메인 항체의 적절한 구조를 유지하는 데 수반되지 않는 임의의 시스테인 잔기는 또한 다른 아미노산, 예컨대, 알라닌 또는 세린으로 치환되어, 분자의 산화적 안정성을 개선시키고 비정상적 가교를 방지한다. 비보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 다른 부류로 교

환하는 것을 수반할 것이다.

- [0290] 치환 변이체의 한 가지 유형은 모 항체(예를 들어, 인간화된 또는 인간 항체)의 하나 이상의 초가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다. 일반적으로, 추가 연구를 위해 선택된 언어진 변이체(들)는 모 항체에 비해 특정 생물학적 특성(예를 들어, 증가된 친화도, 감소된 면역원성)의 변형(예를 들어, 개선)을 가질 것이고/이거나 모 항체의 특정 생물학적 특성을 실질적으로 보유할 것이다. 예시적인 치환 변이체는, 예를 들어, 파지 디스플레이-기반 친화도 성숙 기법, 예컨대, 본 명세서에 기재된 것을 이용하여 편리하게 생성될 수 있는 친화도 성숙 항체이다. 간략하게, 하나 이상의 CDR 잔기는 돌연변이되고, 변이체 항체는 파지 상에서 나타나며, 특정 생물학적 활성(예를 들어, 결합 친화도)에 대해 선별된다.
- [0291] 변경(예를 들어, 치환)은, 예를 들어, 항체 친화도를 개선시키기 위해 CDR에서 생성될 수 있다. 이러한 변경은 CDR "핫스팟(hotspot)", 즉, 체세포 돌연변이 과정 동안 고친화도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 암호화된 잔기(예를 들어, 문헌[Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)] 참조) 및/또는 SDR(a-CDR)에서 생성될 수 있으며, 언어진 변이체 항체 또는 이의 단편은 결합 친화도에 대해 시험된다. 2차 라이브러리로부터 작제하고 재선택하는 것에 의한 친화도 성숙은, 예를 들어, 문헌[Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., 인간 Press, Totowa, NJ, (2001))]에 기재되어 있다. 친화도 성숙의 일부 실시형태에서, 다양성은 임의의 다양한 방법(예를 들어, 실수 유발 PCR, 쉘 셔플링(chain shuffling) 또는 올리고뉴클레오타이드-유도 돌연변이유발)에 의한 성숙을 위해 선택된 가변 유전자 내로 도입된다. 이어서, 2차 라이브러리가 생성된다. 이어서, 목적하는 친화도로 임의의 항체 변이체를 확인하기 위해 라이브러리가 선별된다. 다양성을 도입하기 위한 다른 방법은 몇몇 CDR 잔기(예를 들어, 한 번에 4 내지 6개의 잔기)가 무작위화되는 CDR-유도 접근을 수반한다. 항원 결합에 수반된 CDR 잔기는, 예를 들어, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 이용하여 특이적으로 확인될 수 있다. 친화도 성숙에 관한 더 상세한 설명은 아래 부문에 제공된다.
- [0292] 일부 실시형태에서, 치환, 삽입 또는 결실은, 이러한 변경은 항원에 결합하는 항체의 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 하나 이상의 CDR 내에서 생길 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경(예를 들어, 본 명세서에 제공된 바와 같은 보존적 치환)은 CDR에서 이루어질 수 있다. 본 명세서에 제공된 변이체 VHH 서열의 일부 실시형태에서, 각각의 CDR은 비변경되거나, 1, 2 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.
- [0293] 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인을 위한 유용한 방법은 문헌[Cunningham and Wells, *Science*, 244:1081-1085 (1989)]에 기재된 바와 같은 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 그룹(예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대, Arg, Asp, His, Lys 및 Glu)이 확인되고, 항체의 항원과의 상호작용이 영향 받는지의 여부를 결정하기 위해 중성 또는 음으로 하전된 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체된다. 초기 치환에 대한 기능적 민감성을 입증하는 아미노산 위치에 추가적인 치환이 도입될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 항체와 항원 사이의 접촉 지점을 확인하기 위해 항원-항체의 결정 구조는 복잡체화된다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃하는 잔기는 치환을 위한 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체는 목적하는 특성을 함유하는지의 여부를 결정하기 위해 선별될 수 있다.
- [0294] 아미노산 서열 삽입은 길이가 1개의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩타이드의 범위인 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단의 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 (예를 들어, ADEPT에 대한) 효소 또는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩타이드의 N- 또는 C-말단에 대한 융합을 포함한다.
- [0295] 변이는 올리고뉴클레오타이드-매개(부위-지정) 돌연변이유발, 알라닌 스캐닝 및 PCR 돌연변이유발과 같은 당업계에 공지된 방법을 이용하여 이루어질 수 있다. 부위-지정 돌연변이유발(예를 들어, 문헌[Carter, *Biochem J.* 237:1-7 (1986); 및 Zoller et al., *Nucl. Acids Res.* 10:6487-500 (1982)] 참조), 카세트 돌연변이유발(예를 들어, 문헌[Wells et al., *Gene* 34:315-23 (1985)] 참조) 또는 다른 공지된 기법은 단일 도메인 항체 변이체 DNA를 생산하기 위해 클로닝된 DNA 상에서 수행될 수 있다.
- [0296] **5.2.1.4. 시험관내 친화도 성숙**
- [0297] 일부 실시형태에서, 모 항체에 비해 개선된 특성, 예컨대, 친화도, 안정성 또는 발현 수준을 갖는 항체 변이체는 시험관내 친화도 성숙에 의해 제조될 수 있다. 천연 원형과 같이, 시험관내 친화도 성숙은 돌연변이 및 선택 원칙에 기반한다. 항체의 라이브러리는 유기체(예를 들어, 파지, 박테리아, 효모 또는 포유류 세포) 표면 상에서 또는 이들의 암호화 mRNA 또는 DNA와 결합하여(예를 들어, 공유 또는 비공유로) 나타난다. 디스플레이된 항

체의 친화도 선택은 항체를 암호화하는 유전자 정보를 운반하는 유기체 또는 복합체의 단리를 가능하게 한다. 파지 디스플레이와 같은 디스플레이 방법을 이용하는 2 또는 3회 라운드의 돌연변이 및 선택은 보통 낮은 나노몰 범위의 친화도로 항체 단편을 생성한다. 친화도 성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰 친화도를 가질 수 있다.

[0298] 파지 디스플레이는 항체의 디스플레이 및 선택에 대해 널리 퍼져 있는 방법이다. 항체는 박테리오파지 외피 단백질에 대한 융합체로서 Fd 또는 M13 박테리오파지의 표면 상에서 나타난다. 선택은 "패닝(panning)"으로 지칭되는 과정인 파지-디스플레이 항체가 이들의 표적에 결합하는 것을 가능하게 하기 위해 항원에 대한 노출을 수반한다. 항원에 결합된 파지는 회수되고, 추가적인 선택 라운드를 위한 파지를 생성하기 위해 박테리아를 감염시키는 데 사용된다. 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Hoogenboom, *Methods. Mol. Biol.* 178:1-37 (2002); 및 Bradbury and Marks, *J. Immunol. Methods* 290:29-49 (2004)]을 참조한다.

[0299] 효모 디스플레이 시스템에서(예를 들어, 문헌[Boder *et al.*, *Nat. Biotech.* 15:553-57 (1997); 및 Chao *et al.*, *Nat. Protocols* 1:755-68 (2006)] 참조), 항체는 Aga1p에 대한 이황화결합을 통해 효모 세포벽에 부착되는 효모 응집소 단백질 Aga2p의 접착 서브유닛에 융합될 수 있다. Aga2p를 통한 단백질의 디스플레이는 세포 표면으로부터 단백질을 돌출시켜, 효모 세포벽 상에서 다른 분자와의 잠재적 상호작용을 최소화한다. 개선된 친화도 또는 안정성을 갖는 항체를 선택하도록 라이브러리를 선별하기 위해 자기 분리 및 유세포분석이 사용된다. 관심의 가용성 항원에 대한 결합은 바이오틴일화된 항원 및 2차 시약, 예컨대, 형광단에 결합된 스트렙타비딘에 의한 효모의 표지에 의해 결정된다. 항체의 표면 발현에서의 변이는 단일쇄 항체(예를 들어, scFv)에 측접하는 혈구응집소 또는 c-Myc 에피토프 태그의 면역형광 표지를 통해 측정될 수 있다. 발현은 디스플레이된 단백질의 안정성과 상관관계가 있는 것으로 나타났고, 따라서 항체는 개선된 안정성뿐만 아니라 친화도에 대해 선택될 수 있다(예를 들어, 문헌[Shusta *et al.*, *J. Mol. Biol.* 292:949-56 (1999)] 참조). 효모 디스플레이의 추가적인 이점은 디스플레이된 단백질이 진행 효모 세포의 소포체에서 접혀서, 소포체 샤페론 및 품질 관리 기작을 이용한다는 것이다. 일단 성숙이 완료되면, 항체 친화도는 편리하게 "적정"될 수 있는 한편, 효모 표면 상에서 디스플레이되어, 각 클론의 발현 및 정제에 대한 필요를 제거한다. 효모 표면 디스플레이의 이론적 제거는 다른 디스플레이 방법보다 잠재적으로 더 작은 기능성 라이브러리 크기이지만; 그러나, 최근의 접근은 크기가 10^{14} 인 것으로 추정되는 조합 다양성을 생성하기 위해 효모 세포 교배 시스템을 사용한다(예를 들어, 미국 특허 공개 제 2003/0186374호; 및 문헌[Blaise *et al.*, *Gene* 342:211-18 (2004)] 참조).

[0300] 리보솜 디스플레이에서, 항체-리보솜-mRNA(ARM) 복합체는 무세포 시스템에서 선택을 위해 생성된다. 항체의 특정 라이브러리에 대해 암호화하는 DNA 라이브러리는 정지 코돈이 없는 스페이스 서열에 유전적으로 융합된다. 이런 스페이스 서열은, 번역될 때, 여전히 펩타이드 tRNA에 부착되고, 리보솜 터널을 점유하며, 따라서 관심 단백질이 리보솜 외부로 돌출되고 폴딩되는 것을 가능하게 한다. mRNA, 리보솜 및 단백질의 얻어진 복합체는 표면-결합 리간드에 결합되어, 리간드에 의한 친화도 포착을 통해 항체 및 이의 암호화 mRNA의 자발적 단리를 가능하게 할 수 있다. 이어서, 리보솜-결합 mRNA는 cDNA로 다시 역전사되고, 이어서, 돌연변이유발을 겪을 수 있고, 다음 선택 라운드에서 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Fukuda *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 34:e127 (2006)] 참조). mRNA 디스플레이에서, 항체와 mRNA 사이의 공유 결합은 어댑터 분자로서 퓨로마이신을 이용하여 확립된다(Wilson *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:3750-55 (2001)).

[0301] 이들 방법은 전적으로 시험관내에서 수행되기 때문에, 이들은 다른 선택 기술보다 2가지의 주된 이점을 더 제공한다. 첫째로, 라이브러리의 다양성은 박테리아 세포의 형질전환 효율에 의해서는 제한되지 않지만, 시험관에 존재하는 리보솜 수 및 상이한 mRNA 분자에 의해서는 제한된다. 둘째로, 임의의 다양화 단계 후에 형질전환되는 라이브러리는 없기 때문에, 무작위 돌연변이는 각 선택 라운드 후에, 예를 들어, 비-프루프리딩 중합효소에 의해 용이하게 도입될 수 있다.

[0302] 일부 실시형태에서, 포유류 디스플레이 시스템이 사용될 수 있다.

[0303] 또한 표적화된 방식으로 또는 무작위 도입을 통해 항체 라이브러리의 CDR에 다양성이 도입될 수 있다. 전자의 접근은 높은 또는 낮은 수준의 돌연변이유발을 통해 항체의 모든 CDR을 순차적으로 표적화하는 것 또는 체세포 초돌연변이의 단리된 핫 스팟(예를 들어, 문헌[Ho *et al.*, *J. Biol. Chem.* 280:607-17 (2005)] 참조) 또는 실험 기반 또는 구조적 이유로 친화도에 영향을 미치는 것으로 의심되는 잔기를 표적화하는 것을 포함한다. 또한 DNA 서플링 또는 유사한 기법을 통해 자연적으로 다양한 영역의 대체에 의해 다양성이 도입될 수 있다(예를 들어, 문헌[Lu *et al.*, *J. Biol. Chem.* 278:43496-507 (2003)]; 미국 특허 제5,565,332호 및 제6,989,250호 참조). 대안의 기법으로서, 프레임워크-영역 잔기로 연장되는 표적 추가변 루프(예를 들어, 문헌[Bond *et al.*,

J. Mol. Biol. 348:699-709 (2005)] 참조)는 CDR에서 루프 결실 및 삽입을 사용하거나, 또는 혼성-기반 다양화를 사용한다(예를 들어, 미국 특허 공개 제2004/0005709호 참조). CDR에서 다양성을 생성하는 추가적인 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제7,985,840호에 개시되어 있다. 항체 라이브러리 및/또는 항체 친화도 성숙을 생성하기 위해 사용될 수 있는 추가적인 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제8,685,897호 및 제8,603,930호 및 미국 특허 공개 제2014/0170705호, 제2014/0094392호, 제2012/0028301호, 제2011/0183855호 및 제2009/0075378호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0304] 라이브러리의 선별은 당업계에 공지된 다양한 기법에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 단일 도메인 항체는 고체 지지체, 칼럼, 핀 또는 셀룰로스/폴리(비닐리덴 플루오라이드) 막/기타 필터 상에 고정되거나, 흡착 플레이트에 고정된 숙주 세포 상에서 발현되거나, 또는 세포 분류에서 사용되거나, 스트랩타비딘-코팅 비드에 의한 포획을 위해 바이오틴에 접합되거나, 또는 디스플레이 라이브러리를 패닝하는 임의의 다른 방법에서 사용될 수 있다.

[0305] 시험관내 친화도 성숙 방법의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Hoogenboom, Nature Biotechnology 23:1105-16 (2005); Quiroz and Sinclair, Revista Ingenieria Biomedica 4:39-51 (2010)]; 및 이들의 참고문헌을 참조한다.

[0306] 5.2.2.CD20 x CD19 이중특이성 CAR

[0307] 다른 양상에서, 세포의 항원 결합 도메인에서 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부분 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD20 sdAb 및 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부분 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD19 sdAb를 포함하는 CD20 및 CD19를 표적으로 하는 이중특이성 CAR이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb(예를 들어, 항-CD19 VHH)의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD20 sdAb(예를 들어, 항-CD20 VHH)의 거리가 더 가깝다. 다른 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD20 sdAb(예를 들어, 항-CD20 VHH)의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb(예를 들어, 항-CD19 VHH) 거리가 더 가깝다.

[0308] 일부 실시형태에서, 이중특이성 본 명세서에 제공된 CAR은, (a) 항-CD20 sdAb 및 항-CD19 sdAb를 포함하는 세포 외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하되, 항-CD20 sdAb는 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 301, 서열번호 302 또는 서열번호 303의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 항-CD19 sdAb는 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88 또는 서열번호 308의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0309] 특정 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 이중특이성 CAR은 아래의 표 4에 예시된 항-CD20 VHH와 항-CD19 VHH의 쌍을 포함한다. 다른 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 이중특이성 CAR은 아래의 표 4에 예시된 항-CD20 VHH와 항-CD19 VHH 쌍의 항-CD20 VHH의 CDR 및 항-CD19 VHH의 CDR을 포함한다.

표 4

예시적인 CD20 x CD19 이중특이성 CAR

예시적인 CD20 x CD19		예시적인 CD20 x CD19	
항-CD20 VHH	항-CD19 VHH	항-CD20 VHH	항-CD19 VHH
VHH-273	VHH-083	VHH-273	huVHH-773
VHH-283	VHH-083	VHH-283	huVHH-773
VHH-313	VHH-083	VHH-313	huVHH-773
VHH-440	VHH-083	VHH-440	huVHH-773
VHH-466	VHH-083	VHH-466	huVHH-773
VHH-496	VHH-083	VHH-496	huVHH-773
VHH-653	VHH-083	VHH-653	huVHH-773
huVHH-253	VHH-083	huVHH-253	huVHH-773
huVHH-256	VHH-083	huVHH-256	huVHH-773
huVHH-260	VHH-083	huVHH-260	huVHH-773
huVHH-746	VHH-083	huVHH-746	huVHH-773
huVHH-750	VHH-083	huVHH-750	huVHH-773
huVHH-753	VHH-083	huVHH-753	huVHH-773
huVHH-836	VHH-083	huVHH-836	huVHH-773
huVHH-840	VHH-083	huVHH-840	huVHH-773
huVHH-843	VHH-083	huVHH-843	huVHH-773
huVHH-846	VHH-083	huVHH-846	huVHH-773
VHH-623	VHH-083	VHH-623	huVHH-773
VHH-640	VHH-083	VHH-640	huVHH-773
VHH-657	VHH-083	VHH-657	huVHH-773
VHH-273	VHH-111	VHH-273	huVHH-776
VHH-283	VHH-111	VHH-283	huVHH-776
VHH-313	VHH-111	VHH-313	huVHH-776
VHH-440	VHH-111	VHH-440	huVHH-776
VHH-466	VHH-111	VHH-466	huVHH-776
VHH-496	VHH-111	VHH-496	huVHH-776
VHH-653	VHH-111	VHH-653	huVHH-776
huVHH-253	VHH-111	huVHH-253	huVHH-776
huVHH-256	VHH-111	huVHH-256	huVHH-776
huVHH-260	VHH-111	huVHH-260	huVHH-776
huVHH-746	VHH-111	huVHH-746	huVHH-776
huVHH-750	VHH-111	huVHH-750	huVHH-776
huVHH-753	VHH-111	huVHH-753	huVHH-776
huVHH-836	VHH-111	huVHH-836	huVHH-776
huVHH-840	VHH-111	huVHH-840	huVHH-776
huVHH-843	VHH-111	huVHH-843	huVHH-776
huVHH-846	VHH-111	huVHH-846	huVHH-776
VHH-623	VHH-111	VHH-623	huVHH-776
VHH-640	VHH-111	VHH-640	huVHH-776
VHH-657	VHH-111	VHH-657	huVHH-776
VHH-273	VHH-131	huVHH-746	VHH-131

[0310]

VHH-283	VHH-131	huVHH-750	VHH-131
VHH-313	VHH-131	huVHH-753	VHH-131
VHH-440	VHH-131	huVHH-836	VHH-131
VHH-466	VHH-131	huVHH-840	VHH-131
VHH-496	VHH-131	huVHH-843	VHH-131
VHH-653	VHH-131	huVHH-846	VHH-131
huVHH-253	VHH-131	VHH-623	VHH-131
huVHH-256	VHH-131	VHH-640	VHH-131
huVHH-260	VHH-131	VHH-657	VHH-131

[0311]

[0312]

5.2.3. CD20 x CD22 이중특이성 CAR

- [0313] 또 다른 양상에서, 세포의 항원 결합 도메인에서 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부문 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD20 sdAb 및 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부문 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD22 sdAb를 포함하는 CD20 및 CD22를 표적으로 하는 이중특이성 CAR이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD22 sdAb(예를 들어, 항-CD22 VHH)의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD20 sdAb(예를 들어, 항-CD20 VHH)의 거리가 더 가깝다. 다른 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD20 sdAb(예를 들어, 항-CD20 VHH)의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD22 sdAb(예를 들어, 항-CD22 VHH)의 거리가 더 가깝다.
- [0314] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 이중특이성 CAR은, (a) 항-CD20 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는 세포 외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하되, 항-CD20 sdAb는 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 301, 서열번호 302 또는 서열번호 303의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 항-CD22 sdAb는 서열번호 129, 서열번호 130, 서열번호 131, 서열번호 132, 서열번호 133, 서열번호 134 또는 서열번호 135의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0315] 특정 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 이중특이성 CAR은 아래의 표 5에 예시된 항-CD20 VHH와 항-CD22 VHH의 쌍을 포함한다. 다른 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 이중특이성 CAR은 아래의 표 5에 예시된 항-CD20 VHH와 항-CD22 VHH 쌍의 항-CD20 VHH의 CDR 및 항-CD19 VHH의 CDR을 포함한다.

표 5

예시적인 CD20 x CD22 이중특이성 CARs

예시적인 CD20 x CD22		예시적인 CD20 x CD22	
항-CD20 VHH	항-CD22 VHH	항-CD20 VHH	항-CD22 VHH
VHH-273	VHH-18	VHH-273	VHH-90
VHH-283	VHH-18	VHH-283	VHH-90
VHH-313	VHH-18	VHH-313	VHH-90
VHH-440	VHH-18	VHH-440	VHH-90
VHH-466	VHH-18	VHH-466	VHH-90
VHH-496	VHH-18	VHH-496	VHH-90
VHH-653	VHH-18	VHH-653	VHH-90
huVHH-253	VHH-18	huVHH-253	VHH-90
huVHH-256	VHH-18	huVHH-256	VHH-90
huVHH-260	VHH-18	huVHH-260	VHH-90
huVHH-746	VHH-18	huVHH-746	VHH-90
huVHH-750	VHH-18	huVHH-750	VHH-90
huVHH-753	VHH-18	huVHH-753	VHH-90
huVHH-836	VHH-18	huVHH-836	VHH-90
huVHH-840	VHH-18	huVHH-840	VHH-90
huVHH-843	VHH-18	huVHH-843	VHH-90
huVHH-846	VHH-18	huVHH-846	VHH-90
VHH-623	VHH-18	VHH-623	VHH-90
VHH-640	VHH-18	VHH-640	VHH-90
VHH-657	VHH-18	VHH-657	VHH-90
VHH-273	VHH-66	VHH-273	VHH-102
VHH-283	VHH-66	VHH-283	VHH-102
VHH-313	VHH-66	VHH-313	VHH-102
VHH-440	VHH-66	VHH-440	VHH-102
VHH-466	VHH-66	VHH-466	VHH-102
VHH-496	VHH-66	VHH-496	VHH-102
VHH-653	VHH-66	VHH-653	VHH-102
huVHH-253	VHH-66	huVHH-253	VHH-102
huVHH-256	VHH-66	huVHH-256	VHH-102
huVHH-260	VHH-66	huVHH-260	VHH-102
huVHH-746	VHH-66	huVHH-746	VHH-102
huVHH-750	VHH-66	huVHH-750	VHH-102
huVHH-753	VHH-66	huVHH-753	VHH-102
huVHH-836	VHH-66	huVHH-836	VHH-102
huVHH-840	VHH-66	huVHH-840	VHH-102
huVHH-843	VHH-66	huVHH-843	VHH-102
huVHH-846	VHH-66	huVHH-846	VHH-102
VHH-623	VHH-66	VHH-623	VHH-102
VHH-640	VHH-66	VHH-640	VHH-102
VHH-657	VHH-66	VHH-657	VHH-102
VHH-273	VHH-87	VHH-273	VHH-105

[0316]

VHH-283	VHH-87	VHH-283	VHH-105
VHH-313	VHH-87	VHH-313	VHH-105
VHH-440	VHH-87	VHH-440	VHH-105
VHH-466	VHH-87	VHH-466	VHH-105
VHH-496	VHH-87	VHH-496	VHH-105
VHH-653	VHH-87	VHH-653	VHH-105
huVHH-253	VHH-87	huVHH-253	VHH-105
huVHH-256	VHH-87	huVHH-256	VHH-105
huVHH-260	VHH-87	huVHH-260	VHH-105
huVHH-746	VHH-87	huVHH-746	VHH-105
huVHH-750	VHH-87	huVHH-750	VHH-105
huVHH-753	VHH-87	huVHH-753	VHH-105
huVHH-836	VHH-87	huVHH-836	VHH-105
huVHH-840	VHH-87	huVHH-840	VHH-105
huVHH-843	VHH-87	huVHH-843	VHH-105
huVHH-846	VHH-87	huVHH-846	VHH-105
VHH-623	VHH-87	VHH-623	VHH-105
VHH-640	VHH-87	VHH-640	VHH-105
VHH-657	VHH-87	VHH-657	VHH-105
VHH-273	huVHH-077		
VHH-283	huVHH-077		
VHH-313	huVHH-077		
VHH-440	huVHH-077		
VHH-466	huVHH-077		
VHH-496	huVHH-077		
VHH-653	huVHH-077		
huVHH-253	huVHH-077		
huVHH-256	huVHH-077		
huVHH-260	huVHH-077		
huVHH-746	huVHH-077		
huVHH-750	huVHH-077		
huVHH-753	huVHH-077		
huVHH-836	huVHH-077		
huVHH-840	huVHH-077		
huVHH-843	huVHH-077		
huVHH-846	huVHH-077		
VHH-623	huVHH-077		
VHH-640	huVHH-077		
VHH-657	huVHH-077		

[0317]

[0318]

5.2.4. CD19 x CD22 이중특이성 CAR

[0319]

또 다른 양상에서, 세포의 항원 결합 도메인에서 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부문 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD19 sdAb 및 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부문 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD22 sdAb를 포함하는 CD19 및 CD22를 표적으로 하는 이중특이성 CAR이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD22 sdAb(예를 들어, 항-CD22 VHH)의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb(예를 들어, 항-CD19 VHH)의 거리가 더 가깝다. 다른 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb(예를 들어, 항-CD19 VHH)의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD22 sdAb(예를 들어, 항-CD22 VHH) 거리가 더 가깝다.

[0320]

일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 이중특이성 CAR은, (a) 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하되, 항-CD19 sdAb는 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88 또는 서열번호 308의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 항-CD22 sdAb는 서열번호 129, 서열번호 130, 서열번호 131, 서열번호 132, 서열번호 133, 서열번호 134 또는 서열번호 135의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0321]

특정 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 이중특이성 CAR은 아래의 표 6에 예시된 항-CD19 VHH와 항-CD22 VHH의 쌍을 포함한다. 다른 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 이중특이성 CAR은 아래의 표 6에 예시된

항-CD19 VHH와 항-CD22 VHH 쌍의 항-CD19 VHH의 CDR 및 항-CD22 VHH의 CDR을 포함한다.

표 6

예시적인 CD19 x CD22 이중특이성 CAR

예시적인 CD19 x CD22		예시적인 CD19 x CD22	
항-CD19 VHH	항-CD22 VHH	항-CD19 VHH	항-CD22 VHH
VHH-083	VHH-18	VHH-083	VHH-90
VHH-111	VHH-18	VHH-111	VHH-90
huVHH-773	VHH-18	huVHH-773	VHH-90
huVHH-776	VHH-18	huVHH-776	VHH-90
VHH-131	VHH-18	VHH-131	VHH-90
VHH-083	VHH-66	VHH-083	VHH-102
VHH-111	VHH-66	VHH-111	VHH-102
huVHH-773	VHH-66	huVHH-773	VHH-102
huVHH-776	VHH-66	huVHH-776	VHH-102
VHH-131	VHH-66	VHH-131	VHH-102
VHH-083	VHH-87	VHH-083	VHH-105
VHH-111	VHH-87	VHH-111	VHH-105
huVHH-773	VHH-87	huVHH-773	VHH-105
huVHH-776	VHH-87	huVHH-776	VHH-105
VHH-131	VHH-87	VHH-131	VHH-105
VHH-083	huVHH-077		
VHH-111	huVHH-077		
huVHH-773	huVHH-077		
huVHH-776	huVHH-077		
VHH-131	huVHH-077		

[0322]

[0323]

5.2.5.CD20 x CD19 x CD22 삼중특이성 CAR

[0324]

또 다른 양상에서, 세포의 항원 결합 도메인에서 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부문 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD20 sdAb, 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부문 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD19 sdAb 및 본 명세서에 제공된(예를 들어, 부문 5.2.1에 기재된 바와 같은) 항-CD22 sdAb를 포함하는 CD20, CD19 및 CD22를 표적으로 하는 삼중특이성 CAR이 본 명세서에 제공된다.

[0325]

일부 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb 또는 항-CD22 sdAb의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD20 sdAb 거리가 더 가깝다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD22 sdAb의 N-말단에 있다. 다른 실시형태에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD22 sdAb의 C-말단에 있다. 일부 실시형태에서, N-말단에서 C-말단까지 본 명세서에 제공된 CAR에서 3개의 sdAb의 순서는 항-CD19 sdAb, 항-CD22 sdAb 및 항-CD20 sdAb이다. 다른 실시형태에서, N-말단에서 C-말단까지 본 명세서에 제공된 CAR에서 3개의 sdAb의 순서는 항-CD22 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD20 sdAb이다.

[0326]

다른 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD20 sdAb 또는 항-CD22 sdAb의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb 거리가 더 가깝다. 일부 실시형태에서, 항-CD20 sdAb는 항-CD22 sdAb의 N-말단에 있다. 다른 실시형태에서, 항-CD20 sdAb는 항-CD22 sdAb의 C-말단에 있다. 일부 실시형태에서, N-말단에서 C-말단까지 본 명세서에 제공된 CAR에서 3개의 sdAb의 순서는 항-CD20 sdAb, 항-CD22 sdAb 및 항-CD19 sdAb이다. 다른 실시형태에서, N-말단에서 C-말단까지 본 명세서에 제공된 CAR에서 3개의 sdAb의 순서는 항-CD22 sdAb, 항-CD20 sdAb 및 항-CD19 sdAb이다.

[0327]

또 다른 실시형태에서, 막관통 도메인에 대한 항-CD19 sdAb 또는 항-CD20 sdAb의 거리보다 막관통 도메인에 대한 항-CD22 sdAb 거리가 더 가깝다. 일부 실시형태에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 N-말단에 있다. 다른 실시형태에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 C-말단에 있다. 일부 실시형태에서, N-말단에서 C-말단까지 본 명세서에 제공된 CAR에서 3개의 sdAb의 순서는 항-CD19 sdAb, 항-CD20 sdAb 및 항-CD22 sdAb이다. 다른 실시형태에서, N-말단에서 C-말단까지 본 명세서에 제공된 CAR에서 3개의 sdAb의 순서는 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb이다.

- [0328] 일부 실시형태에서, 삼중특이성 본 명세서에 제공된 CAR은, (a) 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하되, 항-CD20 sdAb는 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 301, 서열번호 302 또는 서열번호 303의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 항-CD19 sdAb는 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88 또는 서열번호 308의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며; 항-CD22 sdAb는 서열번호 129, 서열번호 130, 서열번호 131, 서열번호 132, 서열번호 133, 서열번호 134 또는 서열번호 135의 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0329] 특정 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 삼중특이성 CAR은 아래의 표 7에 예시된 항-CD20 VHH, 항-CD19 VHH 및 항-CD22 VHH의 조합을 포함한다. 다른 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 삼중특이성 CAR은 아래의 표 7에 예시된 항-CD20 VHH, 항-CD19 VHH 및 항-CD22 VHH의 조합의 항-CD20 VHH의 CDR, 항-CD19 VHH의 CDR 및 항-CD22 VHH의 CDR을 포함한다.

표 7

예시적인 CD20 x CD19 x CD22 삼중특이성 CARs

예시적인 CD20 x CD19 x CD22			예시적인 CD20 x CD19 x CD22		
항-CD20	항-CD19	항-CD22	항-CD20	항-CD19	항-CD22
VHH-273	VHH-083	VHH-18	VHH-273	huVHH-773	VHH-18
VHH-283	VHH-083	VHH-18	VHH-283	huVHH-773	VHH-18
VHH-313	VHH-083	VHH-18	VHH-313	huVHH-773	VHH-18
VHH-440	VHH-083	VHH-18	VHH-440	huVHH-773	VHH-18
VHH-466	VHH-083	VHH-18	VHH-466	huVHH-773	VHH-18
VHH-496	VHH-083	VHH-18	VHH-496	huVHH-773	VHH-18
VHH-653	VHH-083	VHH-18	VHH-653	huVHH-773	VHH-18
huVHH-253	VHH-083	VHH-18	huVHH-253	huVHH-773	VHH-18
huVHH-256	VHH-083	VHH-18	huVHH-256	huVHH-773	VHH-18
huVHH-260	VHH-083	VHH-18	huVHH-260	huVHH-773	VHH-18
huVHH-746	VHH-083	VHH-18	huVHH-746	huVHH-773	VHH-18
huVHH-750	VHH-083	VHH-18	huVHH-750	huVHH-773	VHH-18
huVHH-753	VHH-083	VHH-18	huVHH-753	huVHH-773	VHH-18
huVHH-836	VHH-083	VHH-18	huVHH-836	huVHH-773	VHH-18
huVHH-840	VHH-083	VHH-18	huVHH-840	huVHH-773	VHH-18
huVHH-843	VHH-083	VHH-18	huVHH-843	huVHH-773	VHH-18
huVHH-846	VHH-083	VHH-18	huVHH-846	huVHH-773	VHH-18
VHH-623	VHH-083	VHH-18	VHH-623	huVHH-773	VHH-18
VHH-640	VHH-083	VHH-18	VHH-640	huVHH-773	VHH-18
VHH-657	VHH-083	VHH-18	VHH-657	huVHH-773	VHH-18
VHH-273	VHH-111	VHH-18	VHH-273	huVHH-776	VHH-18
VHH-283	VHH-111	VHH-18	VHH-283	huVHH-776	VHH-18
VHH-313	VHH-111	VHH-18	VHH-313	huVHH-776	VHH-18
VHH-440	VHH-111	VHH-18	VHH-440	huVHH-776	VHH-18
VHH-466	VHH-111	VHH-18	VHH-466	huVHH-776	VHH-18
VHH-496	VHH-111	VHH-18	VHH-496	huVHH-776	VHH-18
VHH-653	VHH-111	VHH-18	VHH-653	huVHH-776	VHH-18
huVHH-253	VHH-111	VHH-18	huVHH-253	huVHH-776	VHH-18
huVHH-256	VHH-111	VHH-18	huVHH-256	huVHH-776	VHH-18
huVHH-260	VHH-111	VHH-18	huVHH-260	huVHH-776	VHH-18
huVHH-746	VHH-111	VHH-18	huVHH-746	huVHH-776	VHH-18
huVHH-750	VHH-111	VHH-18	huVHH-750	huVHH-776	VHH-18
huVHH-753	VHH-111	VHH-18	huVHH-753	huVHH-776	VHH-18
huVHH-836	VHH-111	VHH-18	huVHH-836	huVHH-776	VHH-18
huVHH-840	VHH-111	VHH-18	huVHH-840	huVHH-776	VHH-18
huVHH-843	VHH-111	VHH-18	huVHH-843	huVHH-776	VHH-18
huVHH-846	VHH-111	VHH-18	huVHH-846	huVHH-776	VHH-18
VHH-623	VHH-111	VHH-18	VHH-623	huVHH-776	VHH-18
VHH-640	VHH-111	VHH-18	VHH-640	huVHH-776	VHH-18
VHH-657	VHH-111	VHH-18	VHH-657	huVHH-776	VHH-18
VHH-273	VHH-083	VHH-66	VHH-273	huVHH-773	VHH-66

[0330]

VHH-283	VHH-083	VHH-66	VHH-283	huVHH-773	VHH-66
VHH-313	VHH-083	VHH-66	VHH-313	huVHH-773	VHH-66
VHH-440	VHH-083	VHH-66	VHH-440	huVHH-773	VHH-66
VHH-466	VHH-083	VHH-66	VHH-466	huVHH-773	VHH-66
VHH-496	VHH-083	VHH-66	VHH-496	huVHH-773	VHH-66
VHH-653	VHH-083	VHH-66	VHH-653	huVHH-773	VHH-66
huVHH-253	VHH-083	VHH-66	huVHH-253	huVHH-773	VHH-66
huVHH-256	VHH-083	VHH-66	huVHH-256	huVHH-773	VHH-66
huVHH-260	VHH-083	VHH-66	huVHH-260	huVHH-773	VHH-66
huVHH-746	VHH-083	VHH-66	huVHH-746	huVHH-773	VHH-66
huVHH-750	VHH-083	VHH-66	huVHH-750	huVHH-773	VHH-66
huVHH-753	VHH-083	VHH-66	huVHH-753	huVHH-773	VHH-66
huVHH-836	VHH-083	VHH-66	huVHH-836	huVHH-773	VHH-66
huVHH-840	VHH-083	VHH-66	huVHH-840	huVHH-773	VHH-66
huVHH-843	VHH-083	VHH-66	huVHH-843	huVHH-773	VHH-66
huVHH-846	VHH-083	VHH-66	huVHH-846	huVHH-773	VHH-66
VHH-623	VHH-083	VHH-66	VHH-623	huVHH-773	VHH-66
VHH-640	VHH-083	VHH-66	VHH-640	huVHH-773	VHH-66
VHH-657	VHH-083	VHH-66	VHH-657	huVHH-773	VHH-66
VHH-273	VHH-111	VHH-66	VHH-273	huVHH-776	VHH-66
VHH-283	VHH-111	VHH-66	VHH-283	huVHH-776	VHH-66
VHH-313	VHH-111	VHH-66	VHH-313	huVHH-776	VHH-66
VHH-440	VHH-111	VHH-66	VHH-440	huVHH-776	VHH-66
VHH-466	VHH-111	VHH-66	VHH-466	huVHH-776	VHH-66
VHH-496	VHH-111	VHH-66	VHH-496	huVHH-776	VHH-66
VHH-653	VHH-111	VHH-66	VHH-653	huVHH-776	VHH-66
huVHH-253	VHH-111	VHH-66	huVHH-253	huVHH-776	VHH-66
huVHH-256	VHH-111	VHH-66	huVHH-256	huVHH-776	VHH-66
huVHH-260	VHH-111	VHH-66	huVHH-260	huVHH-776	VHH-66
huVHH-746	VHH-111	VHH-66	huVHH-746	huVHH-776	VHH-66
huVHH-750	VHH-111	VHH-66	huVHH-750	huVHH-776	VHH-66
huVHH-753	VHH-111	VHH-66	huVHH-753	huVHH-776	VHH-66
huVHH-836	VHH-111	VHH-66	huVHH-836	huVHH-776	VHH-66
huVHH-840	VHH-111	VHH-66	huVHH-840	huVHH-776	VHH-66
huVHH-843	VHH-111	VHH-66	huVHH-843	huVHH-776	VHH-66
huVHH-846	VHH-111	VHH-66	huVHH-846	huVHH-776	VHH-66
VHH-623	VHH-111	VHH-66	VHH-623	huVHH-776	VHH-66
VHH-640	VHH-111	VHH-66	VHH-640	huVHH-776	VHH-66
VHH-657	VHH-111	VHH-66	VHH-657	huVHH-776	VHH-66
VHH-273	VHH-083	VHH-87	VHH-273	huVHH-773	VHH-87
VHH-283	VHH-083	VHH-87	VHH-283	huVHH-773	VHH-87
VHH-313	VHH-083	VHH-87	VHH-313	huVHH-773	VHH-87
VHH-440	VHH-083	VHH-87	VHH-440	huVHH-773	VHH-87
VHH-466	VHH-083	VHH-87	VHH-466	huVHH-773	VHH-87
VHH-496	VHH-083	VHH-87	VHH-496	huVHH-773	VHH-87
VHH-653	VHH-083	VHH-87	VHH-653	huVHH-773	VHH-87
huVHH-253	VHH-083	VHH-87	huVHH-253	huVHH-773	VHH-87

[0331]

huVHH-256	VHH-083	VHH-87	huVHH-256	huVHH-773	VHH-87
huVHH-260	VHH-083	VHH-87	huVHH-260	huVHH-773	VHH-87
huVHH-746	VHH-083	VHH-87	huVHH-746	huVHH-773	VHH-87
huVHH-750	VHH-083	VHH-87	huVHH-750	huVHH-773	VHH-87
huVHH-753	VHH-083	VHH-87	huVHH-753	huVHH-773	VHH-87
huVHH-836	VHH-083	VHH-87	huVHH-836	huVHH-773	VHH-87
huVHH-840	VHH-083	VHH-87	huVHH-840	huVHH-773	VHH-87
huVHH-843	VHH-083	VHH-87	huVHH-843	huVHH-773	VHH-87
huVHH-846	VHH-083	VHH-87	huVHH-846	huVHH-773	VHH-87
VHH-623	VHH-083	VHH-87	VHH-623	huVHH-773	VHH-87
VHH-640	VHH-083	VHH-87	VHH-640	huVHH-773	VHH-87
VHH-657	VHH-083	VHH-87	VHH-657	huVHH-773	VHH-87
VHH-273	VHH-111	VHH-87	VHH-273	huVHH-776	VHH-87
VHH-283	VHH-111	VHH-87	VHH-283	huVHH-776	VHH-87
VHH-313	VHH-111	VHH-87	VHH-313	huVHH-776	VHH-87
VHH-440	VHH-111	VHH-87	VHH-440	huVHH-776	VHH-87
VHH-466	VHH-111	VHH-87	VHH-466	huVHH-776	VHH-87
VHH-496	VHH-111	VHH-87	VHH-496	huVHH-776	VHH-87
VHH-653	VHH-111	VHH-87	VHH-653	huVHH-776	VHH-87
huVHH-253	VHH-111	VHH-87	huVHH-253	huVHH-776	VHH-87
huVHH-256	VHH-111	VHH-87	huVHH-256	huVHH-776	VHH-87
huVHH-260	VHH-111	VHH-87	huVHH-260	huVHH-776	VHH-87
huVHH-746	VHH-111	VHH-87	huVHH-746	huVHH-776	VHH-87
huVHH-750	VHH-111	VHH-87	huVHH-750	huVHH-776	VHH-87
huVHH-753	VHH-111	VHH-87	huVHH-753	huVHH-776	VHH-87
huVHH-836	VHH-111	VHH-87	huVHH-836	huVHH-776	VHH-87
huVHH-840	VHH-111	VHH-87	huVHH-840	huVHH-776	VHH-87
huVHH-843	VHH-111	VHH-87	huVHH-843	huVHH-776	VHH-87
huVHH-846	VHH-111	VHH-87	huVHH-846	huVHH-776	VHH-87
VHH-623	VHH-111	VHH-87	VHH-623	huVHH-776	VHH-87
VHH-640	VHH-111	VHH-87	VHH-640	huVHH-776	VHH-87
VHH-657	VHH-111	VHH-87	VHH-657	huVHH-776	VHH-87
VHH-273	VHH-083	VHH-90	VHH-273	huVHH-773	VHH-90
VHH-283	VHH-083	VHH-90	VHH-283	huVHH-773	VHH-90
VHH-313	VHH-083	VHH-90	VHH-313	huVHH-773	VHH-90
VHH-440	VHH-083	VHH-90	VHH-440	huVHH-773	VHH-90
VHH-466	VHH-083	VHH-90	VHH-466	huVHH-773	VHH-90
VHH-496	VHH-083	VHH-90	VHH-496	huVHH-773	VHH-90
VHH-653	VHH-083	VHH-90	VHH-653	huVHH-773	VHH-90
huVHH-253	VHH-083	VHH-90	huVHH-253	huVHH-773	VHH-90
huVHH-256	VHH-083	VHH-90	huVHH-256	huVHH-773	VHH-90
huVHH-260	VHH-083	VHH-90	huVHH-260	huVHH-773	VHH-90
huVHH-746	VHH-083	VHH-90	huVHH-746	huVHH-773	VHH-90
huVHH-750	VHH-083	VHH-90	huVHH-750	huVHH-773	VHH-90
huVHH-753	VHH-083	VHH-90	huVHH-753	huVHH-773	VHH-90
huVHH-836	VHH-083	VHH-90	huVHH-836	huVHH-773	VHH-90
huVHH-840	VHH-083	VHH-90	huVHH-840	huVHH-773	VHH-90

[0332]

huVHH-843	VHH-083	VHH-90	huVHH-843	huVHH-773	VHH-90
huVHH-846	VHH-083	VHH-90	huVHH-846	huVHH-773	VHH-90
VHH-623	VHH-083	VHH-90	VHH-623	huVHH-773	VHH-90
VHH-640	VHH-083	VHH-90	VHH-640	huVHH-773	VHH-90
VHH-657	VHH-083	VHH-90	VHH-657	huVHH-773	VHH-90
VHH-273	VHH-111	VHH-90	VHH-273	huVHH-776	VHH-90
VHH-283	VHH-111	VHH-90	VHH-283	huVHH-776	VHH-90
VHH-313	VHH-111	VHH-90	VHH-313	huVHH-776	VHH-90
VHH-440	VHH-111	VHH-90	VHH-440	huVHH-776	VHH-90
VHH-466	VHH-111	VHH-90	VHH-466	huVHH-776	VHH-90
VHH-496	VHH-111	VHH-90	VHH-496	huVHH-776	VHH-90
VHH-653	VHH-111	VHH-90	VHH-653	huVHH-776	VHH-90
huVHH-253	VHH-111	VHH-90	huVHH-253	huVHH-776	VHH-90
huVHH-256	VHH-111	VHH-90	huVHH-256	huVHH-776	VHH-90
huVHH-260	VHH-111	VHH-90	huVHH-260	huVHH-776	VHH-90
huVHH-746	VHH-111	VHH-90	huVHH-746	huVHH-776	VHH-90
huVHH-750	VHH-111	VHH-90	huVHH-750	huVHH-776	VHH-90
huVHH-753	VHH-111	VHH-90	huVHH-753	huVHH-776	VHH-90
huVHH-836	VHH-111	VHH-90	huVHH-836	huVHH-776	VHH-90
huVHH-840	VHH-111	VHH-90	huVHH-840	huVHH-776	VHH-90
huVHH-843	VHH-111	VHH-90	huVHH-843	huVHH-776	VHH-90
huVHH-846	VHH-111	VHH-90	huVHH-846	huVHH-776	VHH-90
VHH-623	VHH-111	VHH-90	VHH-623	huVHH-776	VHH-90
VHH-640	VHH-111	VHH-90	VHH-640	huVHH-776	VHH-90
VHH-657	VHH-111	VHH-90	VHH-657	huVHH-776	VHH-90
VHH-273	VHH-083	VHH-102	VHH-273	huVHH-773	VHH-102
VHH-283	VHH-083	VHH-102	VHH-283	huVHH-773	VHH-102
VHH-313	VHH-083	VHH-102	VHH-313	huVHH-773	VHH-102
VHH-440	VHH-083	VHH-102	VHH-440	huVHH-773	VHH-102
VHH-466	VHH-083	VHH-102	VHH-466	huVHH-773	VHH-102
VHH-496	VHH-083	VHH-102	VHH-496	huVHH-773	VHH-102
VHH-653	VHH-083	VHH-102	VHH-653	huVHH-773	VHH-102
huVHH-253	VHH-083	VHH-102	huVHH-253	huVHH-773	VHH-102
huVHH-256	VHH-083	VHH-102	huVHH-256	huVHH-773	VHH-102
huVHH-260	VHH-083	VHH-102	huVHH-260	huVHH-773	VHH-102
huVHH-746	VHH-083	VHH-102	huVHH-746	huVHH-773	VHH-102
huVHH-750	VHH-083	VHH-102	huVHH-750	huVHH-773	VHH-102
huVHH-753	VHH-083	VHH-102	huVHH-753	huVHH-773	VHH-102
huVHH-836	VHH-083	VHH-102	huVHH-836	huVHH-773	VHH-102
huVHH-840	VHH-083	VHH-102	huVHH-840	huVHH-773	VHH-102
huVHH-843	VHH-083	VHH-102	huVHH-843	huVHH-773	VHH-102
huVHH-846	VHH-083	VHH-102	huVHH-846	huVHH-773	VHH-102
VHH-623	VHH-083	VHH-102	VHH-623	huVHH-773	VHH-102
VHH-640	VHH-083	VHH-102	VHH-640	huVHH-773	VHH-102
VHH-657	VHH-083	VHH-102	VHH-657	huVHH-773	VHH-102
VHH-273	VHH-111	VHH-102	VHH-273	huVHH-776	VHH-102
VHH-283	VHH-111	VHH-102	VHH-283	huVHH-776	VHH-102

[0333]

VHH-313	VHH-111	VHH-102	VHH-313	huVHH-776	VHH-102
VHH-440	VHH-111	VHH-102	VHH-440	huVHH-776	VHH-102
VHH-466	VHH-111	VHH-102	VHH-466	huVHH-776	VHH-102
VHH-496	VHH-111	VHH-102	VHH-496	huVHH-776	VHH-102
VHH-653	VHH-111	VHH-102	VHH-653	huVHH-776	VHH-102
huVHH-253	VHH-111	VHH-102	huVHH-253	huVHH-776	VHH-102
huVHH-256	VHH-111	VHH-102	huVHH-256	huVHH-776	VHH-102
huVHH-260	VHH-111	VHH-102	huVHH-260	huVHH-776	VHH-102
huVHH-746	VHH-111	VHH-102	huVHH-746	huVHH-776	VHH-102
huVHH-750	VHH-111	VHH-102	huVHH-750	huVHH-776	VHH-102
huVHH-753	VHH-111	VHH-102	huVHH-753	huVHH-776	VHH-102
huVHH-836	VHH-111	VHH-102	huVHH-836	huVHH-776	VHH-102
huVHH-840	VHH-111	VHH-102	huVHH-840	huVHH-776	VHH-102
huVHH-843	VHH-111	VHH-102	huVHH-843	huVHH-776	VHH-102
huVHH-846	VHH-111	VHH-102	huVHH-846	huVHH-776	VHH-102
VHH-623	VHH-111	VHH-102	VHH-623	huVHH-776	VHH-102
VHH-640	VHH-111	VHH-102	VHH-640	huVHH-776	VHH-102
VHH-657	VHH-111	VHH-102	VHH-657	huVHH-776	VHH-102
VHH-273	VHH-083	VHH-105	VHH-273	huVHH-773	VHH-105
VHH-283	VHH-083	VHH-105	VHH-283	huVHH-773	VHH-105
VHH-313	VHH-083	VHH-105	VHH-313	huVHH-773	VHH-105
VHH-440	VHH-083	VHH-105	VHH-440	huVHH-773	VHH-105
VHH-466	VHH-083	VHH-105	VHH-466	huVHH-773	VHH-105
VHH-496	VHH-083	VHH-105	VHH-496	huVHH-773	VHH-105
VHH-653	VHH-083	VHH-105	VHH-653	huVHH-773	VHH-105
huVHH-253	VHH-083	VHH-105	huVHH-253	huVHH-773	VHH-105
huVHH-256	VHH-083	VHH-105	huVHH-256	huVHH-773	VHH-105
huVHH-260	VHH-083	VHH-105	huVHH-260	huVHH-773	VHH-105
huVHH-746	VHH-083	VHH-105	huVHH-746	huVHH-773	VHH-105
huVHH-750	VHH-083	VHH-105	huVHH-750	huVHH-773	VHH-105
huVHH-753	VHH-083	VHH-105	huVHH-753	huVHH-773	VHH-105
huVHH-836	VHH-083	VHH-105	huVHH-836	huVHH-773	VHH-105
huVHH-840	VHH-083	VHH-105	huVHH-840	huVHH-773	VHH-105
huVHH-843	VHH-083	VHH-105	huVHH-843	huVHH-773	VHH-105
huVHH-846	VHH-083	VHH-105	huVHH-846	huVHH-773	VHH-105
VHH-623	VHH-083	VHH-105	VHH-623	huVHH-773	VHH-105
VHH-640	VHH-083	VHH-105	VHH-640	huVHH-773	VHH-105
VHH-657	VHH-083	VHH-105	VHH-657	huVHH-773	VHH-105
VHH-273	VHH-111	VHH-105	VHH-273	huVHH-776	VHH-105
VHH-283	VHH-111	VHH-105	VHH-283	huVHH-776	VHH-105
VHH-313	VHH-111	VHH-105	VHH-313	huVHH-776	VHH-105
VHH-440	VHH-111	VHH-105	VHH-440	huVHH-776	VHH-105
VHH-466	VHH-111	VHH-105	VHH-466	huVHH-776	VHH-105
VHH-496	VHH-111	VHH-105	VHH-496	huVHH-776	VHH-105
VHH-653	VHH-111	VHH-105	VHH-653	huVHH-776	VHH-105
huVHH-253	VHH-111	VHH-105	huVHH-253	huVHH-776	VHH-105
huVHH-256	VHH-111	VHH-105	huVHH-256	huVHH-776	VHH-105

[0334]

huVHH-260	VHH-111	VHH-105	huVHH-260	huVHH-776	VHH-105
huVHH-746	VHH-111	VHH-105	huVHH-746	huVHH-776	VHH-105
huVHH-750	VHH-111	VHH-105	huVHH-750	huVHH-776	VHH-105
huVHH-753	VHH-111	VHH-105	huVHH-753	huVHH-776	VHH-105
huVHH-836	VHH-111	VHH-105	huVHH-836	huVHH-776	VHH-105
huVHH-840	VHH-111	VHH-105	huVHH-840	huVHH-776	VHH-105
huVHH-843	VHH-111	VHH-105	huVHH-843	huVHH-776	VHH-105
huVHH-846	VHH-111	VHH-105	huVHH-846	huVHH-776	VHH-105
VHH-623	VHH-111	VHH-105	VHH-623	huVHH-776	VHH-105
VHH-640	VHH-111	VHH-105	VHH-640	huVHH-776	VHH-105
VHH-657	VHH-111	VHH-105	VHH-657	huVHH-776	VHH-105
VHH-273	VHH-083	huVHH-077	VHH-273	huVHH-773	huVHH-077
VHH-283	VHH-083	huVHH-077	VHH-283	huVHH-773	huVHH-077
VHH-313	VHH-083	huVHH-077	VHH-313	huVHH-773	huVHH-077
VHH-440	VHH-083	huVHH-077	VHH-440	huVHH-773	huVHH-077
VHH-466	VHH-083	huVHH-077	VHH-466	huVHH-773	huVHH-077
VHH-496	VHH-083	huVHH-077	VHH-496	huVHH-773	huVHH-077
VHH-653	VHH-083	huVHH-077	VHH-653	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-253	VHH-083	huVHH-077	huVHH-253	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-256	VHH-083	huVHH-077	huVHH-256	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-260	VHH-083	huVHH-077	huVHH-260	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-746	VHH-083	huVHH-077	huVHH-746	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-750	VHH-083	huVHH-077	huVHH-750	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-753	VHH-083	huVHH-077	huVHH-753	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-836	VHH-083	huVHH-077	huVHH-836	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-840	VHH-083	huVHH-077	huVHH-840	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-843	VHH-083	huVHH-077	huVHH-843	huVHH-773	huVHH-077
huVHH-846	VHH-083	huVHH-077	huVHH-846	huVHH-773	huVHH-077
VHH-623	VHH-083	huVHH-077	VHH-623	huVHH-773	huVHH-077
VHH-640	VHH-083	huVHH-077	VHH-640	huVHH-773	huVHH-077
VHH-657	VHH-083	huVHH-077	VHH-657	huVHH-773	huVHH-077
VHH-273	VHH-111	huVHH-077	VHH-273	huVHH-776	huVHH-077
VHH-283	VHH-111	huVHH-077	VHH-283	huVHH-776	huVHH-077
VHH-313	VHH-111	huVHH-077	VHH-313	huVHH-776	huVHH-077
VHH-440	VHH-111	huVHH-077	VHH-440	huVHH-776	huVHH-077
VHH-466	VHH-111	huVHH-077	VHH-466	huVHH-776	huVHH-077
VHH-496	VHH-111	huVHH-077	VHH-496	huVHH-776	huVHH-077
VHH-653	VHH-111	huVHH-077	VHH-653	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-253	VHH-111	huVHH-077	huVHH-253	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-256	VHH-111	huVHH-077	huVHH-256	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-260	VHH-111	huVHH-077	huVHH-260	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-746	VHH-111	huVHH-077	huVHH-746	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-750	VHH-111	huVHH-077	huVHH-750	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-753	VHH-111	huVHH-077	huVHH-753	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-836	VHH-111	huVHH-077	huVHH-836	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-840	VHH-111	huVHH-077	huVHH-840	huVHH-776	huVHH-077
huVHH-843	VHH-111	huVHH-077	huVHH-843	huVHH-776	huVHH-077

[0335]

huVHH-846	VHH-111	huVHH-077	huVHH-846	huVHH-776	huVHH-077
VHH-623	VHH-111	huVHH-077	VHH-623	huVHH-776	huVHH-077
VHH-640	VHH-111	huVHH-077	VHH-640	huVHH-776	huVHH-077
VHH-657	VHH-111	huVHH-077	VHH-657	huVHH-776	huVHH-077
VHH-273	VHH-131	VHH-18	VHH-313	VHH-131	VHH-87
VHH-283	VHH-131	VHH-18	VHH-440	VHH-131	VHH-87
VHH-313	VHH-131	VHH-18	VHH-466	VHH-131	VHH-87
VHH-440	VHH-131	VHH-18	VHH-496	VHH-131	VHH-87
VHH-466	VHH-131	VHH-18	VHH-653	VHH-131	VHH-87
VHH-496	VHH-131	VHH-18	huVHH-253	VHH-131	VHH-87
VHH-653	VHH-131	VHH-18	huVHH-256	VHH-131	VHH-87
huVHH-253	VHH-131	VHH-18	huVHH-260	VHH-131	VHH-87
huVHH-256	VHH-131	VHH-18	huVHH-746	VHH-131	VHH-87
huVHH-260	VHH-131	VHH-18	huVHH-750	VHH-131	VHH-87
huVHH-746	VHH-131	VHH-18	huVHH-753	VHH-131	VHH-87
huVHH-750	VHH-131	VHH-18	huVHH-836	VHH-131	VHH-87
huVHH-753	VHH-131	VHH-18	huVHH-840	VHH-131	VHH-87
huVHH-836	VHH-131	VHH-18	huVHH-843	VHH-131	VHH-87
huVHH-840	VHH-131	VHH-18	huVHH-846	VHH-131	VHH-87
huVHH-843	VHH-131	VHH-18	VHH-623	VHH-131	VHH-87
huVHH-846	VHH-131	VHH-18	VHH-640	VHH-131	VHH-87
VHH-623	VHH-131	VHH-18	VHH-657	VHH-131	VHH-87
VHH-640	VHH-131	VHH-18	VHH-273	VHH-131	VHH-90
VHH-657	VHH-131	VHH-18	VHH-283	VHH-131	VHH-90
VHH-273	VHH-131	VHH-66	VHH-313	VHH-131	VHH-90
VHH-283	VHH-131	VHH-66	VHH-440	VHH-131	VHH-90
VHH-313	VHH-131	VHH-66	VHH-466	VHH-131	VHH-90
VHH-440	VHH-131	VHH-66	VHH-496	VHH-131	VHH-90
VHH-466	VHH-131	VHH-66	VHH-653	VHH-131	VHH-90
VHH-496	VHH-131	VHH-66	huVHH-253	VHH-131	VHH-90
VHH-653	VHH-131	VHH-66	huVHH-256	VHH-131	VHH-90
huVHH-253	VHH-131	VHH-66	huVHH-260	VHH-131	VHH-90
huVHH-256	VHH-131	VHH-66	huVHH-746	VHH-131	VHH-90
huVHH-260	VHH-131	VHH-66	huVHH-750	VHH-131	VHH-90
huVHH-746	VHH-131	VHH-66	huVHH-753	VHH-131	VHH-90
huVHH-750	VHH-131	VHH-66	huVHH-836	VHH-131	VHH-90
huVHH-753	VHH-131	VHH-66	huVHH-840	VHH-131	VHH-90
huVHH-836	VHH-131	VHH-66	huVHH-843	VHH-131	VHH-90
huVHH-840	VHH-131	VHH-66	huVHH-846	VHH-131	VHH-90
huVHH-843	VHH-131	VHH-66	VHH-623	VHH-131	VHH-90
huVHH-846	VHH-131	VHH-66	VHH-640	VHH-131	VHH-90
VHH-623	VHH-131	VHH-66	VHH-657	VHH-131	VHH-90
VHH-640	VHH-131	VHH-66	VHH-273	VHH-131	VHH-102
VHH-657	VHH-131	VHH-66	VHH-283	VHH-131	VHH-102
VHH-273	VHH-131	VHH-87	VHH-313	VHH-131	VHH-102
VHH-283	VHH-131	VHH-87	VHH-440	VHH-131	VHH-102
VHH-466	VHH-131	VHH-102	VHH-273	VHH-131	huVHH-077

[0336]

VHH-496	VHH-131	VHH-102	VHH-283	VHH-131	huVHH-077
VHH-653	VHH-131	VHH-102	VHH-313	VHH-131	huVHH-077
huVHH-253	VHH-131	VHH-102	VHH-440	VHH-131	huVHH-077
huVHH-256	VHH-131	VHH-102	VHH-466	VHH-131	huVHH-077
huVHH-260	VHH-131	VHH-102	VHH-496	VHH-131	huVHH-077
huVHH-746	VHH-131	VHH-102	VHH-653	VHH-131	huVHH-077
huVHH-750	VHH-131	VHH-102	huVHH-253	VHH-131	huVHH-077
huVHH-753	VHH-131	VHH-102	huVHH-256	VHH-131	huVHH-077
huVHH-836	VHH-131	VHH-102	huVHH-260	VHH-131	huVHH-077
huVHH-840	VHH-131	VHH-102	huVHH-746	VHH-131	huVHH-077
huVHH-843	VHH-131	VHH-102	huVHH-750	VHH-131	huVHH-077
huVHH-846	VHH-131	VHH-102	huVHH-753	VHH-131	huVHH-077
VHH-623	VHH-131	VHH-102	huVHH-836	VHH-131	huVHH-077
VHH-640	VHH-131	VHH-102	huVHH-840	VHH-131	huVHH-077
VHH-657	VHH-131	VHH-102	huVHH-843	VHH-131	huVHH-077
VHH-273	VHH-131	VHH-105	huVHH-846	VHH-131	huVHH-077
VHH-283	VHH-131	VHH-105	VHH-623	VHH-131	huVHH-077
VHH-313	VHH-131	VHH-105	VHH-640	VHH-131	huVHH-077
VHH-440	VHH-131	VHH-105	VHH-657	VHH-131	huVHH-077
VHH-466	VHH-131	VHH-105			
VHH-496	VHH-131	VHH-105			
VHH-653	VHH-131	VHH-105			
huVHH-253	VHH-131	VHH-105			
huVHH-256	VHH-131	VHH-105			
huVHH-260	VHH-131	VHH-105			
huVHH-746	VHH-131	VHH-105			
huVHH-750	VHH-131	VHH-105			
huVHH-753	VHH-131	VHH-105			
huVHH-836	VHH-131	VHH-105			
huVHH-840	VHH-131	VHH-105			
huVHH-843	VHH-131	VHH-105			
huVHH-846	VHH-131	VHH-105			
VHH-623	VHH-131	VHH-105			
VHH-640	VHH-131	VHH-105			
VHH-657	VHH-131	VHH-105			

[0337]

[0338]

일부 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 표 9 및 표 12의 VHH 도메인 조합을 포함한다. 구체적으로는, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 VHH-496, VHH-66 및 VHH-083을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 VHH-273, VHH-66 및 VHH-083을 포함한다.

[0339]

다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-746, huVHH-773 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-750, huVHH-773 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-753, huVHH-773 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-253, huVHH-773 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-256, huVHH-773 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-253, huVHH-776 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-256, huVHH-776 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-746, huVHH-776 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-750, huVHH-776 및 huVHH-077을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 huVHH-753, huVHH-776 및 huVHH-077을 포함한다.

[0340]

5.2.6.기타 다중특이성 CAR

[0341]

일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 다중특이성 CAR은 하나 이상의 추가적인 항원에 결합하는 하나 이상의 추가적인 결합 도메인(예컨대, sdAb)을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CAR에 의해 표적화되는 추가적인 항원(들)은 세포 표면 분자이다. 단일 도메인 항체는 특별한 질환 상태와 연관된 표적 세포 상의 세포 표면 마커로서 작용하는 항원을 인식하도록 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항원은 종양 항원이다. 일부 실시형태에서, 종양 항원은 B 세포 악성종양과 연관된다. 종양은 면역 반응, 특히 T 세포 매개 면역 반응에 대해 표적 항원으로서 작용할 수 있는 다수의 단백질을 발현시킨다. CAR에 의해 표적화되는 항원은 단일 질환 세포 상의 항원 또는 각각 질환에 기여하는 상이한 세포 상에서 발현되는 항원일 수 있다. CAR에 의해 표적화되는

항원은 질환에 직접적으로 또는 간접적으로 관련될 수 있다.

- [0342] 종양 항원은 면역 반응, 특히 T-세포 매개 면역 반응을 유발할 수 있는 종양 세포에 의해 생성된 단백질이다. 본 개시내용의 추가적인 표적화된 항원의 선택은 치료될 특정 암 유형에 따를 것이다. 예시적인 종양 항원은 신경교종-연관 항원, 암배 항원(CEA), β -인간 융모성 성선 자극 호르몬, 알파태아단백질(AFP), 렉틴-반응성 AFP, 티로글로불린, RAGE-1, MN-CAIX, 인간 텔로머라제 역전사효소, RU1, RU2 (AS), 장 카복실 에스테라제, mut hsp70-2, M-CSF, 프로스타제, 전립선-특이적 항원(PSA), PAP, NY-ESO-1, LAGE-1a, p53, 프로스테인, PSMA, HER2/neu, 서비빈 및 텔로머라제, 전립선-암종 종양 항원-1(PCTA-1), MAGE, ELF2M, 호중구 엘라스타제, 에프린 B2, 인슐린 성장 인자 (IGF)-I, IGF-II, IGF-I 수용체 및 메소텔린을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0343] 일부 실시형태에서, 종양 항원은 악성 종양과 연관된 하나 이상의 항원성 암 에피토프를 포함한다. 악성 종양은 면역 공격을 위한 표적 항원으로서 작용할 수 있는 다수의 단백질을 발현시킨다. 이들 분자는 조직-특이적 항원, 예컨대, 흑색종에서 MART-1, 타이로시나제 및 gp100 및 전립선암에서 전립선산인산효소(prostatic acid phosphatase: PAP) 및 전립선-특이적 항원(PSA)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 다른 표적 분자는 형질 전환-관련 분자, 예컨대, 종양유전자 HER2/Neu/ErbB-2의 그룹에 속한다. 표적 항원의 또 다른 그룹은 종양-태아 항원, 예컨대, 암배 항원(CEA)이다. B-세포 림프종에서, 종양-특이적 이디오타이프(idiotype) 면역글로불린은 개개 종양에 독특한 진정한 종양-특이적 면역글로불린 항원을 구성한다. CD20에 추가로, B-세포 분화 항원, 예컨대, CD22 및 CD37은 B-세포 림프종에서 표적 항원에 대한 다른 후보이다.
- [0344] 일부 실시형태에서, 종양 항원은 종양-특이적 항원(TSA) 또는 종양-연관 항원(TAA)이다. TSA는 종양 세포에 독특하며, 신체 내 다른 세포 상에서 일어나지 않는다. TAA 연관 항원은 종양 세포에 독특하지 않으며, 대신에 또한 항원에 대한 면역학적 관용 상태를 유도하지 못한 조건 하에 정상 세포 상에서 발현된다. 종양 상에서 항원의 발현은 면역계가 항원에 반응하는 것을 가능하게 하는 조건 하에서 일어날 수 있다. TAA는 면역계가 미숙일 때, 태아 발생 동안 정상 세포 상에서 발현되거나 반응할 수 없는 항원일 수 있거나, 정상 세포 상에서 극도로 낮은 수준으로 정상적으로 존재하거나, 종양 세포 상에서 훨씬 더 고수준에서 발현되는 항원일 수 있다.
- [0345] TSA 또는 TAA 항원의 비제한적 예는 분화 항원, 예컨대, MART-1/MelanA(MART-I), gp 100(Pmel 17), 타이로시나제, TRP-1, TRP-2 및 종양-특이적 다계통 항원, 예컨대, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15; 과발현된 배아 항원, 예컨대, CEA; 과발현된 종양유전자 및 돌연변이된 종양-억제 유전자, 예컨대, p53, Ras, HER2/neu; 염색체 전좌로부터 초래되는 독특한 종양 항원; 예컨대 BCR-ABL, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR; 및 바이러스 항원, 예컨대, 바이러스 항원, 예컨대, 엡스타인 바르 바이러스 항원 EBVA 및 인유두종바이러스(HPV) 항원 E6 및 E7을 포함한다.
- [0346] 다른 거대, 단백질 기반 항원은 TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, RAGE, NY-ESO, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23HI, PSA, TAG-72, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, 베타-카테닌, CDK4, Mum-1, p 15, p 16, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, 알파-태아단백질, 베타-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3WCA 27.29WBACA, CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68WP1, CO-029, FGF-5, G250, Ga733WEpCAM, HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO- 1, RCAS 1, SDCCAG16, TA-90WMac-2 결합 단백질#사이클로필린 C-결합 단백질, TAAL6, TAG72, TLP 및 TPS를 포함한다.
- [0347] 일부 더 구체적인 실시형태에서, 하나 이상의 추가적인 항원(들)은 CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0348] 본 명세서에 제공된 결합 도메인(들)에 추가로, 본 명세서에 제공된 CAR은, 링커(예를 들어, 펩타이드 링커), 막관통 도메인, 힌지 영역, 신호 펩타이드, 세포내 신호전달 도메인, 공자극 신호전달 도메인 중 하나 이상을 추가로 포함할 수 있으며, 이들 각각은 아래에서 더 상세하게 설명된다.
- [0349] 예를 들어, 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 효과기 세포(예컨대, T 세포)의 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 CD3ζ로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 공자극 분자로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 CD137로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C-말단과 막관통 도메인의 N-말단 사이에 위치한 힌지 도메인(예컨대, CD8α 힌지 도메인)을 더 포함한다. 일부

실시형태에서, CAR은 폴리펩타이드의 N-말단에 위치한 신호 펩타이드(예컨대, CD8 α 신호 펩타이드)를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 N-말단에서 C-말단까지: CD8 α 신호 펩타이드, 세포외 항원-결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막관통 도메인, CD137로부터 유래된 공자극 신호전달 도메인, 및 CD3 ζ로부터 유래된 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0350] 5.2.7. 펩타이드 링커

[0351] 본 명세서에 기재된 다중특이성 CAR에서 다양한 단일 도메인 항체는 펩타이드 링커를 통해 서로 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, 단일 도메인 항체는 임의의 펩타이드 링커 없이 서로 직접 융합된다. 상이한 단일 도메인 항체를 연결하는 펩타이드 링커(예를 들어, VHH)는 동일 또는 상이할 수 있다. CAR의 상이한 도메인은 또한 펩타이드 링커를 통해 서로 융합될 수 있다.

[0352] CAR에서 각 펩타이드 링커는 단일 도메인 항체 및/또는 다양한 도메인은 구조적 및/또는 기능적 특징에 따라서 동일 또는 상이한 길이 및/또는 서열을 가질 수 있다. 각 펩타이드 링커는 선택되고 독립적으로 최적화될 수 있다. CAR에서 사용되는 펩타이드 링커(들)의 길이, 가요성 정도 및/또는 다른 특성은 하나 이상의 특정 항원 또는 에피토프에 대한 친화도, 특이성 또는 결합활성을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 특성에 대한 일부 영향을 가질 수 있다. 예를 들어, 더 긴 펩타이드 링커는 2개의 인접한 도메인이 서로 입체적으로 방해하지 않는다는 것을 보장하도록 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 짧은 펩타이드 링커는 CAR의 막관통 도메인과 세포내 신호전달 도메인 사이에 배치될 수 있다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 가요성 잔기는 가요성 잔기(예컨대 글리신 및 세린)를 포함하고, 따라서 인접한 도메인은 서로에 대해 움직임이 자유롭다. 예를 들어, 글리신-세린 이중선은 적합한 펩타이드 링커일 수 있다.

[0353] 아래의 부분 6에서 입증되는 바와 같이, sdAb 사이의 펩타이드 링커 길이는 CAR-T 세포 효과에 대한 영향을 갖고, 더 짧은 링커는 더 긴 링커보다 더 양호한 효과를 생성한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 약 100, 75, 50, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5개 이하의 아미노산 길이 중 어느 하나 이하이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커의 길이는 약 1개의 아미노산 내지 약 10개의 아미노산, 약 1개의 아미노산 내지 약 20개의 아미노산, 약 1개의 아미노산 내지 약 30개의 아미노산, 약 5개의 아미노산 내지 약 15개의 아미노산, 약 10개의 아미노산 내지 약 25개의 아미노산, 약 5개의 아미노산 내지 약 30개의 아미노산, 약 10개의 아미노산 내지 약 30개의 아미노산 길이, 약 30개의 아미노산 내지 약 50개의 아미노산 중 어느 것이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 30개 이하의 아미노산 길이이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 25개 이하의 아미노산 길이이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 20개 이하의 아미노산 길이, 예컨대, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5개 이하의 아미노산 길이이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 15개 이하의 아미노산 길이이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 10개 이하의 아미노산 길이이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 5개 이하의 아미노산 길이이다.

[0354] 펩타이드 링커는 천연 유래 서열, 또는 비-천연 유래 서열을 가질 수 있다. 예를 들어, 중쇄 단독 항체의 힌지 영역으로부터 유래된 서열은 링커로서 사용될 수 있다. 예를 들어, W01996/34103 참조. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 가요성 링커이다. 예시적인 가요성 링커는 글리신 중합체($(G)_n$), 글리신-세린 중합체(예를 들어, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$, $(GGGS)_n$ 및 $(GGGGS)_n$ 을 포함하며, 여기서, n 은 적어도 1의 정수임), 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체 및 당업계에 공지된 기타 가요성 링커를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예시적인 펩타이드 링커는 아래의 표에 열거한다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 둘 이상의 항-CD20 VHH 도메인을 연결하는 펩타이드 링커는 $(GGGGS)_n$ (서열번호 147)이되, n 은 선택적으로 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다.

표 8

예시적인 펩타이드 링커

서열	서열번호
(GS) _n , n 은, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 및 6 을 포함하는 정수임.	서열번호 143
(GSGGS) _n , n 은, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 및 6 을 포함하는 정수임.	서열번호 144
(GGGS) _n , n 은, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 및 6 을 포함하는 정수임.	서열번호 145
GGGSGGGSGGGGGSGSGGGSGGGSGGGGS	서열번호 146
(GGGGS) _n , n 은, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 및 6 을 포함하는 정수임.	서열번호 147
DGGGS	서열번호 148
TGEKP	서열번호 149
GRR	서열번호 150
GGGSGGGSGGGGGSGSGGGGS	서열번호 151
EGKSSGSGSESKVD	서열번호 152
KESGSVSSEQLAQFRS	서열번호 153
GRRGGGS	서열번호 154
LRQRDGERP	서열번호 155
LRQKDGGGSERP	서열번호 156
LRQKDGGSGGGSERP	서열번호 157
GSTSGSGKPGSGEGST	서열번호 158
GSTSGSGKSSEGKG	서열번호 159
KESGSVSSEQLAQFRSLD	서열번호 160

[0355]

[0356]

예를 들어, W02016014789, W02015158671, W02016102965, US20150299317, W02018067992, US7741465, 문헌 [Colcher *et al.*, *J. Nat. Cancer Inst.* 82:1191-1197 (1990), 및 Bird *et al.*, *Science* 242:423-426 (1988)]에 기재된 바와 같은 당업계에서 공지된 다른 링커는 또한 본 명세서에 제공된 CAR에 포함될 수 있으며, 이들 각각의 개시내용은 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.

[0357]

5.2.8. 막관통 도메인

[0358]

본 개시내용의 CAR은 세포의 항원 결합 도메인에 직접적으로 또는 간접적으로 융합될 수 있는 막관통 도메인을 포함한다. 막관통 도메인은 천연으로부터 또는 합성 공급원으로부터 유래될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 "막관통 도메인"은 세포막, 바람직하게는 진핵 세포막에서 열역학적으로 안정한 임의의 단백질 구조를 지칭한다. 본 명세서에 기재된 CAR에서 사용하기에 적합한 막관통 도메인은 천연 유래 단백질로부터 얻을 수 있다. 대안적으로, 이는 합성, 비천연 유래 단백질 세그먼트, 예를 들어, 세포막에서 열역학적으로 안정한 소수성 단백질 세그먼트일 수 있다.

[0359]

막관통 도메인은 막관통 도메인의 3차원 구조에 기반하여 분류된다. 예를 들어, 막관통 도메인은 알파 나선, 하나 초과 알파 나선의 복합체, 베타-배럴 또는 세포의 인지질 이중층에 걸칠 수 있는 임의의 다른 안정한 구조를 형성할 수 있다. 더 나아가, 막관통 도메인은 또한 또는 대안적으로 막관통 도메인이 막을 가로지르는 통과 수 및 단백질의 배향을 포함하는 막관통 도메인 위상에 기반하여 분류될 수 있다. 예를 들어, 단일-통과 막 단백질(single-pass membrane protein)은 세포막을 한 번 가로지르며, 다중-통과 막 단백질은 세포막을 적어도 2회(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7회 이상) 가로지른다. 막 단백질은 세포 내부 및 외부에 대해 말단 및 막-통과 세그먼트(들)의 위상학에 따라서 I형, II형 또는 III형으로서 정의될 수 있다. I형 막 단백질은 단일 막 스페닝 영역을 갖고, 단백질의 N-말단이 세포의 지질 이중층의 세포외 측면 상에 존재하고 단백질의 C-말단이 세포질 측면 상에 존재하도록 배향된다. II형 막 단백질도 단일 막 스페닝 영역을 갖지만, 단백질의 C-말단이 세포외

지질 이중층의 세포외 측면 상에 존재하고 단백질의 N-말단이 세포질 측면 상에 존재하도록 배향된다. III형 막 단백질은 다중 막-스패닝 세그먼트를 갖고, 추가로 막관통 세그먼트의 수 및 N- 및 C-말단의 위치에 기반하여 다시 분류될 수 있다.

[0360] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 CAR의 막관통 도메인은 I형 단일-통과 막 단백질로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 다회통과 막 단백질로부터의 막관통 도메인은 또한 본 명세서에 기재된 CAR에서 사용하기에 적합할 수 있다. 다회-통과 막 단백질은 복잡한 (적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7개 이상의) 알파 나선 또는 베타 시트 구조를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 다회-통과 막 단백질의 N-말단 및 C-말단은 지질 이중층의 반대측 상에 존재하며, 예를 들어, 단백질의 N-말단은 지질 이중층의 세포질 측면 상에 존재하고, 단백질의 C-말단은 세포외 측면 상에 존재한다.

[0361] 일부 실시형태에서, CAR의 막관통 도메인은 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄의 막관통 도메인, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1(CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB(CD137), GITR, CD40, BAFR, HVEM(LIGHT), SLAMF7, NKp80(KLRP1), CD160, CD19, IL-2R 베타, IL-2R 감마, IL-7R α, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D 및/또는 NKG2C로부터 선택된 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된 분자로부터 유래된다.

[0362] 일부 구체적 실시형태에서, 막관통 도메인은 CD8 α로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 서열 번호 163의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 α의 막관통 도메인이다.

[0363] 본 명세서에 기재된 CAR에서 사용하기 위한 막관통 도메인은 또한 합성, 비천연 유래 단백질 세그먼트의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 합성, 비천연 유래 알파 나선 또는 베타 시트이다. 일부 실시형태에서, 단백질 세그먼트는 적어도 대략 20개의 아미노산, 예를 들어, 적어도 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 이상의 아미노산이다. 합성 막관통 도메인의 예는, 예를 들어, 미국 특허 제7,052,906호 및 PCT 공개 번호 WO 2000/032776에 공지되어 있으며, 이의 관련 개시내용은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0364] 본 명세서에 제공된 막관통 도메인은 막관통 도메인의 C-말단 측면 상에 위치한 막관통 영역 및 세포질 영역을 포함할 수 있다. 막관통 도메인의 세포질 영역은 3개 이상의 아미노산을 포함할 수 있고, 일부 실시형태에서, 지질 이중층에서 막관통 도메인의 배향을 돕는다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 시스테인 잔기는 막관통 도메인의 막관통 영역에 존재한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 시스테인 잔기는 막관통 도메인의 세포질 영역에 존재한다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인의 세포질 영역은 양으로 하전된 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인의 세포질 영역은 아미노산 아르기닌, 세린 및 라이신을 포함한다.

[0365] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인의 막관통 영역은 소수성 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR의 막관통 도메인은 인공 소수성 서열을 포함한다. 예를 들어, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체는 막관통 도메인의 C-말단에 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 막관통 영역은 주로 소수성 아미노산 잔기, 예컨대, 알라닌, 류신, 아이소류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트립토판 또는 발린을 포함한다. 일부 실시형태에서, 막관통 영역은 소수성이다. 일부 실시형태에서, 막관통 영역은 폴리-류신-알라닌 서열을 포함한다. 단백질 또는 단백질 세그먼트의 소수친수(hydrophobicity) 또는 소수성 또는 친수성 특징은 당업계에 공지된 임의의 방법, 예를 들어, Kyte와 Doolittle의 소수친수 분석에 의해 평가될 수 있다.

[0366] 5.2.9. 세포내 신호전달 도메인

[0367] 본 개시내용의 CAR은 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 신호전달 도메인은 CAR을 발현시키는 면역 효과기 세포의 정상 효과기 기능 중 적어도 하나의 활성화를 담당한다. 용어 "효과기 기능"은 세포의 특수화된 기능을 지칭한다. T 세포의 효과기 기능은, 예를 들어, 사이토카인의 분비를 포함하는 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다. 따라서 용어 "세포질 신호전달 도메인"은 효과기 기능 신호를 전달하고 세포가 특수화된 기능을 수행하도록 지시하는 단백질의 부분을 지칭한다. 보통 전체 세포질 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 다수의 경우에, 전체 쇄를 사용하는 것이 필수적이지는 않다. 세포질 신호전달 도메인의 절단 부분이 사용되는 정

도로, 이러한 절단 부분은 효과기 기능 신호를 전달하는 한, 무손상 채 대신에 사용될 수 있다. 따라서 세포질 신호전달 도메인이라는 용어는 효과기 기능 신호를 전달하는 데 충분한 세포질 신호전달 도메인의 임의의 절단 부분을 포함하는 것으로 의도된다.

[0368] 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 효과기 세포의 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 면역 효과기 세포의 1차 세포내 신호전달 도메인으로 본질적으로 이루어진 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. "1차 세포내 신호전달 도메인"은 면역 효과기 기능을 유도하기 위해 자극 방식으로 작용하는 세포질 신호전달 서열을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 타이로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 알려진 신호전달 모티프를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "ITAM"은 다수 면역 세포에서 발견되는 신호전달 분자의 꼬리 부분에 일반적으로 존재하는 보존된 단백질 모티프이다. 모티프는 6 내지 8개 아미노산에 의해 분리되는 아미노산 서열 YxxL/I의 2개 반복부를 포함하여, 보존된 모티프 YxxL/Ix(6-8)YxxL/I를 생성할 수 있되, 각각의 x는 독립적으로 임의의 아미노산이다. 신호전달 분자 내의 ITAM은 세포 내에서 신호전달에 중요하며, 이는 신호 분자의 활성화 후에 ITAM에서 타이로신 잔기의 인산화에 의해 적어도 부분적으로 매개된다. ITAM은 또한 신호전달 경로에 관련된 다른 단백질에 대한 도킹 부위로서 작용할 수 있다. 예시적인 ITAM-포함 1차 세포질 신호전달 서열은 CD3 ζ, FcR 감마(FcR1G), FcR 베타(Fc Epsilon Rib), CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d로부터 유래된 것을 포함한다.

[0369] 일부 실시형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 야생형 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인이다. 일부 실시형태에서, CD3 ζ의 1차 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호 165의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 야생형 CD3 ζ의 1차 세포내 신호전달 도메인. 일부 실시형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 하나 이상의 돌연변이, 예컨대, Q65K를 포함하는 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인의 기능성 돌연변이체이다.

[0370] 5.2.10. 공자극 신호전달 도메인

[0371] 다수의 면역 효과기 세포는 세포 증식, 분화 및 생존을 촉진시킬 뿐만 아니라 세포의 효과기 기능을 활성화시키기 위해 항원-특이적 신호의 자극에 추가로 공자극을 필요로 한다. 일부 실시형태에서, CAR은 적어도 하나의 공자극 신호전달 도메인을 포함한다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "공자극 신호전달 도메인"은 효과기 기능과 같은 면역 반응을 유도하기 위해 세포 내에서 신호 전달을 매개하는 단백질의 적어도 일부를 지칭한다. 본 명세서에 기재된 키메라 수용체의 공자극 신호전달 도메인은 신호를 전달하고 면역 세포, 예컨대, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구 또는 호산구에 의해 매개되는 반응을 조절하는 공자극 단백질로부터의 세포질 신호전달 도메인일 수 있다. "공자극 신호전달 도메인"은 공자극 분자의 세포질 부분일 수 있다. 용어 "공자극 분자"는 공자극 리간드와 특이적으로 결합하고, 이에 의해, 면역 세포에 의한 공자극 반응, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 증식 및 생존을 매개하는 면역 세포(예컨대, T 세포) 상의 동족 결합 상대를 지칭한다.

[0372] 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 단일 공자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 둘 이상의(예컨대 약 2, 3, 4개 이상 중 어느 것의) 공자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 동일한 공자극 신호전달 도메인 중 둘 이상을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 상이한 공자극 단백질로부터의 둘 이상의 공자극 신호전달 도메인, 예컨대, 본 명세서에 기재된 임의의 둘 이상의 공자극 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인(예컨대, CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인) 및 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인 및 1차 세포내 신호전달 도메인(예컨대, CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인)은 선택적 펩타이드 링커를 통해 서로 융합된다. 1차 세포내 신호전달 도메인 및 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인은 임의의 적합한 순서로 배열될 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인은 막관통 도메인과 1차 세포내 신호전달 도메인(예컨대, CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인) 사이에 위치된다. 다중 공자극 신호전달 도메인은 상가적 또는 상승적 자극 효과를 제공할 수 있다.

[0373] 숙주 세포(예를 들어, 면역 세포)에서 공자극 신호전달 도메인의 활성화는 세포가 사이토카인의 생산 및 분비, 식세포 특성, 증식, 분화, 생존 및/또는 세포독성을 증가 또는 감소시키는 것을 유도할 수 있다. 임의의 공자극 분자의 공자극 신호전달 도메인은 본 명세서에 기재된 CAR에서 사용하기에 적합할 수 있다. 공자극 신호전달 도메인의 유형(들)은 면역 효과기 세포 유형과 같은 인자에 기반하여 선택되며, 이때, 효과기 분자는 (예를 들어,

T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구 또는 호산구) 및 목적하는 면역 효과기 기능(예를 들어, ADCC 효과)이 발현될 것이다. CAR에서 사용하기 위한 공자극 신호전달 도메인의 예는 B7/CD28 패밀리의 구성원(예를 들어, B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7, BTLA/CD272, CD28, CTLA-4, G124/VISTA/B7-H5, ICOS/CD278, PD-1, PD-L2/B7-DC 및 PDCD6); TNF 슈퍼패밀리의 구성원(예를 들어, 4-1BB/TNFSF9/CD137, 4-1BB 리간드/TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFSF13C, CD27/TNFRSF7, CD27 리간드/TNFSF7, CD30/TNFRSF8, CD30 리간드/TNFSF8, CD40/TNFRSF5, CD40 리간드/TNFSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, GITR 리간드/TNFSF18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFSF14, 림프톡신-알파/TNF-베타, OX40/TNFRSF4, OX40 리간드/TNFSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNF-알파 및 TNF RII/TNFRSF1B); SLAM 패밀리의 구성원(예를 들어, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6 및 SLAM/CD150); 및 임의의 다른 공자극 분자, 예컨대, CD2, CD7, CD53, CD82/Kai-1, CD90/Thy1, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIR1, HLA 클래스 I, HLA-DR, Ikaros, 인테그린 알파 4/CD49d, 인테그린 알파 4 베타 1, 인테그린 알파 4 베타 7/LPAM-1, LAG-3, TCL1A, TCL1B, CRTAM, DAP12, Dectin-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP, TSLP R, 림프구 기능 연관 항원-1(LFA-1) 및 NKG2C를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 공자극 단백질의 세포질 신호전달 도메인일 수 있다.

[0374] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, 림프구 기능-연관 항원-1(LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 및 CD83에 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0375] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CAR에서 세포내 신호전달 도메인은 CD137로부터 유래된 공자극 신호전달 도메인(즉, 4-1BB)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3ζ의 세포질 신호전달 도메인 및 CD137의 공자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 164의 아미노산 서열을 포함하는 CD137의 공자극 신호전달 도메인을 포함한다.

[0376] 또한 공자극 신호전달 도메인이 면역 세포의 면역 반응을 조절할 수 있도록 본 명세서에 기재된 임의의 공자극 신호전달 도메인의 변이체는 본 개시내용의 범위 이내이다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 야생형 상태에 비해서 최대 10개의 아미노산 잔기 변이(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 또는 8개)를 포함한다. 하나 이상의 아미노산 변이를 포함하는 이러한 공자극 신호전달 도메인은 변이체로 지칭될 수 있다. 공자극 신호전달 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이는 돌연변이를 포함하지 않는 공자극 신호전달 도메인에 비해서 신호전달의 증가 및 향상된 면역 반응 자극을 초래할 수 있다. 공자극 신호전달 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이는 돌연변이를 포함하지 않는 공자극 신호전달 도메인에 비해서 신호전달의 감소 및 감소된 면역 반응 자극을 초래할 수 있다.

[0377] 5.2.11. 힌지 영역

[0378] 본 개시내용의 CAR은 세포의 항원 결합 도메인과 막관통 도메인 사이에 위치한 힌지 도메인을 포함할 수 있다. 힌지 도메인은 단백질의 두 도메인 사이에서 일반적으로 발견되는 아미노산 세그먼트이고, 단백질의 가요성 및 서로에 대해 도메인 중 하나 또는 둘 다의 움직임을 가능하게 할 수 있다. 효과기 분자의 막관통 도메인에 비해 세포의 항원 결합 도메인의 이러한 가요성 및 움직임을 제공하는 임의의 아미노산 서열이 사용될 수 있다.

[0379] 힌지 도메인은 약 10 내지 100개의 아미노산, 예를 들어, 약 15 내지 75개의 아미노산 중 어느 하나, 20 내지 50개의 아미노산, 또는 30 내지 60개의 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 적어도 약 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 또는 75개의 아미노산 길이 중 어느 하나일 수 있다.

[0380] 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 천연 유래 단백질의 힌지 도메인이다. 힌지 도메인을 포함하기 위해 당업계에서 공지된 임의의 단백질의 힌지 도메인은 본 명세서에 기재된 키메라 수용체에서 사용하는 데 적합하다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 천연 유래 단백질의 힌지 도메인의 적어도 일부이고, 키메라 수용체에 가요성을 부여한다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 CD8α로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 CD8α의 힌지 도메인의 일부, 예를 들어, CD8α의 힌지 도메인의 적어도 15(예를 들어, 20, 25, 30, 35 또는 40)개의 연속적 아미노산을 포함하는 단편이다. 일부 실시형태에서, CD8α의 힌지 도메인은 서열번호 162의 아미노산 서열을 포함한다.

[0381] 항체, 예컨대, IgG, IgA, IgM, IgE 또는 IgD 항체의 힌지 도메인은 또한 본 명세서에 기재된 pH-의존적 키메라

수용체 시스템에서 사용하기에 적합하다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 항체의 불변 도메인 CH1 및 CH2에 결합하는 힌지 도메인이다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인이고, 항체의 힌지 도메인 및 항체의 하나 이상의 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인 및 항체의 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인 및 항체의 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체는 IgG, IgA, IgM, IgE 또는 IgD 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 IgG 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체이다. 일부 실시형태에서, 힌지 영역은 IgG1 항체의 힌지 영역 및 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 영역은 IgG1 항체의 힌지 영역 및 CH3 불변 영역을 포함한다.

[0382] 비천연 유래 펩타이드가 또한 본 명세서에 기재된 키메라 수용체에 대한 힌지 도메인으로서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, Fc 수용체의 세포외 리간드-결합 도메인의 C-말단과 막관통 도메인의 N-말단 사이의 힌지 도메인은 펩타이드 링커, 예컨대, (GxS)_n 링커이되, x 및 n은 독립적으로 3 내지 12의 정수일 수 있고, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 이상을 포함한다.

[0383] 5.2.12. 신호 펩타이드

[0384] 본 개시내용의 CAR은 폴리펩타이드의 N-말단에서 신호 펩타이드(신호 서열로도 알려짐)를 포함할 수 있다. 일반적으로, 신호 펩타이드는 세포 내 목적하는 부위에 폴리펩타이드를 표적화하는 펩타이드 서열이다. 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 효과기 분자를 세포의 분비 경로에 표적화하고, 효과기 분자를 지질 이중층에 통합 및 고정시킬 것이다. 본 명세서에 기재된 CAR에서 사용하기에 적합한 천연 유래 단백질 또는 합성의 신호 서열, 비천연 유래 신호 서열을 포함하는 신호 펩타이드는 당업자에게 자명할 것이다. 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 CD8 α, GM-CSF 수용체 α 및 IgG1 중쇄로 이루어진 군으로부터 선택된 분자로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 CD8 α로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, CD8 α의 신호 펩타이드는 서열번호 161의 아미노산 서열을 포함한다.

[0385] 5.2.13. 예시적인 CAR

[0386] 예시적인 다중특이성 CAR은 아래의 부분 6(표 9 및 표 12 참조)에 나타난 바와 같이 생성된다.

[0387] 일부 실시형태에서, 서열번호 174의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 175의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 176의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 177의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 178의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 179의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 180의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 181의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 183의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 184의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 185의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 186의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 187의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 189의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 190의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 191의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 192의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 193의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 194의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 195의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 196의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 197의 아미노산 서열을 포함하거

[illegible]

[0388] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR은 아래의 부문 6에 예시된 CAR 중 어느 하나에 대해서 특정 동일성 백분율로 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 서열번호 174의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 175의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 176의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 177의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 178의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 179의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 180의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이

[illegible]

[illegible]

97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 223의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 224의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 225의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 226의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하거나, 이것으로 이루어진 CAR이 본 명세서에서 제공된다.

[0389] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 임의의 CAR을 암호화하는 단리된 핵산이 본 명세서에서 제공된다. 핵산 서열 및 벡터에 관한 더 상세한 설명을 아래에 제공한다.

[0390] 5.3. 조작된 면역 효과기 세포

[0391] 또 다른 양상에서, 본 명세서에 기재된 다중특이성 CAR 중 어느 하나를 포함하는 숙주 세포(예컨대, 면역 효과기 세포)가 본 명세서에서 제공된다.

[0392] 따라서, 일부 실시형태에서, (a) 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb 중 적어도 둘을 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 폴리펩타이드를 포함하는 다중특이성 CAR을 포함하는 조작된 면역 효과기 세포(예컨대, T 세포)가 본 명세서에서 제공되며, 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb는 각각, 예를 들어, 표 2의 VHH 도메인 및 표 2의 VHH 도메인 중 어느 것에서 1, 2 또는 모두 3개의 CDR을 갖는 것을 포함하여, 위의 부문 5.2.1에 기재된 바와 같다. 일부 실시형태에서, sdAb는 낙타과, 키메라, 인간 또는 인간화된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 효과기 세포(예컨대, T 세포)의 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 공자극 분자로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C-말단과 막관통 도메인의 N-말단 사이에 위치한 힌지 도메인(예컨대, CD8 α 힌지 도메인)을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 폴리펩타이드의 N-말단에 위치한 신호 펩타이드(예컨대, CD8 α 신호 펩타이드)를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 N-말단에서 C-말단까지: CD8 α 신호 펩타이드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막관통 도메인, CD137로부터 유래된 공자극 신호전달 도메인, 및 CD3 ζ 로부터 유래된 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0393] 일부 실시형태에서, 예를 들어, 표 4 내지 표 7, 표 9 및 표 12에 기재된 다중특이성 CAR, 및 서열번호 174 내지 226으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 CAR을 포함하여, 위의 부문 5.2에 기재된 바와 같은 CAR을 포함하는 조작된 면역 효과기 세포(예컨대, T 세포)가 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 174 내지 226으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 CAR을 포함하는 조작된 면역 효과기 세포(예컨대, T 세포)가 본 명세서에서 제공된다.

[0394] 일부 실시형태에서, 조작된 면역 효과기 세포는 T 세포, NK 세포, 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 효과기 세포는 자가이다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 효과기 세포는 동종이계이다.

[0395] 또한 둘 이상의 상이한 CAR을 포함하는(또는 발현시키는) 조작된 면역 효과기 세포가 제공된다. 본 명세서에 기재된 CAR 중 임의의 둘 이상은 조합하여 발현될 수 있다. CAR은 상이한 항원을 표적으로 할 수 있고, 이에 의해 상승적 또는 상가적 효과를 제공할 수 있다. 둘 이상의 CAR이 동일한 벡터 또는 상이한 벡터 상에서 암호화될 수 있다.

[0396] 조작된 면역 효과기 세포는 하나 이상의 치료 단백질 및/또는 면역조절제, 예컨대, 면역 관문 저해제를 추가로

발현시킬 수 있다. 예를 들어, 국제 특허 출원 PCT/CN2016/073489 및 PCT/CN2016/087855를 참조하며, 이들은 본 명세서에 이들의 전문이 참조에 의해 원용된다.

[0397] 5.3.1. 벡터

[0398] 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 CAR 중 어느 하나를 클로닝 및 발현시키기 위한 벡터를 제공한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 진핵 세포, 예컨대, 포유류 세포에서의 복제 및 통합에 적합하다. 일부 실시형태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 바이러스 벡터의 예는 아데노바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 백시니아 벡터, 단순 포진 바이러스 벡터 및 이들의 유도체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 바이러스 벡터 기술은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 예를 들어, 문헌[Sambrook *et al.* (2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)] 및 기타 바이러스학 및 분자 생물학 매뉴얼에 기재되어 있다.

[0399] 포유류 세포에 유전자 전달을 위한 다수의 바이러스 기반 시스템이 개발되었다. 예를 들어, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편리한 플랫폼을 제공한다. 이중성 핵산은 벡터에 삽입될 수 있고, 당업계에 공지된 기법을 이용하여 레트로바이러스 입자에 패키징될 수 있다. 이어서, 재조합 바이러스는 단리되고, 시험관내 또는 생체외에서 조작된 포유류 세포에 전달될 수 있다. 다수의 레트로바이러스 시스템은 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다. 다수의 아데노바이러스 벡터가 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 렌티바이러스 벡터가 사용된다. 일부 실시형태에서, 자기-비활성화 렌티바이러스 벡터가 사용된다. 예를 들어, 면역조절제(예컨대, 면역 관문 저해제) 암호화 서열을 운반하는 자기-비활성화 렌티바이러스 벡터 및/또는 키메라 항원 수용체를 운반하는 자기-비활성화 렌티바이러스 벡터는 당업계에 공지된 프로토콜로 패키징될 수 있다. 얻어진 렌티바이러스 벡터는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 포유류 세포(예컨대, 1차 인간 T 세포)를 형질도입하는 데 사용될 수 있다. 렌티바이러스와 같은 레트로바이러스로부터 유래된 벡터는 장기간 유전자 전달을 달성하기 위한 적합한 도구인데, 이들이 이식유전자의 장기간, 안정적인 통합 및 자손 세포에서 이의 증식을 가능하게 하기 때문이다. 렌티바이러스 벡터는 또한 낮은 면역원성을 갖고, 비증식 세포를 형질도입할 수 있다.

[0400] 일부 실시형태에서, 벡터는 본 명세서에 기재된 CAR을 암호화하는 핵산 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 핵산은, 예를 들어, 제한 엔도뉴클레아제 부위 및 하나 이상의 선택 가능한 마커를 이용하는 것을 포함하는 당업계의 임의의 공지된 분자 클로닝 방법을 이용하여 벡터에 클로닝될 수 있다. 일부 실시형태에서, 핵산은 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 포유류 세포에서의 유전자 발현을 위한 다양한 프로모터가 탐구되었고, 당업계에 공지된 임의의 프로모터가 본 개시내용에서 사용될 수 있다. 프로모터는 구성적 프로모터 또는 조절된 프로모터, 예컨대, 유도성 프로모터로서 대략적으로 범주화될 수 있다.

[0401] 일부 실시형태에서, CAR을 암호화하는 핵산은 구성적 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 구성적 프로모터는 이중성 유전자(이식유전자로도 지칭됨)가 숙주 세포에서 구성적으로 발현되는 것을 가능하게 한다. 본 명세서에 상정된 예시적인 구성적 프로모터는 거대세포바이러스(CMV) 프로모터, 인간 인간 연장 인자-1 알파(hEF1 α), 유비퀴틴 C 프로모터(UbiC), 포스포글리세로키나제 프로모터(PGK), 유인원 바이러스 40 초기 프로모터(SV40) 및 CMV 초기 인핸서(CAGG)와 결합된 닭 β -액틴 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이식유전자 발현을 유도함에 있어서 이러한 구성적 프로모터의 효율은 엄청난 수의 연구에서 널리 비교되었다. 예를 들어, Michael C. Milone 등은 1차 인간 T 세포에서 키메라 항원 수용체 발현을 유도하는 CMV, hEF1 α , UbiC 및 PGK의 효율을 비교하였고, hEF1 α 프로모터가 가장 높은 수준의 이식유전자 발현을 유도할 뿐만 아니라, CD4 및 CD8 인간 T 세포에서 최적으로 유지되었다는 결론을 내렸다(*Molecular Therapy*, 17(8): 1453-1464 (2009)). 일부 실시형태에서, CAR을 암호화하는 핵산은 hEF1 α 프로모터에 작동 가능하게 연결된다.

[0402] 일부 실시형태에서, CAR을 암호화하는 핵산은 유도성 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 유도성 프로모터는 조절된 프로모터의 범주에 속한다. 유도성 프로모터는 한 가지 이상의 조건, 예컨대, 물리적 상태, 조작된 면역 효과기 세포의 미세환경 또는 조작된 면역 효과기 세포의 생리적 상태, 유도물질(즉, 유도제), 또는 이들의 조합에 의해 유도될 수 있다.

[0403] 일부 실시형태에서, 유도 조건은 조작된 포유류 세포에서, 그리고/또는 약제학적 조성물을 받는 대상체에서 내인성 유전자의 발현을 유도하지 않는다. 일부 실시형태에서, 유도 조건은 유도물질, 방사선조사(예컨대, 이온화 방사선, 광), 온도(예컨대, 열), 산화환원 상태, 종양 환경 및 조작된 포유류 세포의 활성화 상태로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0404] 일부 실시형태에서, 벡터는 또한 렌티바이러스 벡터를 통해 형질감염된 숙주 세포 집단으로부터 CAR을 발현시키는 세포를 선택하기 위해 선택 가능한 마커 유전자 또는 리포터 유전자를 포함한다. 선택 가능한 마커와 리포터 유전자는 둘 다 숙주 세포에서의 발현을 가능하게 하기 위해 적절한 조절 서열에 측접될 수 있다. 예를 들어, 벡터는 핵산 서열의 발현 조절에 유용한 전사 및 번역 종결자, 개시 서열 및 프로모터를 포함할 수 있다.
- [0405] 일부 실시형태에서, 벡터는 CAR을 암호화하는 하나 초과 핵산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 제1 CAR을 암호화하는 제1 핵산 서열 및 제2 CAR을 암호화하는 제2 핵산 서열을 포함하는 핵산을 포함하되, 제1 핵산은 자기-절단성 펩타이드를 암호화하는 제3 핵산 서열을 통해 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 일부 실시형태에서, 자기-절단성 펩타이드는 T2A, P2A 및 F2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0406] **5.3.2. 면역 효과기 세포**
- [0407] "면역 효과기 세포"는 면역 효과기 기능을 수행할 수 있는 면역 세포이다. 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 적어도 FcγRIII를 발현시키고, ADCC 효과기 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 면역 효과기 세포의 예는 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC), 자연 살해(NK) 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포, 호중구 및 호산구를 포함한다.
- [0408] 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 T 세포이다. 일부 실시형태에서, T 세포는 CD4+/CD8-, CD4-/CD8+, CD4+/CD8+, CD4-/CD8- 또는 이들의 조합이다. 일부 실시형태에서, T 세포는 CAR을 발현시키고, 표적 세포, 예컨대, CD20+, CD19+ 및/또는 CD22+ 종양 세포에 결합할 때, IL-2, TFN 및/또는 TNF를 생산한다. 일부 실시형태에서, CD8+ T 세포는 CAR을 발현시키고 표적 세포에 결합할 때, 항원-특이적 표적 세포를 용해시킨다.
- [0409] 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 NK 세포이다. 다른 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 확립된 세포주, 예를 들어, NK-92 세포일 수 있다.
- [0410] 일부 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 줄기 세포, 예컨대, 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, iPS 또는 배아 줄기 세포로부터 분화될 수 있다.
- [0411] 조작된 면역 효과기 세포는 면역 효과기 세포, 예컨대, T 세포에 CAR을 도입함으로써 제조된다. 일부 실시형태에서, CAR은 단리된 핵산 중 어느 하나 또는 위에 기재한 벡터 중 어느 하나를 형질감염시킴으로써 면역 효과기 세포에 도입된다. 일부 실시형태에서, CAR은 단백질을 세포막에 삽입하는 한편, CELL SQUEEZE[®]와 같은 미세유동 시스템을 통해 세포를 통과시킴으로써, 면역 효과기 세포에 도입된다(예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제 20140287509호 참조).
- [0412] 벡터 또는 단리된 핵산을 포유류 세포에 도입하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 기재된 벡터는 물리적, 화학적 또는 생물학적 방법에 의해 면역 효과기 세포에 전달될 수 있다.
- [0413] 면역 효과기 세포에 벡터를 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전, 리포펙션, 유전자총, 미량주사법, 전기천공법 등을 포함한다. 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 생산하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Sambrook *et al.* (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 전기천공법에 의해 세포에 도입된다.
- [0414] 벡터를 면역 효과기 세포에 도입하기 위한 생물학적 방법은 DNA 및 RNA 벡터의 사용을 포함한다. 바이러스 벡터는 포유류, 예를 들어, 인간 세포에 유전자를 삽입하기 위해 가장 널리 이용되는 방법이 되었다.
- [0415] 면역 효과기 세포에 벡터를 도입하기 위한 화학적 수단은 콜로이드 분산 시스템, 예컨대, 거대분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로스피어, 비드 및 수중유 에멀션, 마이셀, 혼합 마이셀 및 리포솜을 포함하는 지질-기반 시스템을 포함한다. 시험관내 전달 비히클로서 사용하기 위한 예시적인 콜로이드 시스템은 리포솜(예를 들어, 인공막 소포)이다.
- [0416] 일부 실시형태에서, 임의의 본 명세서에 기재된 CAR을 암호화하는 RNA 분자는 통상적인 방법(예를 들어, 시험관내 전사)에 의해 제조될 수 있고, mRNA 전기천공법과 같은 공지되는 방법을 통해 면역 효과기 세포에 도입된다. 예를 들어, 문헌[Rabinovich *et al.*, Human Gene Therapy 17:1027-1035 (2006)]을 참조한다.
- [0417] 일부 실시형태에서, 형질도입 또는 형질감염된 면역 효과기 세포는 벡터 또는 단리된 핵산의 도입 후에 생체외에서 증식된다. 일부 실시형태에서, 형질도입 또는 형질감염된 면역 효과기 세포는 적어도 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 10일, 12일 또는 14일 중 어느 것 동안에 증식을 위해 배양된다. 일부 실시형태에서, 형질도입 또는 형질감염된 면역 효과기 세포는 조작된 포유류 세포를 선택하기 위해 추가로 평가 또는 선별된다.

- [0418] 형질감염된 세포를 잠재적으로 확인하고 조절 서열의 기능성을 평가하기 위해 리포터 유전자가 사용될 수 있다. 일반적으로, 리포터 유전자는 수용자 유기체 또는 조직에 존재하지 않거나 발현되지 않고 발현이 일부 용이하게 검출 가능한 특성, 예를 들어, 효소 활성화에 의해 나타나는 폴리펩타이드를 암호화하는 유전자이다. 리포터 유전자의 발현은 DNA가 수용자 세포에 도입된 후 적합한 때에 분석된다. 적합한 리포터 유전자는 루시페라제, 베타-갈락토시다제, 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제, 분비된 알칼리성 포스파타제를 암호화하는 유전자 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 포함할 수 있다(예를 들어, 문헌[Ui-Tei *et al.* FEBS Letters 479: 79-82 (2000)]). 적합한 발현 시스템은 잘 공지되어 있고, 공지된 기법을 이용하여 제조되거나 상업적으로 얻을 수 있다.
- [0419] 조작된 면역 효과기 세포에서 CAR을 암호화하는 핵산 존재를 확인하는 다른 방법은, 예를 들어, 당업자에게 잘 공지된 분자 생물학 분석, 예컨대, 서던 및 노던 블롯, RT-PCR 및 PCR; 생화학적 분석, 예컨대, 면역학적 방법(예컨대, ELISA 및 웨스턴 블롯)에 의한 특정 펩타이드의 존재 또는 부재의 검출을 포함한다.
- [0420] **5.3.3.T 세포의 공급원**
- [0421] 일부 실시형태에서, T 세포의 확장 및 유전자 변형 전에, T 세포의 공급원을 대상체로부터 얻는다. T 세포는 말초 혈액 단핵구 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉막 삼출, 비장 조직 및 종양을 포함하는 다수의 공급원으로부터 얻을 수 있다. 일부 실시형태에서, 당업계에서 이용 가능한 다수의 T 세포주가 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, T 세포는 당업자에게 공지된 다수의 기법, 예컨대, Ficoll™ 분리를 이용하여 대상체로부터 수집한 혈액 단위로부터 얻을 수 있다. 일부 실시형태에서, 개체의 순환 혈액으로부터 세포는 성분채집술에 의해 얻는다. 성분채집술 생성물은 전형적으로 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포, 다른 유핵 백혈구, 적혈구 및 혈소판을 포함하는, 림프구를 함유한다. 일부 실시형태에서, 성분채집술에 의해 수집되는 세포는 혈장 분획을 제거하기 위해 그리고 후속 가공 단계를 위해 적절한 완충제 또는 배지에 세포를 위치시키기 위해 세척될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포는 인산염 완충 식염수(PBS)로 세척된다. 일부 실시형태에서, 세포 용액은 칼슘이 없고, 마그네슘이 없을 수 있거나 2가 양이온이 모두는 아니더라도 많이 부족할 수 있다. 칼슘이 존재하지 않을 때 초기 활성화 단계는 확대된 활성화를 야기할 수 있다. 당업자가 용이하게 인식할 바와 같이, 세척 단계는 당업계에 공지된 방법에 의해, 예컨대, 제조업자의 지침에 따라 반자동화된 "통과액" 원심분리(예를 들어, Cobe 2991 세포 처리기, Baxter CytoMate, 또는 Haemonetics Cell Saver 5)를 이용함으로써 달성될 수 있다. 세척 후에, 세포는 다양한 생체적합성 완충제, 예를 들어, 무 Ca^{2+} , 무 Mg^{2+} PBS, PlasmaLyte A, 또는 완충제 유무와 상관없이 다른 식염수 용액에서 재현탁될 수 있다. 대안적으로, 성분채집술 샘플의 바람직하지 않은 성분은 제거되고, 세포는 배양 배지에서 직접적으로 재현탁될 수 있다.
- [0422] 일부 실시형태에서, T 세포는, 적혈구를 용해시키고 단핵구를 고갈시킴으로써, 예를 들어, PERCOLL™ 구배를 통해 또는 역류 원심성 세포분리에 의해 말초 혈액 림프구로부터 분리된다. T 세포의 특정 하위집단, 예컨대, CD3+, CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+ 및 CD45RO+ T 세포는 양성 또는 음성 선택 기법에 의해 추가로 분리될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, T 세포는 목적하는 T 세포의 양성 선택을 위한 충분한 시간 동안에 항-CD3/항-CD28(즉, 3X28)-접합 비드, 예컨대, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T와의 인큐베이션에 의해 분리된다. 일부 실시형태에서, 시간은 약 30분이다. 추가 실시형태에서, 시간은 30분에서 36시간 이상의 및 그 사이의 모든 정수 값의 범위이다. 추가 실시형태에서, 시간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6시간이다. 일부 실시형태에서, 시간은 10 내지 24시간이다. 일부 실시형태에서, 인큐베이션 시간은 24시간이다. 백혈병 환자로부터의 T 세포의 단리를 위해, 더 긴 인큐베이션 시간, 예컨대, 24시간은 세포 수율을 증가시킬 수 있다. 종양 조직으로부터 또는 면역-손상 개체로부터 종양 침윤성 림프구(TIL)를 분리시킴에 있어서, 다른 세포 유형과 비교할 때 소수의 T 세포가 있는 임의의 상황에서 T 세포를 분리시키기 위해 더 긴 인큐베이션 시간이 사용될 수 있다. 추가로, 더 긴 인큐베이션 시간의 사용은 CD8+ T 세포의 포획 효율을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 단순히 시간을 단축 또는 증가시킴으로써, T 세포는 CD3/CD28 비드에 결합되도록 허용되고/되거나 비드 대 T 세포 비율 증가 또는 감소시킴으로써, T 세포의 하위집단은 배양 개시 시 또는 공정 동안의 다른 시점에 우선적으로 선택될 수 있다. 추가적으로, 비드 또는 다른 표면에 대한 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체의 비율 증가 또는 감소시킴으로써, T 세포의 하위집단은 배양 개시 시 또는 공정 동안의 다른 시점에 우선적으로 선택될 수 있다. 당업자는 다회의 선택 라운드가 또한 사용될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 일부 실시형태에서, 선택 절차를 수행하고 활성화 및 확장 공정에서 "비선택" 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. "비선택된" 세포는 또한 추가 선택 라운드가 실시될 수 있다.
- [0423] 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 풍부화는 음성 선택된 세포에 고유한 표면 마커로 향하는 항체의 조합에 의해 달성될 수 있다. 한 가지 방법은 음성 선택된 세포 상에 존재하는 세포 표면 마커로 향하는 단클론성 항체의 각

테일을 사용하는 음성 자기 면역흡착 또는 유세포분석을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 풍부화하기 위해, 단클론성 항체 각테일은 전형적으로 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 특정 실시형태에서, 전형적으로 CD4+, CD25+, CD62Lhi, GITR+ 및 FoxP3+를 발현시키는 조절 T 세포를 풍부화하거나 또는 양성 선택하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로, 특정 실시형태에서, T 조절 세포는 항-CD25 접합 비드 또는 다른 유사한 선택 방법에 의해 고갈된다.

[0424] 양성 또는 음성 선택에 의한 목적하는 세포 집단의 단리를 위해, 세포 농도 및 표면(예를 들어, 입자, 예컨대, 비드)은 달라질 수 있다. 특정 실시형태에서, 세포와 비드의 최대 접촉을 보장하기 위해, 비드 및 세포가 함께 혼합된 용적을 유의미하게 감소시키는 것(즉, 세포 농도를 증가시키는 것)이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 2십억개의 세포/ml 농도가 사용된다. 일 실시형태에서, 1십억개 세포/ml 농도가 사용된다. 추가 실시형태에서, 1억개 초과인 세포/ml가 사용된다. 추가 실시형태에서, 1천만, 1천 5백만, 2천만, 2천 5백만, 3천만, 3천 5백만, 4천만, 4천 5백만 또는 5천만개의 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 또 다른 실시형태에서, 7천 5백만, 8천만, 8천 5백만, 9천만, 9천 5백만 또는 1억개의 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가 실시형태에서, 1억 2천 5백만 또는 1억 5천만개의 세포/ml 농도가 사용될 수 있다. 고농도를 이용하는 것은 증가된 세포 수율, 세포 활성화 및 세포 확장을 초래할 수 있다. 추가로, 높은 세포 농도의 사용은 관심의 표적 항원을 약하게 발현시킬 수 있는 세포, 예컨대, CD28-음성 T 세포, 또는 다수의 종양 세포가 존재하는 샘플(즉, 백혈병 혈액, 종양 조직 등)의 더 효율적인 포획을 가능하게 할 수 있다. 이러한 세포 집단은 치료 가치를 가질 수 있고 얻는 것이 바람직할 것이다. 일부 실시형태에서, 고농도의 세포를 이용하여, 정상적으로는 더 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포의 더 효율적인 선택을 가능하게 한다.

[0425] 일부 실시형태에서, 보다 저농도의 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. T 세포와 표면(예를 들어, 비드와 같은 입자)의 혼합물을 유의미하게 희석시킴으로써, 입자와 세포 사이의 상호작용은 최소화된다. 이는 입자에 결합될 다량의 목적하는 항원을 발현시키는 세포를 선택한다. 예를 들어, CD4+ T 세포는 보다 고수준의 CD28을 발현시키고, 묽은 농도에서 CD8+ T 세포보다는 더 효율적으로 포획된다. 일부 실시형태에서, 사용되는 세포 농도는 5×10^6 /ml이다. 일부 실시형태에서, 사용되는 농도는 약 1×10^5 /ml 내지 1×10^6 /ml, 및 그 사이의 임의의 정수 값일 수 있다.

[0426] 일부 실시형태에서, 세포는 2 내지 10°C, 또는 실온에서 다양한 속도로 다양한 시간 길이 동안 회전자 상에서 인큐베이션될 수 있다.

[0427] 자극을 위해 T 세포는 또한 세척 단계 후에 냉동될 수 있다. 이론에 구속되는 일 없이, 냉동 및 후속 해동 단계는 세포 집단에서 과립구 및 어느 정도의 단핵구를 제거함으로써 더욱 균일한 생성물을 제공할 수 있다. 혈장 및 혈소판을 제거하는 세척 단계 후에, 세포는 냉동 용액에서 현탁될 수 있다. 다수의 냉동 용액 및 파라미터가 당업계에 알려져 있고 본 문맥에서 유용할 것이지만, 한 가지 방법은 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민을 함유하는 PBS, 또는 10% 텍스트란 40 및 5% 텍스트로스, 20% 인간 혈청 알부민 및 7.5% DMSO, 또는 31.25% plasmalyte-A, 31.25% 텍스트로스 5%, 0.45% NaCl, 10% 텍스트란 40 및 5% 텍스트로스, 20% 인간 혈청 알부민 및 7.5% DMSO를 함유하는 배양 배지 또는 예를 들어, Hespan 및 PlasmaLyte A를 함유하는 기타 적합한 세포 냉동 배지를 수반한다. 이어서, 세포를 분당 1°의 속도로 -80°C까지 냉동시키고, 기상(vapor phase)의 액체 질소 보관 탱크에 보관한다. 제어된 냉동의 다른 방법뿐만 아니라 -20°C에서 또는 액체 질소에서 즉시 제어되지 않는 냉동이 사용될 수 있다.

[0428] 일부 실시형태에서, 동결보존된 세포는 해동되고, 본 명세서에 기재된 바와 같이 세척되고, 활성화 전에 실온에서 1시간 동안 둔다.

[0429] 또한 본 명세서에 기재된 바와 같은 확장된 세포가 필요하기 전의 시기에 대상체로부터의 혈액 샘플 수집 또는 성분채집 생성물이 본 개시내용에 상정된다. 이렇게 해서, 확장될 세포의 공급원은 필요한 임의의 시점에, 목적하는 세포, 예컨대, T 세포가 수집되고, T 세포 요법, 예컨대, 본 명세서에 기재된 것으로부터 유익을 얻는 다수의 질환 또는 병태에 대해 T 세포 요법에서 이후의 사용을 위해 단리되고 냉동될 수 있다. 일 실시형태에서, 혈액 샘플 또는 성분채집은 일반적으로 건강한 대상체로부터 취해진다. 특정 실시형태에서, 혈액 샘플 또는 성분채집은 일반적으로 질환이 발생할 위험에 있지만 아직 질환이 발생되지 않은 건강한 대상체로부터 취하며, 관심 세포는 단리되고 이후 사용을 위해 냉동된다. 특정 실시형태에서, T 세포는 이후에 확장, 냉동 및 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 샘플은 본 명세서에 기재된 바와 같은 특정 질환의 진단 직후에 그러나 임의의 치료 전에 환자로부터 수집된다. 추가 실시형태에서, 세포는 나탈리주맵, 에팔리주맵, 항바이러스제, 화학요법, 방사선, 면역억제제, 예컨대, 사이클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 마이코페놀레이트, 및 FK506, 항체

또는 기타 면역절제제, 예컨대, CAMPATH, 항-CD3 항체, 사이토산, 플루다라빈, 사이클로스포린, FK506, 라파마 이신, 마이코페놀산, 스테로이드, FR901228와 같은 제제 및 방사선조사에 의한 치료를 포함하지만, 이들로 제한 되지 않는 다수의 관련 치료 양상 전에 대상체로부터의 혈액 샘플 또는 성분채집으로부터 단리된다. 이들 약물은 칼슘 의존적 포스포타제 칼시뉴린(사이클로스포린 및 FK506)을 저해하거나, 성장 인자 유도 신호전달(라파마 이신)에 중요한 p70S6 키나제를 저해한다(Liu et al., Cell 66:807-815 (1991); Henderson et al., Immun 73:316-321 (1991); Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773 (1993)). 추가 실시형태에서, 세포는 환자에 대해 단리되고, 골수 또는 줄기 세포 이식, 화학요법제, 예컨대, 플루다라빈, 외부 방사선 치료(XRT), 사이클로포스파마이드 또는 OKT3 또는 CAMPATH와 같은 항체를 이용하는 T 세포 절제적 요법(ablative therapy)과 함께(예를 들어, 전에, 동시에 또는 후에) 이후의 사용을 위해 냉동된다. 다른 실시형태에서, 세포는 사전에 단리되고, CD20과 반응하는 제제, 예를 들어, 리툭산과 같은 B-세포 절제적 요법 후의 치료를 위한 이후의 사용을 위해 냉동될 수 있다.

[0430] 일부 실시형태에서, T 세포는 치료 후에 환자로부터 직접 얻는다. 이와 관련하여, 특정 암 치료, 특히 면역계를 손상시키는 약물에 의한 치료 후에, 환자가 치료로부터 정상적으로 회복되는 기간 동안 치료 직후에, 얻어진 T 세포의 품질은 생체외에서 이들이 확장하는 능력에 대해 최적이거나 개선될 수 있다는 것이 관찰되었다. 마찬가지로, 본 명세서에 기재된 방법을 이용하는 생체의 조작 후에, 이들 세포는 향상된 생착 및 생체내 확장을 위한 바람직한 상태일 수 있다. 따라서, 이 회복기 동안에 T 세포, 수지상 세포, 또는 조혈계통의 다른 세포를 포함하는 혈액 세포를 수집하는 것이 본 개시내용의 내용에 상정된다. 추가로, 특정 실시형태에서, 동원(mobilization)(예를 들어, GM-CSF에 의한 동원) 및 컨디셔닝 요법은 대상체에서의 병태를 생성하는 데 사용될 수 있되, 특히 요법 후 정해진 시간 창 동안에 특정 세포 유형의 재증식, 재순환, 재생 및/또는 확장이 선호된다. 예시적인 세포 유형은 T 세포, B 세포, 수지상 세포 및 기타 면역계 세포를 포함한다.

[0431] 5.3.4.T 세포의 활성화 및 확장

[0432] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 CAR에 의한 T 세포의 유전적 변형 전 또는 후에, T 세포는 활성화될 수 있고, 일반적으로, 예를 들어, 미국 특허 제6,352,694호; 제6,534,055호; 제6,905,680호; 제6,692,964호; 제5,858,358호; 제6,887,466호; 제6,905,681호; 제7,144,575호; 제7,067,318호; 제7,172,869호; 제7,232,566호; 제7,175,843호; 제5,883,223호; 제6,905,874호; 제6,797,514호; 제6,867,041호; 및 미국 특허 출원 공개 제20060121005호에 기재된 바와 같은 방법을 이용하여 확장된다.

[0433] 일반적으로, T 세포는 CD3/TCR 복합체 연관 신호를 자극하는 제제 및 T 세포 표면 상에서 공자극 분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 확장될 수 있다. 특히, T 세포 집단은, 예컨대, 항-CD3 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 표면 상에 고정된 항-CD2 항체와의 접촉에 의해, 또는 칼슘 운반체와 함께 단백질 키나제 C 활성화제(예를 들어, 브리오스타틴)와의 접촉에 의해, 본 명세서에 기재된 바와 같이 자극될 수 있다. T 세포 표면 상의 부속 분자의 공자극을 위해, 부속 분자에 결합하는 리간드가 사용된다. 예를 들어, T 세포의 집단은, T 세포의 증식을 자극하는 데 적절한 조건 하에서, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉될 수 있다. CD4+ T 세포 또는 CD8+ T 세포 중 하나의 증식을 자극하기 위해, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체. 항-CD3 항체의 예는 UCHT1, OKT3, HIT3a(BioLegend, 미국 샌디에이고 소재)를 포함하며, 당업계에서 통상적으로 알려진 다른 방법과 같이 사용될 수 있다(Graves J, et al., J.Immunol. 146:2102 (1991); Li B, et al., Immunology 116:487 (2005); Rivollier A, et al., Blood 104:4029 (2004)). 항-CD28 항체의 예는 9.3, B-T3, XR-CD28(Diaclone, 프랑스 브장송 소재)를 포함하고, 당업계에서 통상적으로 알려진 다른 방법과 같이 사용될 수 있다(Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977 (1998); Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9):13191328 (1999); Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63 (1999)).

[0434] 일부 실시형태에서, T 세포에 대한 1차 자극 신호 및 공자극 신호는 상이한 프로토콜에 의해 제공될 수 있다. 예를 들어, 각 신호를 제공하는 제제는 용해되거나 표면에 결합될 수 있다. 표면에 결합될 때, 제제는 동일한 표면에(즉, "시스" 형성으로) 또는 별도의 표면에(즉, "트랜스" 형성으로) 결합될 수 있다. 대안적으로, 한 가지 제제는 표면에 결합될 수 있고, 다른 하나의 제제는 용해될 수 있다. 일 실시형태에서, 공자극 신호를 제공하는 제제는 세포 표면에 결합되고, 1차 활성화 신호를 제공하는 제제는 용해되거나 표면에 결합된다. 특정 실시형태에서, 제제는 둘 다 용해될 수 있다. 다른 실시형태에서, 제제는 가용성 형태일 수 있고, 이어서, 표면, 예컨대, Fc 수용체를 발현시키는 세포 또는 제제에 결합할 항체 또는 다른 결합제에 가교된다. 이와 관련하여, 특정 실시형태에서, 본 개시내용에서 T 세포를 활성화 및 확장시키는 데 사용하기 위한 것으로 고려되는 인공 항원 제시 세포(aAPC)에 대해서는, 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제20040101519호 및 제20060034810호를 참

조한다.

[0435] 일부 실시형태에서, T 세포는 제제-코팅 비드와 조합되고, 비드 및 세포는 후속적으로 분리되며, 이어서, 세포는 배양된다. 대안의 실시형태에서, 배양 전에, 제제-코팅 비드 및 세포는 분리되지 않지만, 함께 배양된다. 추가 실시형태에서, 비드 및 세포는 자기력과 같은 힘의 적용에 의해 처음 농축되고, 세포 표면 마커의 증가된 걸찰을 초래하여, 세포 자극을 유도한다.

[0436] 예로서, 세포 표면 단백질은 항-CD3 및 항-CD28이 부착되어(3X28개의 비드) T 세포와 접촉되는 상자성 비드를 허용함으로써 걸찰될 수 있다. 일 실시형태에서, 세포(예를 들어, 10^4 내지 4×10^8 개의 T 세포) 및 비드(예를 들어, 1:100의 권장 역가에서의 항-CD3/CD28 MACSiBead 입자)는 완충제, 바람직하게는 PBS에서 (칼슘 및 마그네슘과 같은 2가 양이온 없이) 조합된다. 당업자는 임의의 세포 농도가 사용될 수 있다는 것을 용이하게 인식할 수 있다. 예를 들어, 표적 세포는 샘플에서 매우 드물 수 있고, 샘플의 0.01%만을 포함하거나 또는 전체 샘플(즉, 100%)은 관심의 표적 세포를 포함할 수 있다. 따라서, 임의의 세포 수는 본 개시내용의 내용 내이다. 특정 실시형태에서, 세포와 입자의 최대 접촉을 보장하기 위해, 입자 및 세포가 함께 혼합된 용적을 유의미하게 감소시키는 것(즉, 세포 농도를 증가시키는 것)이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 약 2십억개의 세포/ml 농도가 사용된다. 다른 실시형태에서, 1억개 초과인 세포/ml가 사용된다. 추가 실시형태에서, 1천만, 1천 5백만, 2천만, 2천 5백만, 3천만, 3천 5백만, 4천만, 4천 5백만 또는 5천만개의 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 또 다른 실시형태에서, 7천 5백만, 8천만, 8천 5백만, 9천만, 9천 5백만 또는 1억개의 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가 실시형태에서, 1억 2천 5백만 또는 1억 5천만개의 세포/ml 농도가 사용될 수 있다. 고농도를 이용하는 것은 증가된 세포 수율, 세포 활성화 및 세포 확장을 초래할 수 있다. 추가로, 높은 세포 농도의 사용은 관심의 표적 항원을 약하게 발현시킬 수 있는 세포, 예컨대, CD28-음성 T 세포의 더 효율적인 포획을 가능하게 할 수 있다. 이러한 세포 집단은 치료 가치를 가질 수 있고, 특정 실시형태에서 얻는 것이 바람직할 것이다. 예를 들어, 고농도의 세포를 이용하여, 정상적으로는 더 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포의 더 효율적인 선택을 가능하게 한다.

[0437] 일부 실시형태에서, 혼합물은 몇 시간(약 3시간) 내지 약 14일 동안 또는 그 사이의 임의의 매시간의 정수 값 동안에 배양될 수 있다. 다른 실시형태에서, 혼합물은 21일 동안 배양될 수 있다. 일 실시형태에서, 비드 및 T 세포는 약 8일 동안 함께 배양된다. 다른 실시형태에서, 비드 및 T 세포는 2 내지 3일 동안 함께 배양된다. T 세포의 배양 시간이 60일 이상일 수 있도록 몇 주기의 자극이 또한 요망될 수 있다. T 세포 배양에 적절한 조건은 혈청(예를 들어, 소태아 또는 인간 혈청), 인터류킨-2(IL-2), 인슐린, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β 및 TNF- α 또는 당업자에게 공지된 세포 성장을 위한 임의의 다른 첨가제를 포함하는, 증식 및 생존에 필요한 인자를 함유할 수 있는 적절한 배지(예를 들어, 최소 필수 배지 또는 RPMI 배지 1640 또는 X-vivo 15(Lonza))를 포함한다. 세포 성장을 위한 다른 첨가제는 계면활성제, 플라스마네이트, 및 환원제, 예컨대, N-아세틸-시스테인 및 2-머캅토에탄올을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 배지는 아미노산, 피루브산 나트륨 및 비타민이 첨가되거나, 무혈청이거나 적절한 양의 혈청(또는 혈장) 또는 정해진 호르몬 세트 및/또는 T 세포의 성장 및 확장에 충분한 사이토카인(들)의 양이 보충된, RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, X-Vivo 15, 및 X-Vivo 20, 옵티마이저를 포함할 수 있다. 항생제, 예를 들어, 페니실린 및 스트렙토마이신은 실험 배양물에만 포함되며, 대상체에 주입될 세포 배양물에는 포함되지 않는다. 표적 세포는 성장을 지원하는 데 필요한 조건, 예를 들어, 적절한 온도(예를 들어, 37°C) 및 분위기(예를 들어, 공기+5% CO₂) 하에 유지된다. 다양한 자극 시간에 노출된 T 세포는 상이한 특징을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 전형적인 혈액 또는 성분채집된 말초 혈액 단핵구 세포 생성물은 세포독성 또는 억제인자 T 세포 집단(TC, CD8)보다 큰 헬퍼 세포 집단(TH, CD4+)을 갖는다. CD3 및 CD28 수용체를 자극하는 것에 의한 T 세포의 생체의 확장은 약 8 내지 9일 전에 주로 TH 세포로 이루어진 T 세포 집단을 생성하는 반면, 약 8 내지 9일 후에, T 세포의 집단은 TC 세포의 점점 더 큰 집단을 포함한다. 따라서, 치료 목적에 따라서, 우세하게 TH 세포를 포함하는 T 세포 집단을 대상체에게 주입하는 것이 유리할 수 있다. 유사하게, TC 세포의 항원-특이적 서브세트가 단리되었지만, 이 서브세트를 더 큰 정도로 확장시키는 것이 유리할 수 있다.

[0438] 추가로, CD4 및 CD8 마커에 추가로, 다른 표현형 마커는 유의미하게 다르지만, 대부분 세포 확장 과정 동안에 재현 가능하다. 따라서, 이러한 재현 가능성은 특정 목적을 위해 활성화된 T 세포 생성물을 맞추는 능력을 가능하게 한다.

[0439] 5.4. 폴리뉴클레오타이드

[0440] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 다중특이성 본 명세서에 제공된 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 제

[illegible]

CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 217의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 218의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 219의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 220의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 221의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 222의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 223의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 224의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 225의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자는 서열번호 226의 서열을 갖는 CAR을 암호화하는 서열을 포함한다.

[0441] 구체적 실시형태에서, 서열번호 227 내지 279로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 갖는 핵산이 본 명세서에 제공된다.

[0442] 본 개시내용은 추가로 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오타이드의 변이체에 관한 것이되, 변이체는, 예를 들어, 본 개시내용의 단일 도메인 항체 또는 CAR의 단편, 유사체 및/또는 유도체를 암호화한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단일 도메인 항체 또는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 대해 적어도 약 75% 동일, 적어도 약 80% 동일, 적어도 약 85% 동일, 적어도 약 90% 동일, 적어도 약 95% 동일하고, 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 단일 도메인 항체 또는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 대해 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 어구 "참조 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도, 예를 들어, 95% "동일한" 뉴클레오타이드 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드"는 폴리뉴클레오타이드 서열이 참조 뉴클레오타이드 서열의 각 100개의 뉴클레오타이드당 최대 5개의 점 돌연변이를 포함할 수 있다는 것을 제외하고, 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열이 참조 서열과 동일하다는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 다시 말해서, 참조 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 95% 동일한 뉴클레오타이드 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 얻기 위해, 참조 서열에서 뉴클레오타이드의 최대 5%는 결실되거나 다른 뉴클레오타이드로 치환될 수 있거나, 또는 참조 서열에서 총 뉴클레오타이드의 최대 5%의 뉴클레오타이드 수는 참조 서열에 삽입될 수 있다. 참조 서열의 이들 돌연변이는 참조 뉴클레오타이드 서열의 5' 또는 3' 말단 위치 또는 말단 위치 사이의 어느 곳에서나 생길 수 있으며, 참조 서열의 뉴클레오타이드 중에서 개개로 또는 참조 서열 내의 하나 이상의 인접한 기에 배치된다.

[0443] 폴리뉴클레오타이드 변이체는 암호화 영역, 비암호화 영역 또는 둘 다에서의 변형을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 침묵 치환, 첨가 또는 결실을 생성하지만, 암호화된 폴리펩타이드의 특성 또는 활성을 변경시키지 않는 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 (유전자 암호의 축중으로 인해) 폴리펩타이드의 아미노산 서열에 대한 변화를 초래하지 않는 침묵 치환을 포함한다. 폴리뉴클레오타이드 변이체는 다양한 이유로, 예를 들어, 특정 숙주에 대한 코돈 발현을 최적화하기 위해(즉, 인간 mRNA의 코돈을 박테리아 숙주, 예컨대, 이콜라이(*E. coli*)에 의해 선호되는 것으로 바꿈) 생산될 수 있다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 서열의 비암호화 또는 암호화 영역에 적어도 하나의 침묵 돌연변이를 포함한다.

[0444] 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 암호화된 폴리펩타이드의 발현(또는 발현 수준)을 조절 또는 변경시키도록 생산된다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 암호화된 폴리펩타이드의 발현을 증가시키도록 생산된다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 암호화된 폴리펩타이드의 발현을 감소시키도록 생산된다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 모 폴리뉴클레오타이드 서열에 비해서 암호화된 폴리펩타이드의 증가된 발현을 갖는다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 변이체는 모 폴리뉴클레오타이드 서열에 비해서 암호화된 폴리펩타이드의 감소된 발현을 갖는다.

[0445] 또한 본 명세서에 기재된 핵산 분자를 포함하는 벡터가 제공된다. 실시형태에서, 핵산 분자는 재조합 발현 벡터에 혼입될 수 있다. 본 개시내용은 본 개시내용의 임의의 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "재조합 발현 벡터"는 숙주 세포에 의해 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드의 발현을 허용하는 유전자 변형된 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 작제물을 의미하며, 작제물이 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 때, 벡터는 세포 내에서 발현되는 mRNA, 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 갖기에 충분한 조건 하에 세포와 접촉된다.

본 명세서에 기재된 벡터는 전체로서 천연 유래가 아니지만; 그러나, 벡터의 일부는 천연 유래일 수 있다. 기재된 재조합 발현 벡터는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고, 천연 공급원으로부터 부분적으로 합성되거나 얻고, 자연적, 비자연적 또는 변경된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있는, DNA 및 RNA를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 유형의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 재조합 발현 벡터는 천연-유래 또는 비천연 유래 뉴클레오타이드간 결합 또는 결합 유형 둘 다를 포함할 수 있다. 비천연 유래 또는 변경된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드간 결합은 전사 또는 벡터의 복제를 방해하지 않는다.

[0446] 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 발현 벡터는 임의의 적합한 재조합 발현 벡터일 수 있으며, 임의의 적합한 숙주를 형질전환 또는 형질감염시키기 위해 사용될 수 있다. 적합한 벡터는 플라스미드 및 바이러스와 같이 증식 및 확장을 위해 또는 발현 또는 둘 다를 위해 설계된 것을 포함한다. 벡터는 pUC 시리즈(Fermentas Life Sciences, 메릴랜드주 글렌 버니 소재), pBluescript 시리즈(Stratagene, 캘리포니아주 라호야 소재), pET 시리즈(Novagen, 위스콘신주 메디슨 소재), pGEX 시리즈(Pharmacia Biotech, 스웨덴 옘살라 소재) 및 pEX 시리즈(Clontech, 캘리포니아주 팔로알토 소재)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 박테리오파지 벡터, 예컨대, λGT10, λGT11, λEMBL4 및 λNM1149, λZapII(Stratagene)가 사용될 수 있다. 식물 발현 벡터의 예는 pBI01, pBI01.2, pBI121, pBI101.3 및 pBIN19(Clontech)를 포함한다. 동물 발현 벡터의 예는 pEUK-C1, pMAM 및 pMAMneo(Clontech)를 포함한다. 재조합 발현 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터, 예를 들어, 감마 레트로바이러스 벡터일 수 있다.

[0447] 실시형태에서, 재조합 발현 벡터는, 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., 상기 참조 및 Ausubel et al., 상기 참조]에 기재된 표준 재조합 DNA 기법을 이용하여 제조된다. 원형 또는 선형인 발현 벡터의 작제물은 원핵 또는 진핵 숙주 세포에서 기능성인 복제 시스템을 포함하도록 제조될 수 있다. 복제 시스템은, 예를 들어, ColE1, SV40, 2μ 플라스미드, λ, 소 유두종 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다.

[0448] 재조합 발현 벡터는, 벡터가 도입될 숙주 유형(예를 들어, 박테리아, 식물, 진균 또는 동물)에 특이적인 조절 서열, 예컨대, 전사 및 번역 개시 및 종결 코돈을 포함하여, 적절하다면, 벡터가 DNA-기반인지 또는 RNA-기반인지의 여부를 고려할 수 있다.

[0449] 재조합 발현 벡터는 형질전환 또는 형질감염된 숙주의 선택을 가능하게 하는 하나 이상의 마커 유전자를 포함할 수 있다. 마커 유전자는 살생제 내성, 예를 들어, 항생제, 중금속 등에 대한 내성, 원형양성을 제공하기 위한 영양요구성 숙주에서의 상보성 등을 포함한다. 기재된 발현 벡터에 대한 적합한 마커 유전자는, 예를 들어, 네오마이신/G418 내성 유전자, 히스티딘올 x 내성 유전자, 히스티딘올 내성 유전자, 테트라사이클린 내성 유전자 및 암피실린 내성 유전자를 포함한다.

[0450] 재조합 발현 벡터는 본 개시내용의 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 천연 또는 규범적인 프로모터를 포함할 수 있다. 프로모터의 선택, 예를 들어, 강, 약, 조직-특이적, 유도성 및 발생-특이적은 당업자의 보통의 기술 이내이다. 유사하게, 뉴클레오타이드 서열을 프로모터와 조합하는 것은 또한 당업자의 기술 이내이다. 프로모터는 뮤린 줄기 세포 바이러스의 긴-말단 반복부에서 발견되는 비-바이러스 프로모터 또는 바이러스 프로모터, 예를 들어, 거대세포바이러스(CMV) 프로모터, RSV 프로모터, SV40 프로모터, 또는 프로모터일 수 있다.

[0451] 재조합 발현 벡터는 일시적 발현을 위해, 안정적인 발현을 위해 또는 둘 다를 위해 설계될 수 있다. 또한, 재조합 발현 벡터는 구성적 발현을 위해 또는 유도성 발현을 위해 생성될 수 있다.

[0452] 추가로, 재조합 발현 벡터는 자살유전자를 포함하도록 생성될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "자살유전자"는 자살 유전자를 발현시키는 세포가 사멸되게 하는 유전자를 지칭한다. 자살유전자는 유전자가 발현되는 세포에 대해 제제, 예를 들어, 약물에 대한 민감성을 부여하고, 세포가 제제와 접촉되거나 제제에 노출될 때 세포가 사멸되게 하는 유전자일 수 있다. 자살유전자는 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 단순포진 바이러스(HSV) 티미딘 키나제(TK) 유전자, 사이토신 데아미나제, 퓨린 뉴클레오타이드 포스포릴라제 및 나이트로환원효소를 포함한다.

[0453] 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 단리된다. 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 실질적으로 순수하다.

[0454] 또한 본 명세서에 기재된 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 숙주 세포는 이중성 핵산을 포함하는 임의의 세포일 수 있다. 이중성 핵산은 벡터(예를 들어, 발현 벡터)일 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는, 세포에 의한 물질의 생산, 예를 들어, 유전자, DNA 또는 RNA 서열, 단백질 또는 효소의 세포에 의한 발현을 위해 임의

의 방법으로 선택, 변형, 형질전환, 성장, 사용 또는 조작된 임의의 유기체로부터의 세포일 수 있다. 적절한 숙주가 결정될 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 벡터 골격 및 목적하는 결과에 기반하여 선택될 수 있다. 예로서, 플라스미드 또는 코스미드는 몇몇 벡터 유형의 복제를 위해 원핵 숙주 세포에 도입될 수 있다. 박테리아 세포, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, DH5 α , JM109 및 KCB, SURE $\text{\textcircled{R}}$ 컴피턴트 세포(Competent Cell), 및 SOLOPACK Gold 세포는 벡터 복제 및/또는 발현을 위한 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 추가적으로, 박테리아 세포, 예컨대, 이콜라이 LE392는 파지 바이러스에 대한 숙주 세포로서 사용될 수 있었다. 숙주 세포로서 사용될 수 있는 진핵 세포는 효모(예를 들어, YPH499, YPH500 및 YPH501), 곤충 및 포유류를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 벡터의 복제 및/또는 발현을 위한 포유류 진핵 숙주 세포의 예는 HeLa, NIH3T3, Jurkat, 293, COS, Saos, PC12, SP2/0(미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection: ATCC), 버지니아주 매너서스 소재, CRL-1581), NS0(European Collection of Cell Cultures(ECACC), 영국 윌트셔 솔즈베리 소재, UK, ECACC No. 85110503), FO(ATCC CRL-1646) 및 Ag653(ATCC CRL-1580) 뮤린세포주를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예시적인 인간 골수종 세포주는 U266(ATCC CRL-TIB-196)이다. 다른 유용한 세포주는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 예컨대, CHO-K1SV(Lonza Biologics, 메릴랜드주 위커스빌 소재), CHO-K1(ATCC CRL-61) 또는 DG44로부터 유래된 것을 포함한다.

[0455] 5.5. 약제학적 조성물

[0456] 일 양상에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 조작된 면역 효과기 세포를 포함하는 약제학적 조성물을 추가로 제공한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 치료적 유효량의 본 개시내용의 조작된 면역 효과기 세포 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다.

[0457] 일부 실시형태에서, 치료적 유효량의 본 명세서에 제공된 CAR을 포함하는 치료적 분자 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이 본 명세서에 제공된다.

[0458] 다른 실시형태에서, 예를 들어, 벡터에서 치료적 유효량의 본 명세서에 제공된 핵산, 및, 예를 들어, 유전자요법에 적합한, 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물이 본 명세서에 제공된다.

[0459] 구체적 실시형태에서, 용어 "부형제"는 또한 희석제, 아조반트(예를 들어, 프로인드 아조반트(완전 또는 불완전), 담체 또는 비히클을 지칭할 수 있다. 약제학적 부형제는 물, 및 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 유래의 오일, 예컨대, 땅콩유, 광유, 참깨유 등과 같은 멸균 액체일 수 있다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스와 및 글리세롤 용액은 또한 액체 부형제로서 사용될 수 있다. 적합한 약제학적 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 버, 밀가루, 실리카겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함할 수 있다. 조성물은, 원한다면, 또한 소량의 습윤제 또는 유화제 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 이들 조성물은 용액, 현탁액, 에멀션, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속 방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 적합한 약제학적 부형제의 예는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA]에 기재되어 있다. 이러한 조성물은 예방적 또는 치료적 유효량의 본 명세서에 제공된 활성 성분을, 예컨대, 정제된 형태로, 환자에 적절한 투여를 위한 형태를 제공하기 위해 적합한 양의 부형제와 함께 함유할 것이다. 제형은 투여 방식에 적합해야 한다.

[0460] 일부 실시형태에서, 부형제의 선택은 부분적으로 특정 세포, 결합 분자, 및/또는 항체에 의해 및/또는 투여 방법에 의해 결정된다. 따라서, 다양한 적합한 제형이 있다.

[0461] 전형적으로, 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정제는 사용되는 투약량 및 농도로 수용자에 대해 비독성이며, 완충제, 아스코르브산, 메티오닌, 비타민 E, 메타중아황산나트륨을 포함하는 항산화제; 보존제, 등장제, 안정제, 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물); 킬레이트제, 예컨대, EDTA 및/또는 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0462] 완충제는 특히 안정성이 pH 의존성인 경우, 치료적 유효성을 최적화하는 범위로 pH를 조절하는 데 사용될 수 있다. 본 개시내용과 함께 사용하기 위한 적합한 완충제는 유기산과 무기산 및 이들의 염을 포함한다. 예를 들어, 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 타르트레이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 옥살레이트, 락테이트, 아세테이트. 추가적으로, 완충제는 히스티딘 및 트라이메틸아민 염, 예컨대, Tris를 포함할 수 있다.

[0463] 보존제는 미생물 성장을 지연시키기 위해 첨가될 수 있다. 본 개시내용과 함께 사용하기 위한 적합한 보존제는 옥타데실다이메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 할라이드(예를 들어, 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드), 벤제토늄클로라이드; 티메로살, 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올, 3-펜탄올 및 m-크레솔을 포함

한다.

- [0464] 때때로 "안정제"로 알려진 긴장제는 조성물 중 액체의 긴장도를 조절 또는 유지하기 위해 제공될 수 있다. 거대한, 하전된 생체분자, 예컨대, 단백질 및 항체와 함께 사용될 때, 이들이 아미노산 측쇄의 하전된 기와 상호작용하여, 분자내 및 분자간 상호작용에 대한 잠재력을 줄일 수 있기 때문에, 이들은 종종 "안정제"로 지칭된다. 예시적인 긴장제는 다가 당 알코올, 삼가 또는 고급의 당 알코올, 예컨대, 글리세린, 에리트리톨, 아라비톨, 자일리톨, 솔비톨 및 만니톨을 포함한다.
- [0465] 추가적인 예시적 부형제는 하기를 포함한다: (1) 증량제, (2) 용해도 향상제, (3) 안정제 및 (4) 변성 또는 용기 벽에 대한 흡착을 방지하는 제제. 이러한 부형제는 다가 당 알코올(위에서 열거함); 아미노산, 예컨대, 알라닌, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 알기닌, 라이신, 오르니틴, 류신, 2-페닐알라닌, 글루탐산, 트레오닌 등; 유기당 또는 당 알코올, 예컨대, 수크로스, 락토스, 락티톨, 트레할로스, 스타키오스, 만노스, 솔보스, 자일로스, 리보스, 리비톨, 마이오이니시토스, 마이오이니시톨, 갈락토스, 갈락티톨, 글리세롤, 사이클리톨(예를 들어, 이노시톨), 폴리에틸렌 글리콜; 황 함유 환원제, 예컨대, 유레아, 글루타티온, 티옥트산, 티오글리콜산나트륨, 티오글리세롤, α -모노티오글리세롤 및 티오황산나트륨; 저분자량 단백질, 예컨대, 인간 혈청 알부민, 소혈청 알부민, 젤라틴 또는 기타 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 단당류(예를 들어, 자일로스, 만노스, 프럭토스, 글루코스; 이당류(예를 들어, 락토스, 말토스, 수크로스); 삼당류, 예컨대, 라피노스; 및 단당류, 예컨대, 텍스트린 또는 텍스트란을 포함한다.
- [0466] 비이온성 계면활성제 또는 세정제("습윤제"로도 알려짐)는 치료제를 용해시키기 위해서 뿐만 아니라 교반-유도 응집에 대해 치료 단백질을 보호하기 위해 제공될 수 있으며, 이는 또한 활성 치료 단백질 또는 항체의 변성을 야기하지 않고 전단 표면 응력에 제형이 노출되게 한다. 적합한 비이온성 계면활성제는, 예를 들어, 폴리솔베이트(20, 40, 60, 65, 80 등), 폴록사머(184, 188 등), PLURONIC® 폴리올, TRITON®, 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노에터(TWEEN®-20, TWEEN®-80 등), 라우로마크로콜 400, 폴리옥실 40 스테아레이트, 폴리옥시에틸렌 수산화된 피마자유 10, 50 및 60, 글리세롤 모노스테아레이트, 수크로스 지방산 에스터, 메틸 셀룰로스 및 카복시메틸셀룰로스를 포함한다. 사용될 수 있는 음이온성 세정제는 라우릴황산나트륨, 다이옥틸 소듐 설포석시네이트 및 다이옥틸 소듐 설포네이트를 포함한다. 양이온성 세정제는 벤즈알코늄 클로라이드 또는 벤제토늄 클로라이드를 포함한다.
- [0467] 약제학적 조성물이 생체내 투여를 위해 사용되도록, 이들은 바람직하게는 멸균이다. 약제학적 조성물은 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 멸균으로 제공될 수 있다. 본 명세서의 약제학적 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트 를 갖는 용기, 예를 들어, 정맥내 용액 백(bag) 또는 피하 주사 바늘에 의해 뚫을 수 있는 마개를 갖는 바이알 내로 투입될 수 있다.
- [0468] 투여 경로는 적합한 방법, 예를 들어, 피하, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 병변내 또는 관절내 경로에 의한 주사 또는 주입, 국소 투여, 흡입에서 또는 지속 방출 또는 연장된 방출 수단에 의해 장기간의 시간에 걸쳐 단일 또는 다회 볼루스 또는 주입에 의하는 것과 같은 공지되고 허용된 방법에 따른다.
- [0469] 다른 실시형태에서, 약제학적 조성물은 제어된 방출 또는 지속 방출 시스템으로서 제공될 수 있다. 일 실시형태에서, 제어 또는 지속 방출을 달성하기 위해 펌프가 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Sefton, Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201-40 (1987); Buchwald *et al.*, Surgery 88:507-16 (1980); 및 Saudek *et al.*, N. Engl. J. Med. 321:569-74 (1989)] 참조). 다른 실시형태에서, 예방적 또는 치료적 제제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 융합 단백질) 또는 본 명세서에 제공된 조성물의 제어 또는 지속 방출을 달성하기 위해 중합체 물질이 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise eds., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., 1984); Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61-126 (1983); Levy *et al.*, Science 228:190-92 (1985); During *et al.*, Ann. Neurol. 25:351-56 (1989); Howard *et al.*, J. Neurosurg. 71:105-12 (1989)]; 미국 특허 제5,679,377호; 제5,916,597호; 제5,912,015호; 제5,989,463호; 및 제5,128,326호; PCT 공개 번호 WO 99/15154 및 WO 99/20253). 지속 방출 제형에서 사용되는 중합체의 예는 폴리(2-하이드록시 에틸 메타크릴레이트), 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(아크릴산), 폴리(에틸렌-코-비닐 아세테이트), 폴리(메타크릴산), 폴리글리콜라이드(PLG), 폴리산무수물, 폴리(N-비닐 피롤리돈), 폴리(비닐 알코올), 폴리(아크릴아마이드), 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리락타이드(PLA), 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(PLGA) 및 폴리옥소에스터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, 지속 방출 제형에서 사용되는 중합체는 비활성의, 누출 가능한 불순물이 없이, 보관 시 안정하고, 멸균 및 생체 분해성이다. 또 다른 실시형태에서, 제어 또는 지

속 방출 시스템은 특히 표적 조직, 예를 들어, 비강 통과 또는 폐 근위에 위치되어, 전신 용량의 일부만을 필요로 할 수 있다(예를 들어, 문헌[Goodson, *Medical Applications of Controlled Release* Vol. 2, 115-38 (1984)] 참조). 제어 방출 시스템은, 예를 들어, 문헌[Langer, *Science* 249:1527-33 (1990)]에서 논의된다. 당업자에게 공지된 임의의 기법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 1종 이상의 제제를 포함하는 지속 방출 제형을 생성하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제4,526,938호, PCT 공개 WO 91/05548 및 WO 96/20698, 문헌[Ning *et al.*, *Radiotherapy & Oncology* 39:179-89 (1996); Song *et al.*, *PDA J. of Pharma. Sci. & Tech.* 50:372-97 (1995); Cleek *et al.*, *Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 24:853-54 (1997); 및 Lam *et al.*, *Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater.* 24:759-60 (1997)] 참조).

[0470] 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 또한 치료 중인 특정 적응증에 필요하다면 1종 이상의 활성 화합물 또는 제제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 조성물은 세포독성제, 화학치료제, 사이토카인, 면역억제제 또는 성장 저해제를 포함할 수 있다. 이러한 분자는 의도된 목적에 유효한 양으로 조합하여 적합하게 존재한다.

[0471] 활성 성분은 또한 제조된 마이크로캡슐에서, 예를 들어, 코아세르베이션 기법에 의해 또는 계면 중합, 예를 들어, 각각 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에 의해, 콜로이드 전달 시스템(예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로캡슐, 마이크로에멀션, 나노입자 및 나노캡슐)에서 또는 마이크로에멀션에서 포집될 수 있다. 이러한 기법은 문헌[Remington's *Pharmaceutical Sciences* 18th edition]에 개시되어 있다.

[0472] 다양한 조성물 및 전달 시스템은 공지되어 있고, 리포솜 내 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 본 명세서에 제공된 단일 도메인 항체 또는 치료 분자를 발현시킬 수 있는 재조합 세포, 레트로바이러스의 부분으로서 핵산의 작제 또는 기타 벡터 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 본 명세서에 제공된 치료제와 함께 사용될 수 있다.

[0473] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 약제학적 조성물은 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하기 위한 유효량, 예컨대, 치료적 유효량 또는 예방적 유효량으로 결합 분자 및/또는 세포를 함유한다. 치료적 또는 예방적 효능은, 일부 실시형태에서, 치료되는 대상체의 주기적 평가에 의해 모니터링된다. 며칠 이상에 걸친 반복된 투여를 위해, 병태에 따라서, 질환 증상의 목적하는 억제가 생길 때까지 치료가 반복된다. 그러나, 다른 투약 요법이 유용할 수 있고, 결정될 수 있다.

[0474] 5.6. 방법 및 용도

[0475] 다른 양상에서, 재조합 수용체를 발현시키는 키메라 항원 수용체(CAR) 및/또는 조작된 세포를 이용하는 방법 및 용도가 본 명세서에 제공된다.

[0476] 이러한 방법 및 용도는 CD20, CD19 및/또는 CD22 발현을 발현시키거나 이와 연관되고/되거나 세포 또는 조직이 CD20, CD19 및/또는 CD22를 발현시키는 질환, 병태 또는 장애를 갖는 대상체에 대한 분자, 세포 또는 이를 함유하는 조성물의 투여를 수반하는 치료 방법 및 용도를 포함한다. 일부 실시형태에서, 분자, 세포 및/또는 조성물은 질환 또는 장애의 치료를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다. 용도는 이러한 방법 및 치료에서, 그리고 이러한 치료 방법을 수행하기 위한 의약의 제조에서의 CAR의 용도를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 질환 또는 병태를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체에게 CAR 또는 세포, 또는 이를 포함하는 조성물을 투여함으로써 수행된다. 일부 실시형태에서, 이에 의해 방법은 대상체에서의 질환 또는 장애를 치료한다.

[0477] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 치료는 질환 또는 장애, 또는 증상, 유효효과 또는 결과, 또는 이와 연관된 표현형의 완전한 또는 부분적 개선 또는 감소를 야기한다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 경감, 질환의 임의의 직접 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이의 예방, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화 및 관해 또는 개선된 예후를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 상기 용어는 질환의 완전한 치유 또는 모든 증상 또는 결과에 대한 임의의 증상 또는 효과(들)의 완전한 제거를 포함하지만, 이들을 시사하지는 않는다.

[0478] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 치료는 질환 또는 장애의 발생을 지연시키고, 예를 들어, 질환(예컨대, 암)의 발생을 연기하고/하거나, 방해하고/하거나, 늦추고/늦추거나, 지연시키고/시키거나, 안정화시키고/시키거나 억제하고/하거나, 지체시킨다. 이 지연은 치료 중인 질환 및/또는 개체의 병력에 따라서 시간 길이가 다를 수 있다. 당업자에게 분명할 바와 같이, 충분한 또는 유의미한 지연은, 사실상, 개체에서 질환 또는 장애가 발생되지 않는다는 점에서 예방을 포함할 수 있다. 예를 들어, 말기 암, 예컨대, 전이 발생이 지연될 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 방법 또는 용도는 질환 또는 장애

를 예방한다.

- [0479] 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 CD20 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 CD19 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 CD22 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 B 세포 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 B 세포 악성종양이다. 일부 실시형태에서, B 세포 악성종양은 B 세포 백혈병 또는 B 세포 림프종이다. 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 가장자리구역 림프종(예를 들어, 비장 가장자리구역 림프종)이다. 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 광범위 큰 B 세포 림프종(DLBCL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 맨틀 세포 림프종(MCL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 원발 중추 신경계(CNS) 림프종이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 원발 종격동 B 세포 림프종(PMBL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 소형 림프구성 림프종(SLL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 B 세포 전림프구성 백혈병(B-PLL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 소포 림프종(FL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 버킷 림프종이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 원발성 안구내 림프종이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 만성 림프구성 백혈병(CLL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 급성 림프구성 백혈병(ALL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 모발세포 백혈병(HCL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 전구 B 세포 림프모구 백혈병이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 비호지킨 림프종(NHL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 고등급 B-세포 림프종(HGBL)이다. 다른 구체적인 실시형태에서, 질환 또는 장애는 다발성 골수종(MM)이다. 다른 실시형태에서, 질환 또는 장애는 재발성 또는 난치성 B 세포 악성종양, 예컨대, 재발성 또는 난치성 ALL(R/R ALL)이다.
- [0480] 다른 실시형태에서, 질환 또는 장애는, 예를 들어, 부적절한 또는 향상된 B 세포수 및/또는 활성화와 연관된 것을 포함하는, 자가면역 및 염증성 질환이다.
- [0481] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 입양 세포 요법을 포함하여, 제공된 다중특이성 CAR을 발현시키는 유전자 조작된 세포는 대상체에게 투여된다. 이러한 투여는, 질환 또는 장애 세포가 파괴에 대한 표적이 되도록, CD20-, CD19- 및/또는 CD22-표적화된 방식으로 세포의 활성화(예를 들어, T 세포 활성화)를 촉진시킨다.
- [0482] 일부 실시형태에서, 상기 방법은 질환 또는 장애를 갖거나, 가질 위험에 있거나, 갖는 것으로 의심되는 대상체, 조직 또는 세포에 대한 세포 또는 세포를 함유하는 조성물의 투여를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포, 집단 및 조성물은, 예를 들어, 입양 세포 요법, 예컨대, 입양 T 세포 요법을 통해, 치료될 특정 질환 또는 장애를 갖는 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 세포 또는 조성물은 대상체, 예컨대, 질환 또는 장애를 갖거나 또는 질환 또는 장애의 위험에 있는 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 이에 의해 CD20-, CD19- 및/또는 CD22-발현 암의 종양 부담을 줄임으로써, 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상을 치료, 예를 들어, 개선시킨다.
- [0483] 입양 세포 요법을 위한 세포 투여 방법은, 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제2003/0170238호; 미국 특허 제 4,690,915호; 문헌[Rosenberg, *Nat Rev Clin Oncol.* 8 (10):577-85 (2011); Themeli et al., *Nat Biotechnol.* 31(10): 928-933 (2013); Tsukahara et al., *Biochem Biophys Res Commun* 438(1): 84-9 (2013); 및 Davila et al., *PLoS ONE* 8(4): e61338 (2013)]에 기재된 바와 같이 공지되어 있다. 이들 방법은 본 명세서에 제공된 방법 및 조성물과 관련하여 사용될 수 있다.
- [0484] 일부 실시형태에서, 세포 요법(예를 들어, 입양 T 세포 요법)은, 세포가 세포 요법을 받는 대상체로부터, 또는 이러한 대상체로부터 유래된 샘플로부터 단리되고/되거나 다르게 제조되는 자가 전달에 의해 수행된다. 따라서, 일부 양상에서, 세포는 치료를 필요로 하는 대상체로부터 유래되고, 세포는 단리 및 가공 후에 동일한 대상체에게 투여된다. 다른 실시형태에서, 세포 요법(예를 들어, 입양 T 세포 요법)은 세포 요법을 받거나 궁극적으로 받는 대상체, 예를 들어, 제1 대상체 이외의 대상체로부터 세포가 단리되고/되거나 다르게 제조되는 동종이게 전달에 의해 수행된다. 이러한 실시형태에서, 이어서, 세포는 동일한 종의 상이한 대상체, 예를 들어, 제2 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 제1 대상체와 제2 대상체는 유전적으로 동일하다. 일부 실시형태에서, 제1 대상체와 제2 대상체는 유전적으로 유사하다. 일부 실시형태에서, 제2 대상체는 제1 대상체와 동일한 HLA 부류 또는 하위유형을 발현시킨다.
- [0485] 일부 실시형태에서, 세포, 세포 집단 또는 조성물이 투여되는 대상체는 영장류, 예컨대, 인간이다. 대상체는 남성 또는 여성일 수 있고, 영아, 소아, 청소년, 성인 및 노인 대상체를 포함하는 임의의 적합한 연령일 수 있다. 일부 예에서, 대상체는 질환, 입양 세포 요법에 대한, 그리고/또는 독성 결과를 평가하기 위한 입증된 동물 모

텔이다.

- [0486] 본 명세서에 제공된 조성물은 임의의 적합한 수단, 예를 들어, 주사, 예를 들어, 정맥내 또는 피하 주사, 안구내 주사, 안구주위 주사, 망막하 주사, 유리체내 주사, 경격막 주사, 공막하 주사, 맥락막하 주사, 전방내 주사, 결막밑 주사, 결막하 주사, 태눈낭밑 주사, 안구 후부 주사, 안구주위 주사 또는 공막 후부 전달에 의해 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이들은 국소 치료, 병변내 투여를 위해 요망되는 경우, 비경구, 폐내 및 비강내에 의해 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다.
- [0487] 질환 또는 병태의 예방 및/또는 치료에 효과적일 본 명세서에 제공된 예방적 제제 또는 치료제의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 도출된 용량-반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다. 질환의 예방 또는 치료를 위해, 결합 분자 또는 세포의 적절한 투약량은 치료될 질환 또는 장애, 결합 분자의 유형, 질환 또는 장애의 중증도 및 과정, 치료제가 예방적 또는 치료적 목적을 위해 투여되는지의 여부, 이전의 요법, 환자의 임상 이력 및 제제에 대한 반응, 및 담당 의사의 재량에 따를 수 있다. 조성물, 분자 및 세포는 일부 실시형태에서 1회로 또는 일련의 치료에 걸쳐 적합하게 투여된다. 다회 용량은 간헐적으로 투여될 수 있다. 초기의 부하 용량이 클수록, 이후에 1회 이상의 더 낮은 용량이 투여될 수 있다.
- [0488] 결합 분자를 함유하는 유전자 조작된 세포와 관련하여, 일부 실시형태에서, 대상체는 약 1백만개 내지 약 1천억개의 세포 범위 및/또는 체중의 킬로그램당 세포의 양으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 본 명세서에 기재된 조작된 면역 세포 중 어느 하나를 포함하되, 약제학적 조성물은 적어도 약 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 또는 10^9 개의 세포/개체의 체중(kg) 중 어느 것의 투약량으로 투여된다. 투약량은 특정 질환 또는 장애 및/또는 환자 및/또는 다른 치료에 대한 속성에 따라 다를 수 있다.
- [0489] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 1회 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 다회(예컨대 2, 3, 4, 5, 6회 이상 중 어느 하나) 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 투약 주기 동안 1회 또는 다회 투여된다. 투약 주기는, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5주 이상(들), 또는 1, 2, 3, 4, 5개월 이상(들)일 수 있다. 특정 환자를 위한 최적의 투약량 및 치료 요법은 질환 징후 동안 환자를 모니터링하고 그에 따라 치료를 조절함으로써 의학 분야의 당업자에 의해 결정될 수 있다.
- [0490] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물은 조합 치료의 부분으로서, 예컨대, 다른 치료적 개입, 예컨대, 다른 항체 또는 조작된 세포 또는 수용체, 예컨대, 세포독성제 또는 치료제와 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 투여된다.
- [0491] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물은 1종 이상의 추가적인 치료제와 함께 또는 다른 치료적 개입과 함께 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 공동 투여된다. 일부 내용에서, 세포 집단이 1종 이상의 치료제의 효과를 향상시키거나 또는 그 반대가 되도록, 세포는 충분히 가까운 시간 내에 다른 요법과 공동 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물은 1종 이상의 추가적인 치료제 전에 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물은 1종 이상의 추가적인 치료제 후에 투여된다.
- [0492] 특정 실시형태에서, 일단 세포가 포유류(예를 들어, 인간)에 투여되면, 조작된 세포 집단 및/또는 결합 분자의 생물학적 활성은 다수의 공지된 방법에 의해 측정된다. 평가를 위한 파라미터는, 생체내에서, 예를 들어, 영상화에 의해, 또는 생체외에서, 예를 들어, ELISA 또는 유세포분석에 의해, 항원에 대한 조작 또는 천연 T 세포 또는 기타 면역 세포의 특이적 결합을 포함한다. 특정 실시형태에서, 조작된 세포가 표적 세포를 파괴하는 능력은 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법, 예컨대, 문헌[Kochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009), 및 Herman et al. J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004)]에 기재된 세포독성 분석을 이용하여 측정될 수 있다. 특정 실시형태에서, 세포의 생물학적 활성은 또한 특정 사이토카인, 예컨대, CD107a, IFN γ , IL-2 및 TNF의 발현 및/또는 분비를 분석함으로써 측정될 수 있다. 일부 양상에서, 생물학적 활성은 임상 결과, 예컨대, 종양 부담 또는 부하의 감소를 평가함으로써 측정된다.
- [0493] 특정 구체적 실시형태에서, 예를 들어, 부문 5.2에 제공된 CAR을 포함하는 세포를 포함하는, 부문 5.3에 제공된 바와 같은 조작된 면역 효과기 세포(예컨대, T 세포)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 질환 또는 장애의 치료 방법이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 대상체에게 투여되는 조작된 면역 세포는, (a) 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb 중 적어도 둘(예를 들어, 모두 셋)을 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막관통 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는 CAR을 포함하되, 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb는, 예를 들어, 표 2의 CDR을 갖는 것을 포함하여, 위

의 부문 5.2.1에 기재된 바와 같다. 일부 실시형태에서, 대상체에게 투여되는 조작된 면역 세포는 표 4 내지 표 7, 표 9 및 표 12에 열거된 CAR을 포함한다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 투여되는 조작된 면역 세포는 표 4 내지 표 7, 표 9 및 표 12에 열거된 CAR을 갖는 CDR을 포함한다. 다른 실시형태에서, 대상체에게 투여되는 조작된 면역 세포는 서열번호 174 내지 226으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열번호 174 내지 226으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CAR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 CD20 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 CD19 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 CD22 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 B 세포 연관 질환 또는 장애이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애는 B 세포 악성종양이다. 일부 실시형태에서, B 세포 악성종양은 B 세포 백혈병 또는 B 세포 림프종이다. 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 가장자리구역 림프종(예를 들어, 비장 가장자리구역 림프종)이다. 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 광범위 큰 B 세포 림프종(DLBCL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 맨틀 세포 림프종(MCL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 원발 중추 신경계(CNS) 림프종이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 원발 종격동 B 세포 림프종(PMBL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 소형 림프구성 림프종(SLL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 B 세포 전림프구성 백혈병(B-PLL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 소포 림프종(FL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 버킷 림프종이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 원발성 안구내 림프종이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 만성 림프구성 백혈병(CLL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 급성 림프구성 백혈병(ALL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 모발세포 백혈병(HCL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 전구 B 세포 림프모구 백혈병이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 비호지킨 림프종(NHL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 고등급 B-세포 림프종(HGBL)이다. 다른 구체적 실시형태에서, 질환 또는 장애는 다발성 골수종(MM)이다. 다른 실시형태에서, 질환 또는 장애는 재발성 또는 난치성 B 세포 악성종양, 예컨대, 재발성 또는 난치성 ALL(R/R ALL)이다. 다른 실시형태에서, 질환 또는 장애는, 예를 들어, 부적절한 또는 향상된 B 세포수 및/또는 활성화와 연관된 것을 포함하는, 자가면역 및 염증성 질환이다.

[0494] 일부 실시형태에서, 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는 CAR을 발현시키는 조작된 면역 효과기 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 질환 또는 장애의 치료 방법이 본 명세서에 제공되되, 이들 각각은 위의 부문 5.2.1에 기재된 각각의 sdAb로부터 선택되며, 3개의 sdAb 중에서, 항-CD20 sdAb는 CAR의 막관통 도메인에 가장 가깝고, 질환 또는 장애는 CD19 또는 CD22보다 더 높은 수준의 CD20을 발현시키는 세포(예를 들어, 암 세포)를 포함한다.

[0495] 다른 실시형태에서, 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는 CAR을 발현시키는 조작된 면역 효과기 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 질환 또는 장애의 치료 방법이 본 명세서에 제공되되, 이들 각각은 위의 부문 5.2.1에 기재된 각각의 sdAb로부터 선택되며, 3개의 sdAb 중에서, 항-CD19 sdAb는 CAR의 막관통 도메인에 가장 가깝고, 질환 또는 장애는 CD20 또는 CD22보다 더 높은 수준의 CD19를 발현시키는 세포(예를 들어, 암 세포)를 포함한다.

[0496] 또 다른 실시형태에서, 항-CD20 sdAb, 항-CD19 sdAb 및 항-CD22 sdAb를 포함하는 CAR을 발현시키는 조작된 면역 효과기 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 질환 또는 장애의 치료 방법이 본 명세서에 제공되되, 이들 각각은 위의 부문 5.2.1에 기재된 각각의 sdAb로부터 선택되며, 3개의 sdAb 중에서, 항-CD22 sdAb는 CAR의 막관통 도메인에 가장 가깝고, 질환 또는 장애는 CD20 또는 CD19보다 더 높은 수준의 CD22를 발현시키는 세포(예를 들어, 암 세포)를 포함한다.

[0497] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 방법은, 예를 들어, 세포 표면 항원 발현 수준에 의해 유도되는 바와 같이, 동시에 또는 순차적으로 본 명세서에 제공된 둘 이상의 CAR-T 세포의 투여를 포함한다.

[0498] 다른 양상에서, CD19, CD20 및 CD22 결합 VHH 도메인이 특정 대상체에 가장 적합한 순서로 배열된 맞춤형 CAR-T를 이용하는 개인맞춤 CAR-T 요법이 본 명세서에 제공된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 방법은 대상체로부터 암 샘플을 얻는 단계, 및 CD19, CD20 및 CD22 수준을 결정하는 단계를 포함하며, 이에 기반하여 CD19, CD20 및 CD22 결합 VHH 도메인이 특정 순서로 배열된 CAR을 발현시키는 CAR-T가 대상체에게 투여된다. 상기 방법은 또한 치료 내내 이들 항원의 발현 수준을 지속적으로 모니터링하는 단계 및 그에 따라 치료를 조절하는 단계를 포함할 수 있다.

[0499] **5.7. 키트 및 제조 물품**

[0500] 본 명세서에 기재된 임의의 키메라 항원 수용체 또는 조작된 면역 효과기 세포를 포함하는 키트, 단위 투약량 및 제조 물품이 추가로 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 중 어느 하나를 포함하며 바람직하게는 이의 사용을 위한 설명서를 제공하는 키트가 제공된다.

[0501] 본 출원의 키트는 적합한 패키징에 있다. 적합한 패키징은 바이알, 보틀, 단지, 가요성 패키징(예를 들어, 밀봉 마일러(Mylar) 또는 플라스틱 백) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 키트는 선택적으로 추가적인 구성 성분, 예컨대, 완충제 및 설명 정보를 제공할 수 있다. 따라서 본 출원은 또한 바이알(예컨대 밀봉 바이알), 보틀, 단지, 가요성 패키징 등을 포함하는 제조 물품을 제공한다.

[0502] 제조 물품은 용기 및 라벨 또는 용기 상의 또는 용기와 관련된 포장 삽입물을 포함할 수 있다. 적합한 용기는, 예를 들어, 보틀, 바이알, 주사기 등을 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대, 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 일반적으로, 용기는 본 명세서에 기재된 질환 또는 장애(예컨대, 암)를 치료하는 데 효과적인 조성물을 보유하고, 멸균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 바이알일 수 있다). 라벨 또는 포장 삽입물은 조성물이 개체에서 특정 병태를 치료하기 위해 사용된다는 것을 나타낸다. 라벨 또는 포장 삽입물은 개체에게 조성물을 투여하기 위한 설명서를 추가로 포함할 것이다. 라벨은 재구성 및/또는 사용을 위한 지시사항을 나타낼 수 있다. 약제학적 조성물을 보유하는 용기는 재구성 제형의 반복 투여(예를 들어, 2 내지 6회 투여)를 가능하게 하는 다회용 바이알일 수 있다. 포장 삽입물은 적응증, 용법, 투약량, 투여, 금기 사항 및/또는 이러한 치료 제품의 사용에 대한 문제에 관한 정보를 포함하는 치료 제품의 상업적 패키지에 관련적으로 포함되는 설명서를 지칭한다. 추가적으로, 제조물품은 약제학적으로-허용 가능한 완충제, 예컨대, 주사용정균수(BWFI), 인산염-완충 식염수, 링거 용액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하는 상업적 및 사용자 견지로부터 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0503] 키트 또는 제조물품은 약국, 예를 들어, 병원 약국 및 조제 약국에서 저장하고 사용하기에 충분한 양으로 포장된 다회 단위 용량의 약제학적 조성물 및 사용을 위한 설명서를 포함할 수 있다.

[0504] 간결함을 위해, 특정 약어가 본 명세서에서 사용된다. 일례는 아미노산 잔기를 나타내기 위한 한 글자 약어이다. 아미노산 및 이들의 대응하는 세 글자 및 한 글자 약어는 다음과 같다:

아미노산	세 글자	한 글자	아미노산	세 글자	한 글자
알라닌	Ala	(A)	류신	Leu	(L)
알기닌	Arg	(R)	라이신	Lys	(K)
아스파라긴	Asn	(N)	메티오닌	Met	(M)
아스파르트산	Asp	(D)	페닐알라닌	Phe	(F)
시스테인	Cys	(C)	프롤린	Pro	(P)
글루타민	Glu	(E)	세린	Ser	(S)
글루타민	Gln	(Q)	트레오닌	Thr	(T)
글리신	Gly	(G)	트립토판	Trp	(W)
히스티딘	His	(H)	타이로신	Tyr	(Y)
아이소류신	Ile	(I)	발린	Val	(V)

[0505]

[0506] 본 개시내용은 일반적으로 수많은 실시형태를 기재하기 위해 긍정적인 언어를 이용하여 본 명세서에 개시된다. 본 개시내용은 또한 구체적으로, 특정 대상이 제외되는 실시형태, 완전히 또는 부분적으로, 예컨대, 물질 또는 재료, 방법 단계 및 조건, 프로토콜, 절차, 검정 또는 분석을 포함한다. 따라서, 본 개시내용이 본 개시내용이 포함하지 않는 것에 관해 본 명세서에서 일반적으로 표현되지 않는다고 해도, 그럼에도 불구하고 본 개시내용에 분명하게 포함되지 않는 양상이 본 명세서에 개시된다.

[0507] 본 개시내용의 다수의 실시형태가 기재되었다. 그럼에도 불구하고, 본 개시내용의 사상과 범주로부터 벗어나는 일 없이 다양한 변형이 이루어질 수 있다는 것이 이해될 것이다. 따라서, 다음의 실시예는 청구범위에 기재된 개시내용의 범주를 예시하기 위한 의도이며 제한하는 것이 아니다.

[0508] **6. 실시예**

[0509] 다음은 본 연구에서 사용되는 다양한 방법 및 물질의 설명이며, 본 개시내용을 제조하고 사용하는 방법의 완전한 개시 및 설명과 함께 당업자에게 제공하기 위해 제시하며, 본 발명자가 본 개시내용으로서 간주하는 것의 범주를 제한하는 것으로 의도되지도 않고, 아래의 실험이 수행되고 수행될 수 있는 모든 실험이라는 것을 나타내는 것으로 의도되지도 않는다. 현재 시제로 기재된 예시적인 설명이 반드시 수행된 것은 아니며, 오히려 설명은 본 개시내용의 교시와 관련하여 데이터 등을 생성하기 위해 수행될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 사용한 수(예를 들어, 양, 백분율 등)에 대해 정확성을 보장하기 위한 노력을 하였지만, 일부 실험 오차 및 편차를 설명하여야 한다.

[0510] **6.1. 실시예 1- 항-CD20, 항-CD19 및 항-CD22 VHH의 제조**

[0511] CD19, CD20 및 CD22 항원에 대해 높은 결합 친화도를 갖는 VHH를 개발하기 위해, 낙타과 동물을 각각 인간 CD19, CD20 또는 CD22 단백질 또는 CD19, CD20 또는 CD22 단일-항원 발현 세포주로 면역화시켰다. 이어서, 파지-디스플레이 라이브러리를 작제하여 VHH 리드를 확인하였다. 결합 시 별도의 클론을 선별하고, VHH 상보성 결정 영역(CDR), 특히 항원 인식 레퍼토리 및 결합이 확장된 CDR3에 따라 분류하였다.

[0512] 각 항원에 대한 VHH를 생성하기 위한 예로서 항-CD22 VHH를 생성하는 과정을 아래에 기재한다. 항-CD19 VHH 및 항-CD20 VHH의 생성을 아래 기재하는 과정과 유사하게 수행하였다. 단일-도메인 항체의 제조를 위한 다른 프로토콜을 기재하였다. 예를 들어, 문헌[Els Pardon et al, *Nature Protocol*, 9(3): 674 (2014)]을 참조한다.

[0513] **6.1.1. 세포주 작제**

[0514] 아래에 간략하게 기재하는 바와 같은 방법에 따라서 K562.huCD22.Luc 세포주를 사내에서 개발하였다. 인간 CD22 암호화 서열(NM_001771.3)을 합성하고, *EcoRI*와 *BamHI* 제한 부위 사이에서 pLVX-puro(Clontech, 카탈로그 번호 632164)에 다시 클로닝하여 플라스미드 pLVX-huCD22.Luc.Puro를 얻었다. psPAX2, pMD.2G 및 pLVX-huCD22.Luc.Puro를 함유하는 플라스미드의 혼합물에 의한 Lenti-X 293T 숙주 세포의 일시적 형질감염에 의해 렌티바이러스를 패키징하였다. 100 μ l의 LV-huCD22.Luc.PuroR 렌티바이러스로 감염시킴으로써 0.5×10^6 개의 K562 세포(ATCC #CRL-243)를 형질도입하였다. 2 내지 3일마다 푸로마이신 선택 배지(RPMI1640, 10% FBS 및 5 μ g/ml 푸로마이신)로 세포를 보충함으로써 형질도입된 세포를 선택하였다. 3라운드의 선택 후에, 원심분리에 의해 세포 풀을 원심분리에 의해 채취하였다. 채취한 세포를 분취시키고, 동결보존하고, 추가 사용을 위한 준비를 하였다.

[0515] K562.huCD22.Luc 세포주에 대한 인간 CD22의 발현 수준을 PE 접합된 항-인간 CD22 항체(Miltenyi Biotec, 카탈로그 번호 130-105-086)를 이용하여 유세포분석에 의해 입증하였다. 간략히 말해서, 2×10^5 개의 K562.huCD22.Luc 세포 또는 K562 세포를 PE 접합된 항-인간 CD22 항체와 함께 4℃에서 30분 동안 인큐베이션시킨 후에, 3회 세척하고, Attune NXT 유세포분석(Thermo Fisher)에 대한 FACS 분석을 위해 0.5% FBS와 함께 200 μ l의 DPBS에서 재현탁시켜 인간 CD22 항원의 발현수준을 검출하였다. K562.huCD22.Luc의 평균 형광 강도(MFI)는 K562 세포(음성 대조군)보다 641.59배 더 높았다.

[0516] **6.1.2. 동물 면역화 및 면역 반응 시험**

[0517] 1마리의 성체 수컷 낙타(카멜루스 박트리안(*Camelus bactrian*))를 2주 간격으로 5회 동안 인간 CD22 단백질(ACRO, 카탈로그 번호 CD2-H52H8)로 피하로 면역화하였다. 면역 전날(Pre) 및 마지막 면역일(TB)에 혈액을 수집하였다. ELISA에 의해 낙타의 면역 반응을 평가하고, 이때 혈청 샘플과 고정 항원 사이의 결합을 시험하였다. 동물에 CD22 항원 주사 시 강한 면역 반응이 유도되었고, 혈청 역가는 1:729 k 초과에 도달되었다. 데이터는 CD22 항원 면역화에 의해 항체 역가가 유의미하게 증가되었다는 것을 시사하였다.

[0518] 최종 면역화의 3 내지 5일 후에, 생산 출혈로서 경정맥에서 100ml의 혈액을 수집하였다. 림포프렙(lymphoprep) 절차에 따라 혈액으로부터 말초 혈액 림프구(PBL)를 분리시켰다.

[0519] **6.1.3. 항체 파지 라이브러리 작제**

[0520] 제조업자의 지침에 따라 TRIZOL[®] 시약(Thermofisher, 카탈로그 번호 15596026)를 이용하여 분리된 림프구로부터 총 RNA를 추출하고, 제조업자의 프로토콜에 따라 PrimeScript[™] 제1 가닥 cDNA 합성 키트(Takara, 카탈로그 번호 6110A)를 이용하여 cDNA를 올리고(dT)₂₀ 프라이머로 역전사시켰다. 2개의 *SfiI* 제한 부위가 도입된 VHH 단

편을 증폭시키도록 정방향 및 역방향 특이적 축증 프라이머(중국 특허 CN105555310B 참조)를 설계하였다. 2단계 증합효소 연쇄 반응(PCR)을 이용하여 VHH 단편을 증폭시키고, 제2 PCR 산물을 *Sfi*I로 분해하고, 겔 정제하고, 이어서, 파지미드 벡터 - pFL249에 삽입하고, 이를 이콜라이 세포에 전기 전달하여 파지 디스플레이 VHH 면역 라이브러리를 생성하였다.

[0521] 형질전환 세포의 적은 부분을 희석시키고, 100 μ g/ml 암피실린으로 보충한 2XYT 플레이트 상에 도말하였다. 콜로니를 계수하여 라이브러리 크기를 계산하였다. 양성 클론을 무작위로 선별하고, 서열분석하여 라이브러리 품질을 평가하였다. 100 μ g/ml 암피실린 및 2% 글루코스로 보충한 245mm² 2 $\times$ YT-한천 접시 상에 형질전환 세포의 나머지를 도말하였다. 콜로니의 론(Lawn)을 접시에서 벗겨내었다. 라이브러리 플라스미드 단리를 위해 세포의 작은 분취액을 사용하였다. 나머지를 글리세롤로 보충하고, 저장액으로서 -80 $^{\circ}$ C에서 보관하였다.

[0522] 6.1.4. 파지-디스플레이 패닝

[0523] 헬퍼 파지에 의한 감염 후에, 유전자 III 융합 단백질로서 표면 상에 VHH 도메인을 디스플레이하는 재조합 파지 입자를 생성하였다. 파지 입자를 표준 방법에 따라 제조하고, 추가 연구를 위해 4 $^{\circ}$ C에서 멸균 여과 후 보관하였다.

[0524] 상이한 패닝 전략을 위해 파지 라이브러리를 사용하였다. 제1 및 제2 패닝 라운드에서, 바이오틴일화된 인간 CD22 항원(셀포-NHS-LC-바이오틴 키트로 표시된 바이오틴)을 파지 라이브러리와 함께 인큐베이션시키고, 후속적으로 Streptavidin Dynabeads(Invitrogen) 상에서 포획하였다. 이어서, 광범위 세척이 이어지고, 결합된 파지를 트라이에틸아민으로 용리시켰다. 2회의 패닝 라운드 후에, 파지 풍부화를 관찰하였다.

[0525] 6.1.5. ELISA 선별

[0526] 개개 라이브러리 클론을 접종하고, 96-웰 딥-웰 플레이트에서 발현을 위해 유도하였다. 인간 CD22 항원을 특이적으로 인식하는 VHH 클론을 선별하기 위해 ELISA 선별을 수행하였다.

[0527] 단일 항원 특이적 세포주에 결합하는 VHH 클론을 확인하기 위해, K562.huCD22.Luc 및 K562.Luc 세포를 실온에서 1시간 동안 3% BSA 완충제로 차단하였다. 단일 클론을 생산 라이브러리로부터 무작위로 선별하고, 96-웰 딥-웰 플레이트에서 배양하였다. 박테리아 배양물의 OD₆₀₀이 0.6 내지 0.8에 도달되었을 때, 밤새 발현을 유도하기 위해 IPTG를 첨가하였다. 원심분리에 의해 박테리아를 채취하고, 마이크로웰 플레이트에 파종하였다. 본 개시내용의 예시적인 항-CD22 VHH 도메인을 선택하고 서열분석하였다.

[0528] 위에서 기재한 방법을 이용하여 항-CD19 및 항-CD20 VHH를 얻었다. 예시적인 VHH의 VHH 서열을 표 2 및 본 명세서에 제공된 서열목록에서 요약한다.

[0529] 6.2. 실시예 2-CAR의 작제 및 면역 세포에서의 이의 발현

[0530] 6.2.1. CAR의 작제

[0531] N-말단에서 C-말단까지: CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막관통 도메인, CD137 세포질 도메인 및 CD3 ζ 세포질 도메인을 포함하는 CAR 골격 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열을 화학적으로 합성하고 하류의 사전 변형 렌티바이러스 벡터에 클로닝하고, hEF1 α 프로모터에 작동 가능하게 연결하였다. 벡터에서 다중-클로닝 부위(multi-cloning site: MCS)는 VHH 도메인(들)의 N-말단에 융합된 CD8 α 신호 펩타이드를 암호화하는 핵산 서열에 작동 가능하게 연결된 Kozak 서열(GCCGCCACC(서열번호 166))을 포함하는 핵산 서열의 삽입을 가능하게 하였고, 상류는 CAR 골격 서열에 작동 가능하게 연결되었다.

[0532] CAR 골격 벡터를 이용하여 다중-특이성 VHH CAR을 작제하기 위해, 펩타이드 링커(들)를 통해 서로 융합된 다중의 상이한 VHH 도메인을 암호화하는 핵산 서열을, CD8 α 신호 펩타이드를 암호화하는 핵산 서열의 3'에 작동 가능하게 연결시켰다. CD19 VHH 도메인 중 하나, CD20 VHH 도메인 중 하나 또는 CD22 VHH 도메인 중 하나(다양한 VHH 순서 및 조합을 포함함)로부터의 2개의 VHH 도메인을 일련의 글리신-세린 펩타이드 링커((G₄S)_n)와 융합시킴으로써 이중특이성 VHH CAR 작제물을 제조하였다. 항-CD19 VHH 도메인 중 하나, 항-CD20 VHH 도메인 중 하나 및 항-CD22 VHH 도메인 중 하나(다양한 VHH 순서 및 조합을 포함함)로부터의 3개의 VHH 도메인을 일련의 글리신-세린 펩타이드 링커((G₄S)_n)와 융합시킴으로써 삼중특이성 VHH CAR(AIO CAR) 작제물을 제조하였다. Kozak-CD8 α 신호 펩타이드 핵산 서열과 조합한 융합 핵산 서열을 화학적으로 합성하고 당업계에 공지된 분자 클로닝 기법에 의해 *Eco*RI(5'-GAATTC-3' (서열번호 167)) 및 *Spe*I(5'-ACTAGT-3' (서열번호 168)) 제한 부위를 통해 CAR 골격에 클로닝시켰다. CAR 골격을 이용하여 표 2에 나타난 VHH를 갖는 단일특이성 CAR을 또한 작제하였다. 또한, 항-

CD19 scFv(FMC63 scFv(서열번호 280)), 항-CD20 scFv(Leu16 scFv(서열번호 281)) 및 항-CD22 scFv(m971 scFv(서열번호 282))를 또한 각각 양성 대조군으로서 작용하도록 CAR 골격에 클로닝시켰다.

[0533]

예시적인 이중특이성 낙타과 CD19×CD20 VHH CAR, CD19×CD22 VHH CAR, CD20×CD22 VHH CAR 작제물(다양한 VHH 순서를 포함) 및 삼중특이성 낙타과 CD19×CD20×CD22 VHH CAR(AIO CAR) 작제물(다양한 VHH 순서를 포함)을 표 4 내지 표 7 및 표 9에 열거한다.

표 9

예시적인 다중특이성 낙타과 VHH CAR

예시적인 CAR 암호	아미노산 (서열번호)	SP	세포외 항원 결합 도메인					인지 및 TM	CT SD ²	PI SD ³
			VHH#1	링커#1 ¹	VHH#2	링커#2 ¹	VHH#3			
AIO-2C1 CAR	서열번호 174	CD8 α	VHH-496	X1	VHH-66	X1	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-2C2 CAR	서열번호 175	CD8 α	VHH-496	X2	VHH-66	X2	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-2C3 CAR	서열번호 176	CD8 α	VHH-496	X3	VHH-66	X3	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-2C4 CAR	서열번호 177	CD8 α	VHH-496	X4	VHH-66	X4	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-3C1 CAR	서열번호 178	CD8 α	VHH-66	X1	VHH-083	X1	VHH-496	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-3C2 CAR	서열번호 179	CD8 α	VHH-66	X2	VHH-083	X2	VHH-496	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-3C3 CAR	서열번호 180	CD8 α	VHH-66	X3	VHH-083	X3	VHH-496	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-3C4 CAR	서열번호 181	CD8 α	VHH-66	X4	VHH-083	X4	VHH-496	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-4C1 CAR	서열번호 182	CD8 α	VHH-66	X1	VHH-496	X1	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-4C2 CAR	서열번호 183	CD8 α	VHH-66	X2	VHH-496	X2	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-4C3 CAR	서열번호 184	CD8 α	VHH-66	X3	VHH-496	X3	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-4C4 CAR	서열번호 185	CD8 α	VHH-66	X4	VHH-496	X4	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-5C1 CAR	서열번호 186	CD8 α	VHH-496	X1	VHH-083	X1	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-5C2 CAR	서열번호 187	CD8 α	VHH-496	X2	VHH-083	X2	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-5C3 CAR	서열번호 188	CD8 α	VHH-496	X3	VHH-083	X3	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-5C4 CAR	서열번호 189	CD8 α	VHH-496	X4	VHH-083	X4	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-6C1 CAR	서열번호 190	CD8 α	VHH-273	X1	VHH-083	X1	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-6C2 CAR	서열번호 191	CD8 α	VHH-273	X2	VHH-083	X2	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-6C3 CAR	서열번호 192	CD8 α	VHH-273	X3	VHH-083	X3	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-6C4 CAR	서열번호 193	CD8 α	VHH-273	X4	VHH-083	X4	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-7C1 CAR	서열번호 194	CD8 α	VHH-083	X1	VHH-496	X1	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ

[0534]

AIO-7C2 CAR	서열번호 195	CD8 α	VHH-083	X2	VHH-496	X2	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-7C3 CAR	서열번호 196	CD8 α	VHH-083	X3	VHH-496	X3	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-7C4 CAR	서열번호 197	CD8 α	VHH-083	X4	VHH-496	X4	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-8C1 CAR	서열번호 198	CD8 α	VHH-083	X1	VHH-66	X1	VHH-496	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-8C2 CAR	서열번호 199	CD8 α	VHH-083	X2	VHH-66	X2	VHH-496	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-8C3 CAR	서열번호 200	CD8 α	VHH-083	X3	VHH-66	X3	VHH-496	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-8C4 CAR	서열번호 201	CD8 α	VHH-083	X4	VHH-66	X4	VHH-496	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-9C1 CAR	서열번호 202	CD8 α	VHH-273	X1	VHH-66	X1	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-10C1 CAR	서열번호 203	CD8 α	VHH-66	X1	VHH-083	X1	VHH-273	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-11C1 CAR	서열번호 204	CD8 α	VHH-66	X1	VHH-273	X1	VHH-083	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-12C1 CAR	서열번호 205	CD8 α	VHH-083	X1	VHH-273	X1	VHH-66	CD8 α	CD137	CD3 ζ
AIO-13C1 CAR	서열번호 206	CD8 α	VHH-083	X1	VHH-66	X1	VHH-273	CD8 α	CD137	CD3 ζ

주:

¹ 표 9의 작제물에서 사용되는 링커는 (GGGGS)_n 이며, n은, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 및 6을 포함하는 정수이고(서열번호 147), 링커 X1에서, n=1이고; 링커 X2에서, n=2이며; 링커 X3에서, n=3이고; 링커 X4에서, n=4이고; 링커 X5에서, n=5이다.

² CT SD는 공자극 신호전달 도메인을 나타낸다.

³ PI SD는 1차 세포내 신호전달 도메인을 나타낸다.

[0535]

[0536]

위에서 기재한 다중특이성 VHH CAR의 핵산 서열을 서열목록에서 서열번호 227 내지 259에 나타낸다. 이들 예시적인 CAR 작제물에서, CD8 α 신호 펩타이드, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막관통 도메인, CD137 세포질 도메인 및 CD3 ζ 세포질 도메인의 서열을 각각 서열번호 161, 서열번호 162, 서열번호 163, 서열번호 164 및 서열번호 165에 나타낸다.

[0537]

6.2.2. 렌티바이러스 벡터의 패키징

[0538]

pMDLg.pRRE(Addgene, 카탈로그 번호12251), pRSV-REV(Addgene, 카탈로그 번호12253) 및 pMD2.G(Addgene, 카탈로그 번호12259)를 포함하는 플라스미드 혼합물을 패키징하는 렌티바이러스를 폴리에테리미드(PEI)와의 사전 최적화된 비로 CAR 작제물을 발현시키는 벡터와 사전혼합하였다. 형질감염 혼합물을 HEK293T 세포에 적가하고, 부드럽게 혼합한 후에, 6 내지 8시간 후 배지를 대체하였다. 바이러스-함유 상청액을 48시간 및 72시간에 수집하고, 이어서, 3000g, 4℃에서, 10분 동안 원심분리시켰다. 렌티바이러스 농축 후에, 상청액을 조심해서 버리고, 바이러스 펠릿을 D10 배지(DMEM, 10% FBS, 1mM 피루브산나트륨 및 2mM L-글루타민)로 재현탁시켰다. 채취한 바이러스를 분취시키고, -80℃에서 즉시보관하였다. 바이러스 역가를 평가하고, CHO 포유류 세포 형질도입 효율에 의해 결정하였다. VHH CAR의 LV 역가는 0.8×10^8 내지 4×10^8 의 범위에 도달되었다.

[0539]

6.2.3.T 세포 단리 및 활성화

[0540]

인간 PBMC를 건강한 공여자로부터 수집하였다. 인간 T 세포를 아래에 기재한 바와 같이 제조업자의 프로토콜에 따라 Miltenyi Pan T 세포 단리 키트 (카탈로그 번호130-096-535)를 이용하여 PBMC로부터 정제하였다. 세포수를 계수하고 세포 현탁액을 300g으로 10분 동안 4℃에서 원심분리시켰다. 이어서, 상청액을 흡인하고, 세포 펠릿을 총 10^7 개의 세포당 40 μ l의 완충제에서 재현탁시켰다. 총 10^7 개의 세포당 10 μ l의 Pan T 세포 바이오틴-항체 각테일을 첨가하고, 철저히 혼합하고 4℃에서 5분 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 총 10^7 개의 세포당 30 μ l의 완충제를 첨가하였다. 10^7 개의 세포당 20 μ l의 Pan T 세포 마이크로비드 각테일을 첨가하였다. 세포 현탁액 혼합물을 철저히 혼합하고 추가 10분 동안 4℃에서 인큐베이션시켰다. 자기 분리를 위해 500 μ l의 최소 용적(vol.)이 필요하였다. 자기 분리에서, 적합한 MACS 분리기의 자기장에 LS 칼럼을 위치시켰다. LS 칼럼을 3ml의 완충제로 린스하였다. 세포 현탁액을 칼럼에 적용하고, 풍부화된 T 세포 분획을 나타내는 비표지 세포를 함유하는 통과액을 수집하였다. 칼럼을 3ml의 완충제로 세척하고 통과된 비표지 세포를 채취함으로써 추가 T 세포를 수집하였다.

이들 비표지 세포는 다시 풍부화된 T 세포를 나타냈고, 이전 단계로부터의 통과액과 합하였다. 이어서, 플링한 풍부화된 T 세포를 원심분리시키고, T 세포 배양 배지(RPMI1640, 10% 열 비활성화된 소 태아 혈청(FBS) 및 300 IU/ml의 IL-2)로 재현탁시켰다. 제조업자의 프로토콜에 따라 T 세포 배양 배지에서 항-CD3/CD28 MACSiBead 입자(Miltenyi, 카탈로그 번호130-111-160)의 첨가에 의해 새로 단리된 T 세포를 활성화시켰다.

[0541] **6.2.4.삼중특이성 낙타과 VHH CAR-T 세포의 생성**

[0542] 시험관내와 생체내 연구 둘 다에 의한 수백개의 신규한 낙타과 CD19 VHH CAR-T 세포, CD20 VHH CAR-T 세포 및 CD22 VHH CAR-T 세포의 대규모 선별 및 입증 및 항-CD19 VHH-huIgG1Fc mAb, 항-CD20 VHH-huIgG1Fc mAb 및 항-CD22 VHH-huIgG1Fc mAb의 단클론성 항체 특성규명에 기반하여, 시험관내와 생체내 연구 둘 다에 의해 효능 및 안전성 평가를 위해 인간 1차 T 세포에서 렌티바이러스 형질도입에 의해 다중-특이성 낙타과 VHH CAR-T 세포를 생성하기 위해, CD19, CD20 또는 CD22 항원에 대한 상위 낙타과 VHH 리드를 선택하고, 다양한 VHH 순서/조합으로 설계 및 작성하였다. 예시적인 다중-특이성 VHH CAR(AIO CAR을 포함) 작성물을 표 9에 나타낸다. 낙타과 단일-특이성 VHH CAR-T 세포, CD19 scFv CAR-T 세포, CD20 scFv CAR-T 세포 및 CD22 scFv CAR-T 세포를 또한 대조군으로서 생성하였다.

[0543] 24-웰 플레이트의 웰당 0.5ml 배지 중 0.5×10^6 개의 세포로 활성화된 T 세포를 배양시켰다. 24시간 후에, T 세포가 블라스팅(blasting)되었을 때, 0.5ml의 비농축 또는 더 작은 용적의 농축된 바이러스 상청액을 첨가하고; T 세포를 1200g에서 1.5시간 동안 32℃에서 원심분리에 의해 10 또는 15의 감염다중도(MOI)로 T 세포를 형질도입하였다. 이어서, 형질도입 T 세포를 적합한 조건 하에 이식유전자 발현을 위한 세포 배양 인큐베이터에 옮겼다. T 세포는 로그 성장 패턴으로 나누어지기 시작하고, 이를 세포수(생세포/ml) 및 생존도(%)를 측정함으로써 모니터링하였다. T 세포 배양물을 2일마다 신선한 배지로 보충하였다. 대략 7 내지 9일 후에 T 세포가 휴지 상태로 되기 시작함에 따라, 이부 분석을 위해 채취 및 동결보존할 준비를 하였다.

[0544] 동결보존 전에, 형질도입된 세포의 백분율(T 세포 표면 상의 VHH 도메인(들) 또는 scFv 도메인을 발현시킴)을 유세포분석에 의해 결정하였다. T 세포를 LIVE/DEAD™ Fixable Dead Cell 염색 키트(Invitrogen, 카탈로그 번호L34976)로 염색하고, VHH-기반 CAR-T 세포를 염소 항-라마 IgG FITC 접합체(Bethyl, 카탈로그 번호 A160-100F)로 염색하고, scFv-기반 CAR-T 세포(양성 대조군)를 FITC-표지 재조합 단백질 L(Acro, 카탈로그 번호RPL-PF141)로 30분 동안 4℃에서 염색한 후에, 3회 세척하고, Novocyte 유세포분석기(ACEA Biosciences) 상에서 FACS 분석을 위해 0.5% FBS와 함께 200μl의 DPBS에서 재현탁시켰다. Novoexpress 소프트웨어에 의해 FACS 데이터를 분석하였다.

[0545] 예시적인 단일-특이성 낙타과 VHH CAR-T 세포의 생존도는 약 92% 내지 96%였고, CAR+는 약 37% 내지 42%였고, 세포확장 배수는 8일 배양에서 75 내지 83배 이내였다. 예시적인 삼중-특이성 낙타과 VHH CAR-T 세포의 생존도는 약 92% 내지 96%였고, CAR+는 약 7% 내지 32%였고, 세포확장 배수는 8일 배양에서 75 내지 92배 이내였다 (도 1A 내지 도 1B). 데이터는 표 10에 나타낸 바와 같이 비형질도입 T 세포(UnT)와 비교할 때 증식 및 확장하는 T 세포의 능력에 대한 단일 특이성 VHH CAR에 비해서 삼중 특이성 VHH CAR의 검출 가능한 부정적 효과가 없다는 것을 나타낸다.

[0546] 형질도입된 T 세포는 상이한 CAR 발현 수준(%)을 나타냈고, 삼중특이성 VHH CAR 양성 비(CAR+ %)는 일반적으로 단일-특이성 VHH CAR+ 및 단일-특이성 scFv CAR+보다 더 낮았으며, 이는 형질도입 효율(형질도입된 세포 백분율)이 CAR의 구조 및 길이와 상관관계가 있을 수 있다는 것을 나타낸다.

표 10

예시적인 VHH CAR-T 세포의 CAR 발현 수준 및 세포 확장 배수

암호	렌티바이러스 역가(TU/mL)	CAR 양성 비 (CAR+ %)	세포 배양(제 8 일)	
			생존도(%)	확장 배수
VHH-083 CAR-T 세포	2.67E+08	42.06%	92.8	81.9
VHH-496 CAR-T 세포	3.29E+08	38.56%	96.1	82.6
VHH-66 CAR-T 세포	3.18E+08	42.41%	91.8	75.1
AIO-2C1 CAR-T 세포	8.17E+07	13.62%	94.5	83.8
AIO-2C2 CAR-T 세포	2.18E+08	27.66%	92.4	81.5
AIO-2C3 CAR-T 세포	1.03E+08	7.19%	93.8	89.8
AIO-2C4 CAR-T 세포	2.06E+08	25.30%	93.2	81.1
AIO-3C1 CAR-T 세포	1.86E+08	27.40%	92.6	86.2
AIO-3C2 CAR-T 세포	1.65E+08	20.44%	92.4	92.2
AIO-3C3 CAR-T 세포	2.66E+08	32.62%	92.8	80.2
AIO-3C4 CAR-T 세포	1.87E+08	27.26%	93.5	90.9
AIO-4C1 CAR-T 세포	1.55E+08	24.03%	93.3	82.3
AIO-4C2 CAR-T 세포	1.55E+08	19.99%	92.7	80.6
AIO-4C3 CAR-T 세포	1.48E+08	19.81%	94.2	83.8
AIO-4C4 CAR-T 세포	1.27E+08	16.29%	94.1	75.9
UnT		0.00%	92.2	59.7

[0547]

[0548] 6.3. 실시예 3-시험관내 CAR을 발현시키는 면역 세포의 특성규명

[0549] 6.3.1. 표적 세포 표면에 대한 CD19, CD20 및/또는 CD22 항원(들)의 발현

[0550] 평가한 표적 세포 표면에 대한 CD19, CD20 및 CD22의 발현 수준을 평가하기 위해, 웰당 5×10^5 개의 세포를 PE-표지 항-CD19, 항-CD20 또는 항-CD22 mAb와 함께 각각 인큐베이션시키고(BioLegend, 카탈로그 번호302208, #302306 또는 #302506), QUANTI-BRITE PE 비드(BD Bioscience, 카탈로그 번호 340495)와 함께 유세포 분석에 의해 평가하였다. 제조업자의 지침에 따라 검정 및 데이터 분석을 수행하였다. "세포당 수용체 수"는 표시된 세포주 각각에 대한 수용체 절대 수의 근사치를 나타낸다(표 11).

표 11

표적 세포당 CD19, CD20 및 CD22 수용체 수

세포주	세포당 CD19 수용체 수	세포당 CD20 수용체 수	세포당 CD22 수용체 수
K562.Luc	<10	<10	<50
K562-CD19.Luc	189789	NA	NA
K562-CD20.Luc	<10	28303	NA
K562-CD22.Luc	<10	NA	93339
Raji.Luc	77641	132614	34854
Daudi.Luc	49158	247729	39586
Nalm.6.Luc	32773	<10	10441

[0551]

[0552]

6.3.2. 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 효능 평가

[0553]

종양 세포에 대한 삼중특이성 VHH CAR-T 세포(또는 AIO CAR-T 세포)의 세포독성을 평가하기 위해, 위에 기재한 바와 같이 생성한 세포를 계수하고, 항원(들) 특이적 암 세포와 함께 공동배양시켜 사멸 효력을 관독하였다. 모 단일-특이성 낙타과 VHH CAR-T 세포, CD19 scFv CAR-T 세포, CD20 scFv CAR-T 세포 및/또는 CD22 scFv CAR-T 세포를 양성 대조군으로서 사용하였다. 비형질도입 T 세포(UnT)를 비-표적화 T 세포 대조군으로서 사용하였다. CD19⁺ CD20⁺ CD22⁺ 삼중 양성 항원 발현 B 림프종 세포주 - Raji(ATCC #CCL-86) 및 Daudi(ATCC #CCL-213), CD19⁺ CD20⁻ CD22^{low} 이중-양성 항원 발현 B 백혈병 세포주 - Nalm.6(ATCC #CRL-3273), 단일-항원 발현 세포주 - K562-CD19, K562-CD20 또는 K562-CD22, 및 음성 세포주 - K562 (ATCC #CCL-243)에 대해 삼중특이성 VHH CAR-T 세포 사멸을 수행하였다. 세포 생존/사멸에 대한 리포터로서 반딧불이 루시페라제를 발현시키기 위해 모든 세포주를 사내에서 조작하였다. 형질도입된 세포를 퓨로마이신으로 선택하고, 2 내지 3일마다 선택 배양 배지(10% FBS 및 2 μ g/ml 퓨로마이신으로 보충한 이글 최소 필수 배지)에 의해 리프레쉬시켰다. 3회의 선택 라운드 후에, 선택한 세포 클론을 채취하고, 추가 사용을 위해 보존하였다. 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 세포독성을 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 2.5:1, 1.25:1, 0.625:1 또는 0.3125:1의 효과기 세포 대 표적 세포비(E:T)로 24시간 동안 측정하였다. 각각의 수의 T 세포를 일정한 수의 표적 세포와 혼합함으로써 분석을 개시하였다. 웰당 남아있는 루시페라제 활성을 ONE-Glo 루시페라제 검정(Promega, 카탈로그 번호 E6110)에 의해 평가하여 웰당 남아있는 생 표적 세포를 정량화하였다. (G₄S)_n 링커(n=1 내지 4)와 함께 항-CD19 VHH, 항-CD20 VHH 및 항-CD22 VHH의 상위 리드의 다양한 순서/조합을 삼중특이성 VHH CAR에서 작제하였고, 삼중특이성 VHH CAR-T 세포를 생성하고, 시험 관내 세포독성 검정으로 선별하였다.

[0554]

예시적인 삼중특이성 VHH AIO CAR-T 세포에 대한 데이터를 도 2A 내지 도 2K에 나타낸다. AIO CAR-T 세포를 하나의 CAR 오픈 리딩 프레임을 암호화하는 렌티바이러스 벡터로 조작하고 탠덤 CD19-, CD20- 및 CD22-표적화 결합체와 함께 구성하였다. 항-CD19 VHH, 항-CD20 VHH 및 항-CD22 VHH 도메인의 다중 조합물을 평가하고, 림프종 및 백혈병 종양 세포를 잠재적으로 사멸시키는 최적의 AIO CAR-T 세포를 시험관내에서 확인하였다. 3개의 탠덤 VHH 도메인의 공동 효과에 관해, 데이터는 AIO CAR-T 세포 중 일부가 CD19+CD20+CD22+ 림프종 세포주 - Raji.Luc 및 Daudi.Luc에 대해 양성 대조군(모노-VHH CAR-T 세포 또는 모노-scFv CAR-T 세포) 더 우수한 항 종양 효력 및 상승 효과를 나타내고, 용량 의존적 사멸 능력을 나타내었다는 것을 보여주었다(도 2A, 도 2G, 도 2H 및 도 2J). AIO CAR-T 세포 중 일부는 CD19+CD20-CD22low 백혈병 세포주 - Nalm.6.Luc에 대해 더 높은 세포 독성을 나타냈다(도 2B, 도 2I 및 도 2K). 단일-항원 발현 세포 - K562-CD19.Luc, K562-CD20.Luc 또는 K562-CD22.Luc를 표적화함에 있어서, AIO CAR-T 세포의 일부는 효력이 향상 또는 유지되었고, 종양 용해를 유발하는 충분한 양의 단일 표적 항원을 확인하였다(도 2C 내지 도 2E). 삼중- 또는 이중-양성 항원 발현 세포에 대한 상승 효과 및 단일-항원 발현 세포에 대해 유지된 효력에 기반하여, 탠덤 VHH 도메인 각각이 폴딩되고 T 세포 표면 상에서 발현되며, 상이한 에피토프에 결합되었고, 서로 차단하지 않았고, CD19, CD20 및 CD22 항원에 대한

결합을 방해하는 입체 장애 효과는 없다는 것이 나타났다. 도 2A 및 도 2B의 예시적인 데이터는 각각의 VHH를 연결하는 (G4S) 링커 길이가 짧을수록, 표적 상의 종양 세포를 사멸시킴에 있어서 AIO CAR-T 세포의 효력이 더 크다는 것을 나타냈다. 이 관찰은 링커 길이가 T 세포 효과기 기능에 유리한 영향을 가졌다는 것을 시사하였다. 도 2G 및 도 2I의 예시적인 데이터는 동일한 링커 길이 하에, 삼중특이성 VHH 도메인의 상이한 조합이 림프종 및 백혈병 세포 - Raji.Luc, Daudi.Luc 또는 Nalm.6.Luc 세포주에 대해 상이한 사멸 효력을 나타냈다는 것을 보여주었다. 임의의 이론에 의해 구속되는 일 없이 링커 길이 및 삼중-VHH 조합물의 결과에 기반하여, 사멸 효력의 차이는 시냅스 형성 간격 및 CAR-T 세포와 종양 세포 사이의 거리와 상관관계가 있을 수 있다. 면역학적 시냅스(IS)는 APC 또는 종양 세포와의 세포-세포 상호작용을 통해 상호작용하는 림프구(예를 들어, 효과기 T 세포)에 대한 증추적 메커니즘이다. 종양 표적 관여(engagement)는 일정 기간에 걸쳐 사이토카인, 그랜자임 및 퍼포린으로 가득 찬 과립이 부하된 항원-특이적 킬러 T 세포로 CD8+T-세포를 분화 및 활성화시킨다. 예상되는 바와 같이, 삼중특이성 VHH AIO CAR-T 세포 및 단일특이성 VHH CAR-T 세포는 K562.Luc 세포 표면 상에서 표적화 가능한 항원의 결여로 인해, UnT 대조군에 비해서 음성 세포주 - K562.Luc에 대한 사멸 효력이 결여되었다(도 2F).

[0555] 위의 관찰은 삼중특이성 VHH CAR이 세포 표적화에 대해 CD19, CD20 및/또는 CD22 항원(들)의 특이적 인식을 통해서 T 세포 활성화를 유도하고, T 세포 내인성 신호전달 경로를 활성화시키고, 세포독성 T 림프구(CTL)의 활성화를 유도하고, 상승적 항-종양 반응을 향상시킨다는 것을 나타낸다.

[0556] 6.3.3.삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 IFN- γ 방출 평가

[0557] CD19, CD20 및 CD22 항원 발현 세포에 반응한 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 사이토카인 생산을 측정하기 위해, CAR-T 세포를 B 림프종 세포주 - Raji(ATCC #CCL-86)를 발현시키는 CD19⁺ CD20⁺ CD22⁺ 삼중-양성 항원 및 음성 세포주 - K562 (ATCC #CCL-243)와 함께 5:1 또는 2.5:1의 E:T 비로 24시간 동안 공동 배양시켰고, 이 후에 배지를 사이토카인 방출 정량화 및 인간 IFN- γ 키트(Cisbio, 카탈로그 번호62HIFNGPEG)를 이용하는 분석을 위해 채취하고, 각 웰(시험 항목당 3회)의 흡광도를 다중모드 마이크로플레이트 판독기(Tecan Spark)에 의해 판독하였다.

[0558] 도 3A의 예시적인 데이터는 삼중특이성 VHH 도메인의 동일한 조합에 의해, 각 VHH를 연결하는 (G4S) 링커 길이가 짧을수록, AIO CAR-T 세포에 의해 더 많은 IFN- γ 가 방출되었다는 것을 나타냈다. 도 3A 및 도 3B의 예시적인 데이터는 IFN- γ 방출 수준이 AIO CAR-T 세포의 사멸 효력과 일치되었다는 것을 나타냈다.

[0559] 대조적으로, IFN- γ 방출은 비형질도입 T 세포(UnT) 대조군 또는 표적 음성 세포주 - K562.Luc와의 공동배양물에서 검출 가능하지 않거나 극도로 낮았다(도 3A). AIO CAR-T 세포의 IFN- γ 방출 결여는 K562.Luc의 사멸이 없는 것과 일치되었고(도 3B), 이는 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 표적 상의 사멸 및 사이토카인(들) 분비에 특정 항원(들) 자극된 CAR-T 세포 활성화가 필요하였다는 것을 나타냈다. 데이터는 동일한 VHH 순서에 의해, (G₄S) 링커가 짧을수록, AIO CAR-T 세포에 의해 더 많은 IFN- γ 가 방출되었다는 것을 나타냈다. IFN- γ 방출 경향은 상이한 (G₄S) 링커를 갖는 AIO CAR-T 세포의 세포독성과 일치되었다. 예를 들어, 동일한 VHH 순서로, 하나의 (G₄S) 단위 링커(n=1)를 갖는 AIO-8C1 CAR-T 세포는 3개의 (G₄S) 단위 링커(n=3)를 갖는 AIO-8C3 CAR-T 세포보다 더 많은 IFN- γ 를 방출하였고, AIO-8C3 CAR-T 세포는 4개의 (G₄S) 단위 링커(n=4)를 갖는 AIO-8C4 CAR-T보다 더 많은 IFN- γ 를 방출하였다(도 3). 한편으로, 동일한 (G₄S)_n 링커(들)에 의해, 상이한 VHH 순서를 갖는 AIO CAR-T 세포는 상이한 수준의 IFN- γ 를 유의미하게 방출하였고, 예시적인 데이터는 T 세포막에 더 가까운 항-CD20 VHH 도메인을 갖는 AIO-8C1 CAR-T 세포가 T 세포막에 원위인 항-CD20 VHH 도메인을 갖는 AIO-7C1 CAR-T 세포에 의해 방출된 IFN- γ 에 비해 거의 2배량의 IFN- γ 를 방출하였다는 것을 나타냈다(도 3). 대조적으로, IFN- γ 방출은 비형질도입 T 세포(UnT) 또는 음성 대조군 세포주 - K562.Luc 중 하나를 함유하는 공동 배양물에서 검출 가능하지 않거나 극도로 낮았는데, 이는 AIO CAR-T 세포의 항원(들) 특이적 인식 및 자극이 CD19, CD20 및/또는 CD22 발현 세포에 대한 반응성에 필요하였다는 것을 나타냈다(도 3).

[0560] 6.4.실시예 4- 종양 이종이식 마우스에서 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 생체내 효능

[0561] 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 항-종양 활성을 Raji 이종이식 NCG 마우스 모델에서 생체내에서 평가하였고, CD19 scFv CAR-T 세포 및 비형질도입 T 세포(UnT)를 대조군으로서 평가하였다.

[0562] 세포주: Raji(ATCC #CCL-86)는 Pulvertaft가 1963년에 11세 남성의 버킷 림프종으로부터 확립한 림프아구-유사 세포주이다. Raji 세포를 10% 소 태아 혈청을 함유하는 RPMI 배지에서 성장시켰다. 이 세포주는 조직 배양 플라

스크에서 현탁액 중에서 성장시킨다. 이 세포주는 정맥내로 이식될 때 마우스에서 지속되고 확장된다. Raji 세포는 루시퍼라제를 발현시키도록 변형되었고, 따라서 종양 세포 성장은 마우스를 영상화함으로써 모니터링할 수 있었다. Raji 모델은 고수준의 CD19, CD20 및 CD22를 내인성으로 발현시키고, 따라서, CD19, CD20 및/또는 CD22-지시 조작된 AIO CAR-T 세포의 생체내 효능을 시험하기 위해 사용할 수 있다.

[0563] **마우스:** 유사한 체중(대략 20g)을 갖는 5 내지 6주령의 NCG(NOD-Prkdcem26Cd52Il2rgem26Cd22/Nju) 암컷 마우스를 난징 대학교의 동물 모델 연구 센터(Model Animal Research Center of Nanjing University)로부터 받았다. 실험 전 7일 동안 동물을 동물 시설에 적응시켰다. ACUC 규제 및 가이드라인에 따라 동물을 처리하였다.

[0564] 6.4.1. 삼중특이성 VHH CAR-T 세포 효능의 생체내 시험 및 결과

[0565] 종양 이종이식을 생성하기 위해, NCG 마우스에 Raji.Luc를 정맥내로 주사하였다. Raji.Luc 종양 세포 이식 4일 후에 마우스를 T 세포로 처리하였다. 마우스에 400 μ l의 T 세포로 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 주사하였다. 그룹당 5마리 마우스를 각각 마우스당 1M의 CAR-T 세포 용량, 마우스당 0.5M 마우스당 0.25M로 AIO CAR-T 세포 또는 CD19 scFv CAR-T 세포(양성 대조군) 중 하나, 400 μ l의 HBSS 단독 및 대조군으로서 비형질감염 T 세포(UnT)로 처리하였다. 모든 T 세포는 동일한 공여자로부터 병행해서 준비하였다.

[0566] 체중 측정을 포함하는 동물 건강 상태를 주당 2회 모니터링하였다. 동물이 종점을 달성할 때까지 생물발광 영상화(BLI)에 의해 매주 종양 성장을 모니터링하였다. 모든 처리군에 대한 평균 생물발광을 도 4A 내지 도 4F에 플롯팅한다. 임의의 T 세포를 받지 않은 HBSS 처리군(비히클)은 정맥내로 주사한 NCG 마우스에서 기준선 Raji 종양 성장 동력학을 입증하였다. UnT 처리군은 조작된 T 세포에 대한 음성 대조군으로서 비-형질도입 T 세포를 받았다. HBSS와 UnT 처리군은 둘 다 본 연구 내내 지속적인 공격성 종양 진행을 입증하였고, 제17일에 안락사시켰다(도 4A 내지 도 4G). 평균 생물발광 및 생물발광 영상으로부터 나타나는 바와 같이, 마우스당 1 M의 CAR-T 세포 용량에서, AIO CAR-T 세포와 CD19 scFv CAR-T 세포의 효능은 비슷하였고, CAR-T 세포 모두 UnT 처리와 비교할 때 종양 성장을 유의미하게 저해하였고, 모두 생체내 효능 연구의 28일 동안 완전한 종양 저해를 나타냈고(도 4A 및 도 4B); 마우스당 0.5M의 CAR-T 세포 용량에서, AIO CAR-T 세포는 CD19 scFv CAR-T 세포보다 종양 저해에 더 효능이 있었고(도 4C 및 도 4D); 및 마우스당 0.25M의 CAR-T 세포 용량에서, AIO CAR-T 세포는 CD19 scFv CAR-T 세포보다 종양 저해에 유의미하게 더 효능이 있었고, 공격적 종양 성장으로 인해 CD19 scFv CAR-T 세포 처리 마우스를 제19일에 안락사시켰다(도 4E 및 도 4F). AIO CAR-T 세포는 림프종 세포주 - Raji에 대해 용량-의존적 사멸 능력을 나타냈다(도 4A 내지 도 4F). 또한, 2주마다 모니터링한 마우스 건강 상태는 정상이었고, 체중은 생체내 연구의 28일 내내 AIO CAR-T 세포 처리군에서 안정적이었다(마우스당 1M 및 0.5M CAR-T 세포)(도 4G).

[0567] 6.5. 실시예 5- 삼중특이성 인간화된 VHH CAR의 생성 및 특성규명

[0568] 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포(또는 인간화된 AIO CAR-T 세포)를 생성하기 위해, 서열 분석, 인간 수용자 선택, 인실리코 CDR-접합, 상동성 구조적 모델링, 서열 정렬 및 구조 기반-역 돌연변이 설계를 적용함으로써 낙타과 VHH 도메인을 인간화하였다. 인간 1차 T 세포에서 렌티바이러스 형질도입에 의해 인간화된 VHH CAR-T 세포를 생성하였고, 시험관내 효능 연구에 의해 평가하였다. 인간화된 VHH CAR의 상부 리드를 선택하고, 다양한 VHH 순서/조합으로 설계 및 작제하고, 이어서, 효능 평가를 위해 인간 1차 T 세포에서 렌티바이러스 형질도입에 의해 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포를 생성하였다.

[0569] 6.5.1 VHH의 인간화

[0570] 인간에서 면역원성을 감소시키기 위해, 면역 반응의 대부분은 비-인간 항체 불변 영역에 대해 일어나기 때문에 낙타과 VHH 항체를 인간화시켰다. 상이한 프레임워크 영역을 낙타과 CDR과 조합할 때, 동일한 항원에 특이적인 키메라 인간 및 낙타과 항체는 상이한 효과기 기능을 유발하여, 이들의 치료적 이점을 연장시킬 수 있다. 대부분의 상동성 인간 생식계열 서열 또는 관련 스캐폴드에 대해 서열-기반 접근 및 프레임워크 서플링을 이용함으로써 낙타과 VHH를 인간화시켰다. 인실리코 CDR-접합, 상동성 구조적 모델링(3차 입체구조 및 폴딩), 서열 정렬, 구조 기반-역 돌연변이 설계 및 중요한 입체구조 잔기의 재도입에 의해 비천연 인간 프레임워크 스캐폴드에 의해 지지되고 있는 낙타과 CDR의 비-적합성 및 중요한 입체구조 잔기의 제거를 해결하였다. 항체 인간화 과정은 입체적 충돌(steric clash)을 제거할 뿐만 아니라 항원에 대한 결합 친화도에 관해 기능을 회복시킬 수 있다.

[0571] 서열 상동성에 기반한 인간화 설계를 위해 Cécile Vincke 등에 의해 설계된 보편적인 인간화된 VHH 프레임워크

h-NbBcII10FGLA(Protein Data Bank, PDB code: 3EAK, <https://www.rcsb.org/structure/3EAK>)을 채택하였다. 모델링 소프트웨어 MODELLER을 이용하여 낙타과 VHH의 상동성 모델링을 수행하였다. 인간 생식계열 유전자에 의한 정렬에 따라, 항-CD19 VHH, 항-CD20 VHH 및 항-CD22 VHH에 대한 하나의 인간 수용자로서 IGHV3-64*04를 선택하였다. 아미노산의 상대 용매 접근 가능성을 단백질의 3차원 구조에 따라 계산하였다. VHH의 아미노산 중 하나가 용매에 노출되었다면, 이는 본래의 아미노산으로 대체될 것이다. 본 명세서에 생성된 예시적인 인간화된 VHH 도메인을 표 2에 나타내고, 본 명세서에 제공된 서열목록에서 대응하는 서열을 제공한다.

[0572] 6.5.2. 인간화된 VHH CAR의 제조

[0573] 실시예 2에 기재한 방법을 이용하여 단일특이성 인간화된 VHH CAR(CD19, CD20 또는 CD22 항원을 표적화) 및 다중특이성 인간화된 VHH CAR(다양한 VHH 순서를 포함)을 생성하였다. 다중특이성 인간화된 VHH CAR의 작제물을 표 12에 나타낸다.

표 12

예시적인 다중특이성 인간화된 CAR

예시적인 인간화된 CAR 압호	아미노산 (서열번호)	SP	세포외 항원 결합 도메인					인지 및 TM	CT SD ²	PI SD ³
			VHH#1	링커#1 ¹	VHH#2	링커#2 ¹	VHH#3			
huAIO-100 CAR	서열번호 207	CD8 α	huVHH-773	X	huVHH-077	X	huVHH-746	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-133 CAR	서열번호 208	CD8 α	huVHH-773	X	huVHH-077	X	huVHH-750	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-167 CAR	서열번호 209	CD8 α	huVHH-773	X	huVHH-077	X	huVHH-753	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-180 CAR	서열번호 210	CD8 α	huVHH-773	X	huVHH-077	X	huVHH-253	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-203 CAR	서열번호 211	CD8 α	huVHH-773	X	huVHH-077	X	huVHH-256	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-213 CAR	서열번호 212	CD8 α	huVHH-776	X	huVHH-077	X	huVHH-253	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-217 CAR	서열번호 213	CD8 α	huVHH-776	X	huVHH-077	X	huVHH-256	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-227 CAR	서열번호 214	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-773	X	huVHH-253	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-230 CAR	서열번호 215	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-773	X	huVHH-256	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-240 CAR	서열번호 216	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-776	X	huVHH-253	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-243 CAR	서열번호 217	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-776	X	huVHH-256	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-267 CAR	서열번호 218	CD8 α	huVHH-776	X	huVHH-077	X	huVHH-746	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-300 CAR	서열번호 219	CD8 α	huVHH-776	X	huVHH-077	X	huVHH-750	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-333 CAR	서열번호 220	CD8 α	huVHH-776	X	huVHH-077	X	huVHH-753	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-433 CAR	서열번호 221	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-773	X	huVHH-746	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-467 CAR	서열번호 222	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-773	X	huVHH-750	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-500 CAR	서열번호 223	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-773	X	huVHH-753	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-600 CAR	서열번호 224	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-776	X	huVHH-746	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-633 CAR	서열번호 225	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-776	X	huVHH-750	CD8 α	CD137	CD3 ζ
huAIO-667 CAR	서열번호 226	CD8 α	huVHH-077	X	huVHH-776	X	huVHH-753	CD8 α	CD137	CD3 ζ

주:

¹ 표 12의 작제물에서 사용한 링커는 (GGGS)₁이다.

² CT SD는 공작극 신호전달 도메인을 나타낸다.

³ PI SD는 1차 세포내 신호전달 도메인을 나타낸다.

[0574]

[0575] 위에서 기재한 다중특이성 VHH CAR의 핵산 서열을 서열목록에서 서열번호 260 내지 279에 나타낸다. 이들 예시

적인 CAR 작제물에서, CD8 α 신호 펩타이드, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막관통 도메인, CD137 세포질 도메인 및 CD3 ζ 세포질 도메인의 서열을 각각 서열번호 161, 서열번호 162, 서열번호 163, 서열번호 164 및 서열번호 165에 나타낸다.

[0576] 각각의 CAR 작제물을 운반하는 렌티바이러스 벡터를 패키징하고, 실시예 2에 기재한 바와 같은 프로토콜로 적정하였다. 실시예 2에 기재한 프로토콜을 이용하여, Miltenyi Pan T 세포 분리 키트를 이용하여 1차 인간 T 세포의 추가 단리를 위해 건강한 공여자로부터의 말초 혈액 샘플에서 인간 PBMC를 제조하였다. 정제된 T 세포를 사전 활성화시키고, 실시예 2에 기재한 바와 같이 Miltenyi 항-CD3/CD28 마이크로-비드를 이용하여 확장시켰다.

[0577] 이어서, 사전 활성화된 T 세포를 1200g에서 1.5시간 동안 32°C에서 원심분리에 의해 렌티바이러스 저장액에 의해 형질도입하였다. 이어서, 형질도입 세포를 적합한 조건 하에 이식유전자 발현을 위한 세포 배양 인큐베이터에 옮겼다. T 세포는 로그 성장 패턴으로 나누어지기 시작하고, 이를 세포수(생세포/ml) 및 생존도(%)를 측정함으로써 모니터링하였다. T 세포 배양물을 2일마다 신선한 배지로 보충하였다. 대략 7 내지 9일 후에 T 세포가 휴지 상태로 되기 시작함에 따라, 이부 분석을 위해 채취 및 동결보존할 준비를 하였다.

[0578] 동결보존 전에, 형질도입된 세포의 백분율(T 세포 표면 상의 VHH 도메인(들) 또는 scFv 도메인을 발현시킴)를 유세포분석에 의해 결정하였다. T 세포를 LIVE/DEAD™ Fixable Dead Cell 염색 키트(Invitrogen, 카탈로그 번호L34976)로 염색하고, VHH-기반 CAR-T 세포를 염소 항-라마 IgG FITC 접합체(Bethyl, 카탈로그 번호A160-100F)로 염색하고 scFv-기반 CAR-T 세포(양성 대조군)를 30분 동안 4°C에서 FITC-표지 재조합 단백질 L(Acro, 카탈로그 번호RPL-PF141)로 염색한 후에, 3회 세척하고, Novocyte 유세포분석기(ACEA Biosciences) 상에서 FACS 분석을 위해 0.5% FBS와 함께 200 μ l의 DPBS에서 재현탁시켰다. Novoexpress 소프트웨어에 의해 FACS 데이터를 분석하였다.

[0579] 예시적인 단일-특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 생존도는 약 92% 내지 96%였고, CAR+는 약 10% 내지 43%였고, 세포확장 배수는 7일 배양에서 60 내지 80배 이내였다. 예시적인 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 생존도는 약 90% 내지 98%였고, CAR+는 약 5% 내지 21%였고, 세포확장 배수는 7일 배양에서 36 내지 86배 이내였다(도 5A 내지 도 5B). 데이터는 비형질도입 T 세포(UnT)와 비교할 때 증식 및 확장되는 T 세포의 능력에 대해 단일-/삼중특이성 VHH(들) CAR의 인간화의 검출가능한 부정적 효과가 없다는 것을 나타낸다.

[0580] 6.6. 실시예 6-시험관내 삼중특이성 인간화된 CAR을 발현시키는 면역 세포의 특성규명

[0581] 6.6.1. 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 세포독성 평가

[0582] 예시적인 삼중특이성 인간화된 VHH AIO CAR-T 세포(huAIO CAR-T 세포)에 대한 데이터를 도 6A 내지 도 6F 및 도 7A 내지 도 7F에 나타낸다. huAIO CAR-T 세포를 하나의 CAR 오픈 리딩 프레임을 암호화하는 렌티바이러스 벡터로 조작하고, 선별 및 최적화된 인간화된 항-CD19 VHH, 항-CD20 VHH 및 항-CD22 VHH 도메인으로 구성하였다. 인간화된 항-CD19 VHH, 항-CD20 VHH 및 항-CD22 VHH 도메인의 다중 조합물을 평가하고, 림프종 및 백혈병 종양 세포를 강력하게 사멸시키는 최적의 인간화된 AIO CAR-T 세포(huAIO CAR-T 세포)를 시험관내 세포독성 평가에 의해 확인하였다. 데이터는 huAIO CAR-T 세포의 일부가 CD19+CD20+CD22+ 항원 발현 림프종 세포 - Raji.Luc 및 CD19+CD20-CD22low 항원 발현 백혈병 세포 - Nalm.6.Luc에 대해 양성 대조군(단일-특이성 VHH CAR-T 세포 또는 단일-특이성 scFv CAR-T 세포)보다 우수한 항-종양 효력 및 상승 효과를 나타냈고, 용량-의존적 사멸 능력을 나타냈다는 것을 보여주었다(도 6A 내지 도 6F). 추가적으로, huAIO CAR-T 세포의 일부는 단일-항원 발현 세포주 - K562-CD19.Luc, K562-CD20.Luc 또는 K562-CD22.Luc에 대해 효력이 향상 또는 유지되었고, 종양 세포 용해를 유발하는 충분한 양의 단일 표적 항원을 확인하였다(도 7A 내지 도 7F). 삼중- 또는 이중-양성 항원 발현 세포에 대한 상승 효과 및 단일-항원 발현 세포에 대해 유지된 효력에 기반하여, 탠덤 인간화된 VHH 도메인 각각이 폴딩되고 T 세포 표면 상에서 발현되며, 상이한 에피토프에 결합되었고, 서로 차단하지 않았고, CD19, CD20 및 CD22 항원에 대한 결합을 방해하는 입체 장애 효과는 없다는 것이 나타났다.

[0583] 위의 관찰은 huAIO CAR이 세포 표적화에 대해 CD19, CD20 및/또는 CD22 항원(들)의 특이적 인식을 통해서 T 세포 활성화를 유도하고, T 세포 내인성 신호전달 경로를 활성화시키고, 세포독성 T 림프구(CTL)의 활성화를 유도하고, 상승적 항-종양 반응을 향상시킨다는 것을 나타낸다.

[0584] 6.6.2. 삼중특이성 인간화된 CAR-T 세포의 IFN- γ 방출 평가

[0585] CD19, CD20 및 CD22 항원 발현 세포에 반응한 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포에 의한 사이토카인 생산을 측정하기 위해, CAR-T 세포를 B 림프종 세포주 - Raji(ATCC #CCL-86)를 발현시키는 CD19⁺CD20⁺CD22⁺ 삼중-양성

항원 및 음성 세포주 - K562(ATCC #CCL-243)와 함께 5:1 또는 2.5:1의 E:T 비로 24시간 동안 공동 배양시켰고, 이후에 배지를 사이토카인 방출 정량화 및 인간 IFN- γ 키트(Cisbio, 카탈로그 번호62HIFNGPEG)를 이용하는 분석을 위해 채취하고, 각 웰(시험 항목당 3회)의 흡광도를 다중모드 마이크로플레이트 판독기(Tecan Spark)에 의해 판독하였다.

[0586] 데이터는 예시적인 huAIO CAR-T 세포가 Raji 세포와의 공동 배양물에서 양성 대조군 - CD19 scFv CAR-T 세포, CD20 scFv CAR-T 세포 또는 CD22 scFv CAR-T 세포보다 더 많은 IFN- γ 를 방출하였다는 것을 나타냈고, 이는 VHH의 인간화가 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 기능성에 부정적으로 영향을 미치지 않았다는 것을 나타낸다(도 8). 대조적으로, IFN- γ 방출은 UnT 대조군 또는 음성 대조군 세포주 - K562 중 하나와의 공동배양물에서 극도로 낮았고, 이는 huAIO CAR-T 세포의 CD19, CD20 및/또는 CD22 항원 특이성이 항원 발현 표적 세포에 대한 반응성이 필요하였다는 것을 나타낸다(도 8). IFN- γ 는 T 세포 효과기 기능에서 주된 역할을 하며, 대식세포의 중요한 활성화제 및 항원 제시 세포(APC) 상의 MHC-II 분자 발현의 유도물질이다.

[0587] 6.6.3.삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 IL-6 방출 평가

[0588] CRS(사이토카인 방출 증후군)는 CAR-T 세포 분비 IFN- γ 및 가능하게는 추가적인 사이토카인에 반응하여 주로 대식세포/단핵구로부터의 전염증 사이토카인의 많은 분비로 인해 일어난다. IL-6을 방출함으로써 단핵구가 CRS를 매개하는 주요 세포가 되는 것을 발견하였고, 따라서, 단핵구 공동 배양물에 의한 IL-6 방출을 평가하였다. 단핵구를 제조업자 프로토콜에 따라 CAR-T 세포 생산에 대해 동일한 건강한 공여자의 PBMC로부터의 CD14 MicroBeads(Miltenyi, 카탈로그 번호130-050-201)에 의해 분리하였다. huAIO CAR-T 세포를 단독으로 대조군으로서 파종하였고, huAIO CAR-T 세포를 10:1의 E:T 비로 Raji 세포와 함께 공동배양시키거나 또는 2:3의 E:M 비로 단핵구와 함께 공동배양시키거나, 또는 10:1:15의 E:T:M 비로 24시간 동안 Raji 세포 및 플러스 단핵구와 함께 공동배양시키고(시험 항목당 3회), 이후에 사이토카인 정량화 및 인간 IL-6 키트(Cisbio, 카탈로그 번호 62HIL06PEG)를 이용하는 분석을 위해 배지를 채취하였다.

[0589] CAR-T 세포의 공동배양물에서, Raji 세포 및 단핵구, huAIO CAR-T 세포는 양성 대조군 scFv CAR-T 세포가 한 것보다 약간 더 많은 IL-6 방출을 유도하였다. IL-6 방출은 huAIO CAR-T 세포 및 단핵구의 공동배양물에서 극도로 낮았는데, 이는 항원 특이적 자극 없이, huAIO CAR-T 세포 단독이 단핵구로부터 IL-6 방출을 유도하지 않았다는 것을 나타낸다(도 9).

[0590] 6.6.4.CD19 유전자 녹아웃된 Raji 세포(Raji19KO)에 대한 시험관내 삼중특이성 VHH CAR-T 세포 세포독성

[0591] 임상 연구는 CAR-T 요법의 실패 및 50% 초과 R/R NHL 및 ALL 재발이 항원 하향조절, 돌연변이, 아이소폼 스위치 및 트로고사이토시스(trogocytosis)를 포함하는 표적 B 세포 항원 탈출로 인한 것임을 입증하였다. 삼중특이성 VHH CAR-T 세포는 이중성 항원을 갖는 종양을 강력하게 저해할 수 있고, 충분한 양의 단일 표적 항원 발현에 의한 종양 용해를 유발할 수 있다. 삼중특이성 VHH CAR-T 세포가 항원 탈출에 대응할 수 있는지의 여부를 시험하기 위해, CD19 녹아웃(KO) Raji 림프종 클론(Raji19KO)에 대한 삼중특이성 VHH CAR-T 세포의 세포독성을 시험관내에서 평가하였다. 규칙적인 간격을 둔 짧은 회문구조 반복부(clustered regularly interspaced short palindromic repeat: CRISPR)-Cas9 유전자 편집을 통해 모 Raji.Luc(Raji-루시페라제)로부터 CD19 발현을 결여하는 Raji19KO 세포 클론을 생성하였다. FACS에 의한 표적 발현을 입증하기 위해 CD19, CD20 및 CD22(Biolegend, PE 항-인간 CD19, 카탈로그 번호302208, PE 항-인간 CD20, 카탈로그 번호302306 및 PE 항-인간 CD22, 카탈로그 번호302506)에 대한 항체 결합으로 Raji 및 Raji19KO 세포를 염색하였다(도 10A).

[0592] 시험 모델은 항원 탈출 때문에 나타날 수 있는 항원-음성 종양 세포 증식물을 자극한다. 인간 1차 T 세포에서의 렌티바이러스 형질도입에 의해 CAR-T 세포를 생성하였고, Raji 또는 Raji19KO 세포와 함께 10:1, 5:1 또는 2.5:1의 E:T 비로 24시간 동안 공동배양시켰다. ONE-Glo 루시페라제 검정(Promega, 카탈로그 번호 E6110)에 의한 생물발광에 의해 특이적 종양 용해를 측정하였다. Raji 및 Raji19KO에 대한 삼중특이성 VHH AIO CAR-T 세포의 예시적인 데이터를 도 10B 및 도 10C에 나타낸다. AIO CAR-T 세포는 CD19⁺CD20⁺CD22⁺ Raji19KO 세포와 공동 배양시켰을 때 종양 세포 용해의 높은 백분율을 나타냈고, 이는 모 CD19⁺CD20⁺CD22⁺ Raji 세포(ATCC #CCL-86)의 용해에 대한 규모와 비슷하였다. 대조적으로, Raji19KO 세포와 함께 공동배양시켰을 때 CD19 scFv CAR-T 세포에 대해 인식 가능한 종양 세포 용해는 관찰되지 않았다(도 10C). 또한, 모든 CD19 scFv CAR-T 세포, CD20 scFv CAR-T 세포 및 CD22 scFv CAR-T 세포는 모 CD19⁺CD20⁺CD22⁺ Raji 세포를 강력하게 사멸시켰고, CD20 scFv CAR-T 세포 및 CD22 scFv CAR-T 세포는 또한 CD19⁺CD20⁺CD22⁺ Raji19KO 세포를 강력하게 사멸시켰다(도 10B 및 도

10C).

[0593] 항원-발현 표적 세포에 반응하여 CAR-T 세포의 사이토카인 생성을 특성규명하기 위해, 24시간 동안 Raji 또는 Raji19KO와의 상공동배양으로부터 상청액을 채취하고, 인간 IFN- γ 키트(Cisbio, 카탈로그 번호62HIFNGPEG)로 분비된 IFN- γ 를 측정하였다. 예상한 바와 같이, UnT 세포에 의해 IFN- γ 는 생산되지 않거나 극도로 낮게 생산되었는데, 이는 CAR-의존적 사이토카인 분비를 입증한다. 삼중특이성 VHH AIO CAR-T 세포는 UnT 대조군에 비해서 Raji 또는 Raji19KO 중 하나에 반응하여 IFN- γ 를 유의미하게 유도하였고 표적 상의 활성화에서 CD19 scFv CAR-T 세포, CD20 scFv CAR-T 세포 또는 CD22 scFv CAR-T 세포에 비해서 가장 높은 수준의 IFN- γ 에서 유지되었고(도 10D 및 도 10E), 이는 항원 탈출 시, AIO CAR-T 세포가 이중성 항원 발현에 의해 종양을 여전히 강력하게 저해할 수 있고, 항원 탈출에 대응하고 항원-음성 종양 세포 증식을 허용하지 않는다는 것을 시사한다. 대조적으로, Raji19KO와 함께 CD19 scFv CAR-T 세포의 공동배양물에서, CD19 항원 발현의 결핍 및 CAR-의존적인 표적 상의 활성화 결여로 인해 IFN- γ 는 생산되지 않거나 극도로 낮게 생산되었다(도 10E). Raji19KO 세포와 함께 공동배양시킨 CD19 scFv CAR-T 세포의 세포독성과 사이토카인 생산은 둘 다 모노 CAR-T 세포가 종양 세포 표면 상에서의 표적 가능한 항원 결여로 인해 종양 탈출을 가능하게 한다는 것을 나타냈다.

[0594] CD25는 삼량체 IL-2 수용체의 알파체이며, 이는 TCR/CD3 복합체 자극의 24시간 이내에 상향조절되고 며칠 동안 상승된 채로 남아있다. 4연속일에 1:1의 E:T 비로 Raji 또는 Raji19KO와 함께 공동배양시킨 CAR-T 세포의 세포 활성화 수준을 평가하기 위해, CAR-T 세포 상의 후기 활성화 마커 - CD25를 마우스 APC 항-인간 CD25(Biolegend, 카탈로그 번호302610)로 염색하였고, LIVE/DEAD™ Fixable Dead 세포 염색 키트(Invitrogen, 카탈로그 번호 L34976) 및 염소 FITC 항-알파카 IgG(Jackson ImmunoResearch, 카탈로그 번호 128-095-230)와 함께 30분 동안 4℃에서 공동염색한 후에, 3회 세척하고, Novocyte 유세포분석기(ACEA Biosciences) 상의 FACS 분석을 위해 0.5% FBS와 함께 200 μ l의 DPBS에서 재현탁시켰다. Novoexpress 소프트웨어에 의해 FACS 데이터를 분석하였다. 삼중특이성 VHH AIO CAR-T 세포의 예시적인 데이터는 Raji 또는 Raji19KO 중 하나와 함께 공동배양시킬 때, AIO CAR-T 세포가 B 세포 표면 항원을 인식함으로써 강력하게 활성화되고, T 세포의 CD25+/CAR+는 증가되고 4일에 안정기(대략 99%)에 도달하였다는 것을 나타냈다. 한편으로, Raji 세포와 함께 공동배양시킨 CD19 scFv CAR-T 세포는 또한 강력하게 활성화되었고, T 세포의 CD25+/CAR+는 증가되었으며, 4일에 안정기(대략 99%)에 도달되었다. 대조적으로, CD19 항원 인식이 없을 때, CD19 scFv CAR-T 세포를 Raji19KO 세포와 함께 공동 배양시켰고, T 세포의 CD25+/CAR+는 24시간에 하락되었고, 제2일 내지 제4일에 60 내지 70%로 유지되었는데, 이는 T 세포의 TCR 인식 및 Raji19KO 세포의 세포 표면 MHC-II 분자에 의해 단독으로 매개될 가능성이 있었다(도 10F).

[0595] 6.7. 실시예 7-종양 이식 마우스에서 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 생체내 효능

[0596] 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포의 항-종양 활성을 Raji 이종이식 NCG 마우스 모델에서 생체내에서 평가하였고, CD19 scFv CAR-T 세포, CD20 scFv CAR-T 세포, CD22 scFv CAR-T 세포 및 비형질도입 T 세포(UnT)를 대조군으로서 평가하였다.

[0597] **세포주:** Raji(ATCC #CCL-86)는 Pulvertaft가 1963년에 11세 남성의 버킷 림프종으로부터 확립한 림프아구-유사 세포주이다. Raji 세포를 10% 소 태아 혈청을 함유하는 RMPI 배지에서 성장시켰다. 이 세포주는 조직 배양 플라스크에서 현탁액 중에서 성장시킨다. 이 세포주는 정맥내로 이식될 때 마우스에서 지속되고 확장된다. Raji 세포는 루시페라제를 발현시키도록 변형되었고, 따라서 종양 세포 성장은 마우스를 영상화함으로써 모니터링할 수 있었다. Raji 모델은 고수준의 CD19, CD20 및 CD22를 내인성으로 발현시키고, 따라서, CD19, CD20 및/또는 CD22-지시 조작된 AIO CAR-T 세포의 생체내 효능을 시험하기 위해 사용할 수 있다.

[0598] **마우스:** 유사한 체중(대략 20g)을 갖는 5 내지 6주령의 NCG(NOD-Prkdcem26Cd52Il2rgem26Cd22/Nju) 암컷 마우스를 난징 대학교의 동물 모델 연구 센터(Model Animal Research Center of Nanjing University)로부터 받았다. 실험 전 7일 동안 동물을 동물 시설에 적응시켰다. ACUC 규제 및 가이드라인에 따라 동물을 처리하였다.

[0599] 6.7.1. 삼중특이성 인간화된 VHH CAR-T 세포 생체내 효능 시험 및 결과

[0600] 종양 이종이식을 생성하기 위해, NCG 마우스에 Raji.Luc를 정맥내로 주사하였다. Raji.Luc 종양 세포 이식 4일 후에 마우스를 T 세포로 처리하였다. 마우스에 400 μ l의 T 세포로 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 주사하였다. 그룹당 6마리 마우스를 마우스당 0.3M CAR-T 세포의 용량으로 huAIO CAR-T 세포 또는 양성 대조군 - CD19 scFv CAR-T 세포, CD20 scFv CAR-T 세포 및 CD22 scFv CAR-T 세포로 처리하였고, 400 μ l의 HBSS 단독(비히클) 및 UnT 그룹을 비-표적화 T 세포 대조군으로서 사용하였다.

[0601] 체중 측정을 포함하는 동물 건강 상태를 주당 2회 모니터링하였다. 동물이 도 11A에서 중점을 달성할 때까지 생물발광 영상화(BLI)에 의해 매주 종양 성장을 모니터링하였다. 모든 처리군에 대한 평균 생물발광을 도 11B에 플롯팅한다. 임의의 T 세포를 받지 않은 HBSS 처리군(비히클)은 정맥내로 이식한 NCG 마우스에서 기준선 Raji 종양 성장 동력학을 입증하였다. 비-형질도입 T 세포를 받은 UnT 처리군을 huAIO CAR-T 세포에 대한 음성 대조군으로서 사용하였다. HBSS와 UnT 처리군은 둘 다 본 연구 내내 지속적인 공격성 종양 진행을 입증하였고, 제14일에 안락사시켰다(도 11A 내지 도 11B). 평균 생물발광 및 생물발광 영상으로부터 나타나는 바와 같이, 마우스당 0.3M CAR-T 세포 용량에서, 예시적인 huAIO CAR-T 세포(huAIO-133 CAR-T 세포, huAIO-467 CAR-T 세포, huAIO-180 CAR-T 세포 및 huAIO-227 CAR-T 세포)는 CD22 scFv CAR-T 세포보다 종양 저해에 유의미하게 더 효능이 있었고; huAIO-133 CAR-T 세포 및 huAIO-180 CAR-T 세포는 CD19 scFv CAR-T 세포보다 종양 저해에 유의미하게 더 효능이 있었고; huAIO-180 CAR-T 세포는 CD20 scFv CAR-T 세포보다 종양 저해에 유의미하게 더 효능이 있었다. huAIO-180 CAR-T 세포 처리군에서 마우스 중 하나는 복강까지의 종양 이동을 나타냈고, 이를 중점에서 안락사시켰다(도 11A 내지 도 11B). 또한, 대부분의 건강 상태는 정상이었고, 체중은 huAIO CAR-T 세포로 처리한 무종양 마우스에서 안정적이었다(도 11C). huAIO CAR-T 세포 및 음성/양성 대조군 처리 마우스의 생존 곡선을 도 11D에 나타낸다. 요약하면, 삼중특이성 VHH huAIO CAR-T 세포는 단일-특이성 CAR-T 세포에 비해 유의미하게 향상된 질환 제어를 입증하였고, 연장된 건강한 생존으로 직접 번역된다.

[0602] 6.8. 실시예 8 - 시험관내 삼중특이성 낙타과 VHH-huIgG1Fc mAb(AIO-huIgG1Fc mAb) 및 삼중특이성 인간화된 VHH-huIgG1Fc mAb(huAIO-huIgG1Fc mAb) 세포 표면 결합의 특성규명

[0603] 6.8.1. Raji 세포 및 EC₅₀에 대한 AIO-huIgG1Fc mAb 및 huAIO-huIgG1Fc mAb 표적 상 결합

[0604] 삼중특이성 낙타과 VHH 및 삼중특이성 인간화된 VHH 작제물은 표 9 및 표 12에 나타낸 바와 같은 대응하는 CAR의 세포와 항원 결합 도메인이다. 인간 IgG1Fc 단편 서열(서열번호 169)과 함께 삼중특이성 낙타과 VHH 서열 또는 삼중특이성 인간화된 VHH 서열을 포유류 발현 벡터 - pcDNA3.4에 클로닝하여, 재조합 단백질 발현을 용이하게 하였다. 포유류 숙주 세포 - Expi293F에서 최적의 발현을 위해 DNA 코돈을 추가로 최적화하였다. 세포 배양물의 상청액으로부터 항체를 채취하고, MabSelect SuRe LX에 의해 1단계 정제하고, 0.2 μ m 필터를 통해 멸균시켰다. A280에 의해 정제된 항체 농도를 결정하고, 80% 내지 95% 순도로 0.23 내지 1.88mg/ml 내에 도달되었다. 항-CD20 Fab-huIgG1Fc mAb 중 둘(리툽시맵 Fab-huIgG1Fc mAb 및 Leu16 Fab-huIgG1Fc mAb(서열번호 170 내지 173 참조))를 양성 대조군으로서 사용하고, huIgG1Fc 아이소타입 대조군 mAb(Genscript, 카탈로그 번호 C2867DL280-2)를 세포 표면 결합 검정을 위한 음성 대조군으로서 사용하였다. CD19⁺CD20⁺CD22⁺ 삼중-양성 항원 발현 B 림프종 세포 - Raji(ATCC #CCL-86)를 완전 배양 배지에서 재현탁시키고, 세포 농축물을 1 $\times$ 10⁶개의 세포/ml로 희석시키고, 웰당 2 $\times$ 10⁵개의 세포로 염색을 수행하였다. 최대 농도로부터 mAb를 연속 희석시켰고(3배 감소), 실험 계획 및 프로토콜에 따라 세포에 첨가하였다. mAb 및 Raji 세포를 1시간 동안 4 $^{\circ}$ C에서 공동배양시켰고, 이어서, 세포를 0.5% FBS와 함께 200 μ l의 DPBS로 2회 세척하고 300g에서 5분 동안 4 $^{\circ}$ C에서 교반하였다. 세포를 검출 항체 - PE-접합 마우스 항-인간 IgG1Fc(BioLegend, 카탈로그 번호 409304, 1:100)로 40분 동안 4 $^{\circ}$ C에서 염색하였다. 이어서, 세포를 2회 세척하고, Novocyte 유세포분석기(ACEA Biosciences) 상의 유세포분석을 위해 0.5% FBS와 함께 200 μ l의 DPBS로 재현탁시켰다. FACS 데이터를 Novoexpress 소프트웨어에 의해 분석하고, MFI(중량값 형광 강도)를 GraphPad PRISM 버전 6.0에 의해 분석하였다. 세포 표면 결합 데이터는 예시적인 삼중특이성 낙타과 VHH-huIgG1Fc mAb(AIO-huIgG1Fc mAbs) 및 삼중특이성 인간화된 VHH-huIgG1Fc mAb(huAIO-huIgG1Fc mAb)가 용량 의존적 방식으로 Raji 세포에 특이적으로 결합되었다는 것을 나타내고, 결합의 EC₅₀을 열거하였다(도 12A 내지 도 12C).

[0605] 6.8.2. huAIO-huIgG1Fc mAb 비표적(Off-target) 결합 평가

[0606] 비표적 결합을 입증하기 위해, 다양한 인간 세포주로 huAIO-huIgG1Fc mAb를 평가하였다. 예시적인 시험 세포주를 표 13에 열거한다. mAb를 1시간 동안 4 $^{\circ}$ C에서 웰당 1 $\times$ 10⁵개의 세포와 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 200 μ l의 DPBS 및 0.5% FBS로 세척하고 300g에서 5분 동안 4 $^{\circ}$ C에서 교반하였다. 세포를 검출 항체 - PE-접합 마우스 항-인간 IgG1Fc(BioLegend, 카탈로그 번호 409304, 1:100)로 30분 동안 4 $^{\circ}$ C에서 염색하였다. 이어서, 세포를 다시 세척하고, Novocyte 유세포분석기(ACEA Biosciences) 상의 유세포분석을 위해 200 μ l의 DPBS + 0.5% FBS로 재현탁시키고, FACS 히스토그램 데이터를 Novoexpress 소프트웨어로 분석하였다. 예시적인 huAIO-huIgG1Fc mAb에 대해, Raji 세포에 대한 EC50 결합을 수득하는 농도에서 비표적 세포에 대한 비특이적 결합은 관찰되지 않았

다(표 13).

표 13

표적상 세포주/비표적 세포주에 대한 huAIO-huIgG1Fc mAb 결합

암 세포주	원발성 부위	ATCC ID	수용체 발현 수준(FACS)			표적상 세포주/비표적 세포주에 대한 결합		
			CD19	CD20	CD22	huAIO-133-huIgG1Fc mAb	huAIO-467-huIgG1Fc mAb	huAIO-180-huIgG1Fc mAb
Raji	림프구	CCL-86	+	+	+	+	+	+
Daudi	림프구	CCL-213	+	+	+	+	+	+
Nalm.6	림프구	CRL-3273	+	-	+	+	+	+
RPMI-8226	림프구	CCL-155	-	매우 낮음	-	매우 약함	매우 약함	매우 약함
Jurkat	림프구	TIB-152	-	-	-	-	-	-
K562	골수	CCL-243	-	-	-	매우 약함	매우 약함	매우 약함
HL-60	말초 혈액	CCL-240	-	-	-	-	-	-
THP-1	말초 혈액	TIB-85	-	-	-	-	-	-
U87-MG	뇌/뉴런	HTB-14	-	-	-	-	-	-
IMR-32	뇌/뉴런	CCL-127	-	-	-	-	-	-
FaDu	인두	HTB-43	-	-	-	-	매우 약함	-
A-253	침샘	HTB-41	-	-	-	-	-	-
SK-BR-3	유방	HTB-30	-	-	-	-	-	-
A549	폐	CCL-185	-	-	-	-	-	-
NCI-H446	폐	HTB-171	-	-	-	-	-	-
HepG2	간	HB-8065	-	-	-	-	-	-
NCI-N87	위	CRL-5822	-	-	-	-	-	-
HEK-293T	신장	TaKaRa (632180)	-	-	-	-	매우 약함	-
PANC-1	췌장	CRL-1469	-	-	-	-	-	-
HCT 116	결장직장	CCL-247	-	-	-	-	-	-
SK-OV-3	난소	HTB-77	-	-	-	-	-	-
Hela	자궁경부	CCL-2	-	-	-	-	매우 약함	-
BeWo	태반	CCL-98	-	-	-	-	-	-
A375	피부	CRL-1619	-	-	-	-	-	-
U-2 OS	뼈	HTB-96	-	-	-	-	-	-
HUVEC-C	혈관 내피	CRL-1730	-	-	-	-	-	-

[0607]

[0608]

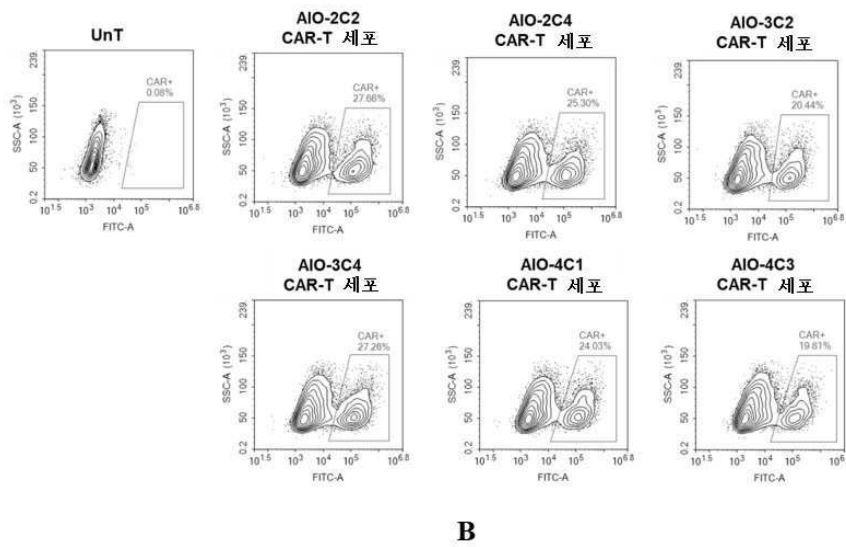
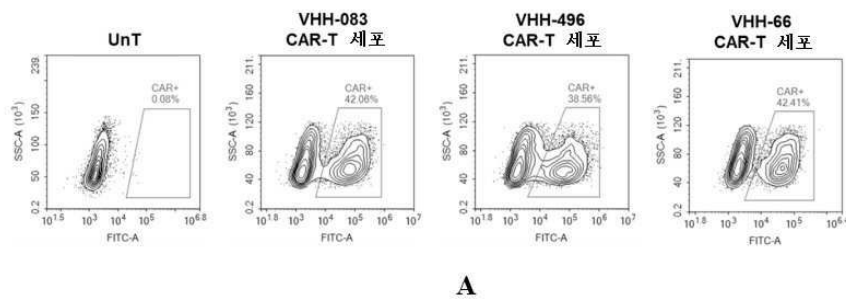
본 명세서에 인용된 모든 특허, 공개된 출원 및 참고문헌의 교시는 이들의 전문이 참조에 의해 원용된다. 예시적 실시형태를 구체적으로 나타내고 기재하였지만, 당업자라면 첨부하는 청구범위에 의해 포함되는 실시형태의 범주로부터 벗어나는 일 없이 형태 및 상세한 설명의 다양한 변화가 이루어질 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0609]

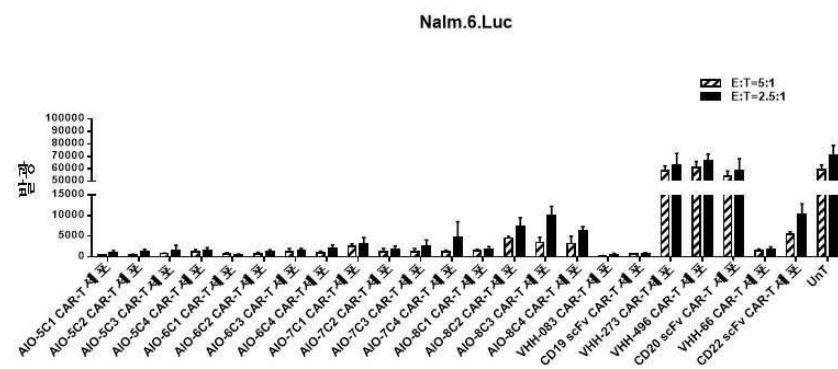
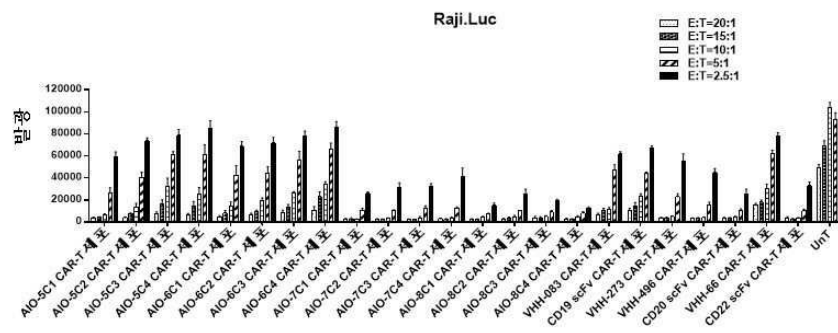
앞서 언급한 것으로부터, 본 발명의 목적을 위해 구체적 실시형태가 기재되었지만, 본 명세서에 제공된 것의 사실과 범주로부터 벗어나는 일 없이 다양한 변형이 이루어질 수 있다는 것을 인식할 것이다. 위에 언급한 모든 참고문헌은 본 명세서에 이들의 전문이 참조에 의해 원용된다.

도면

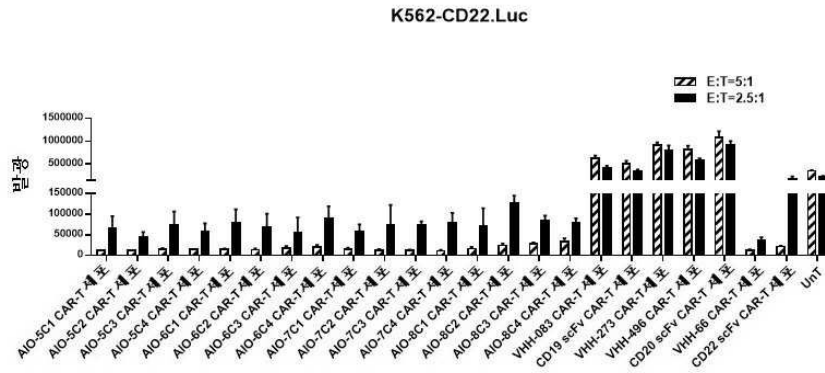
도면1



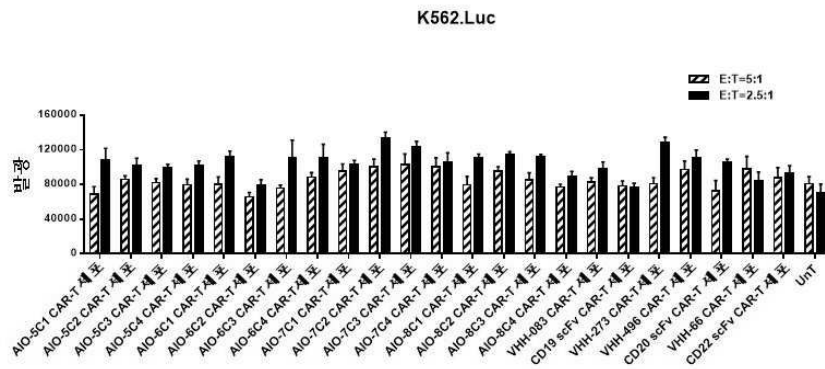
도면2ab



도면2ef

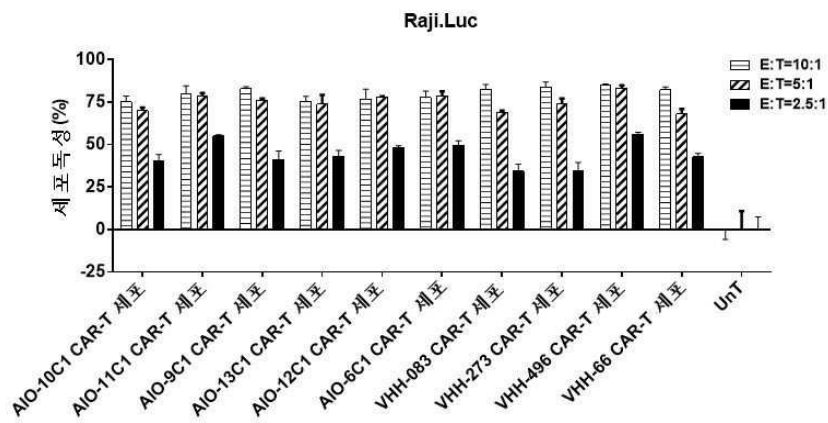


E

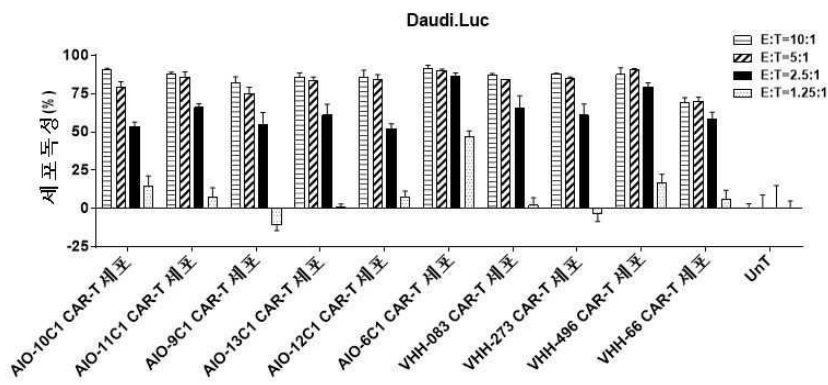


F

도면2gh

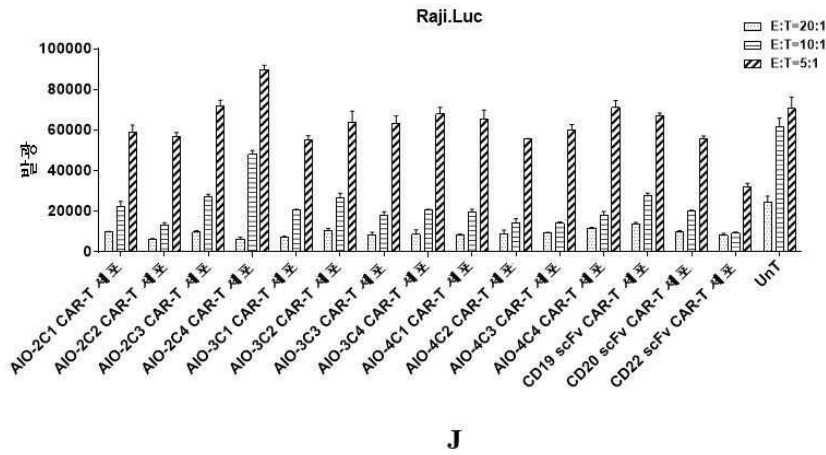
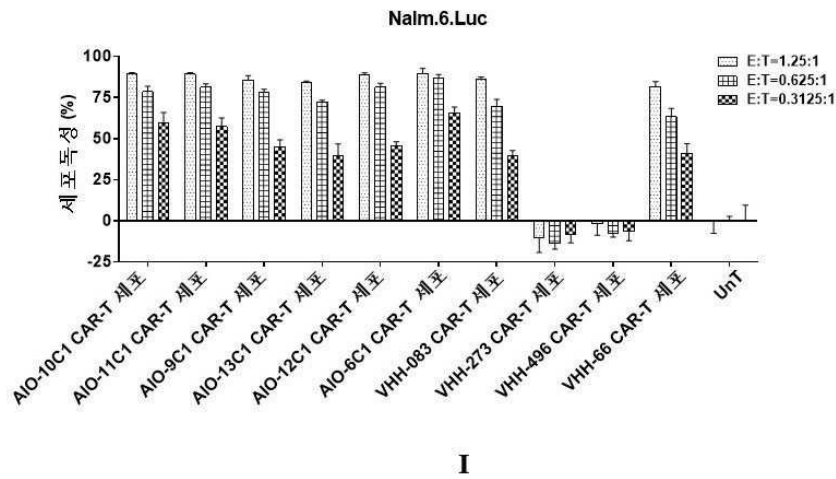


G

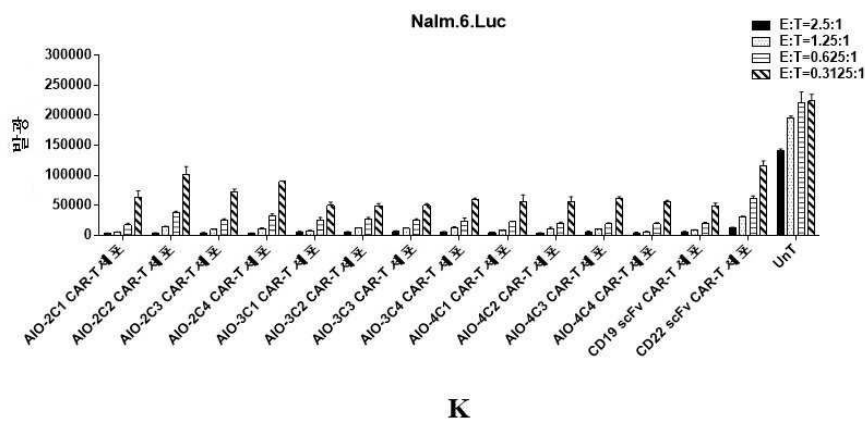


H

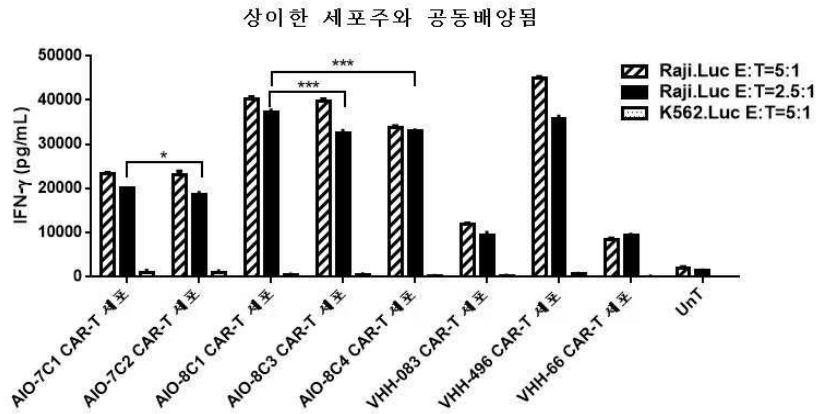
도면2ij



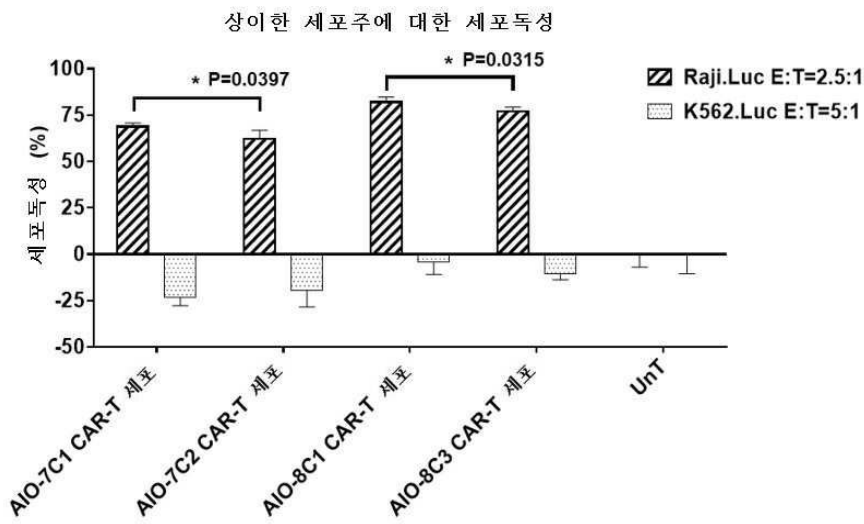
도면2k



도면3

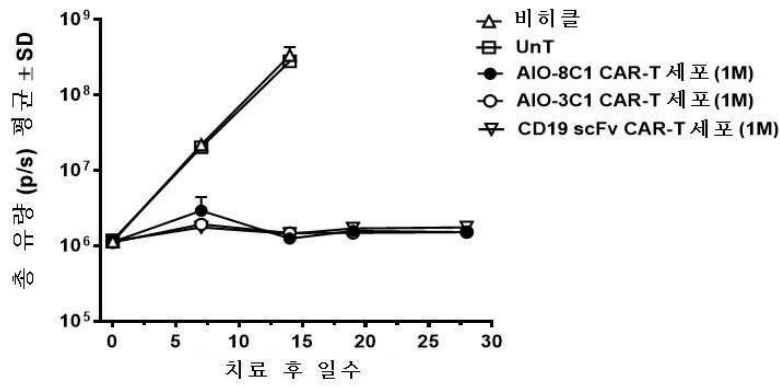


A

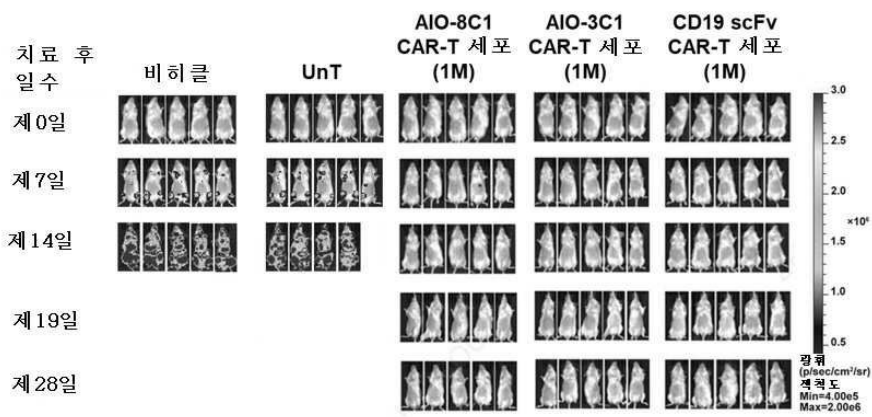


B

도면4ab

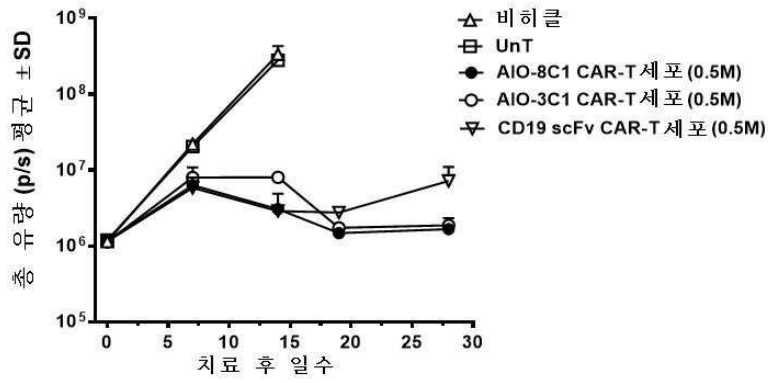


A

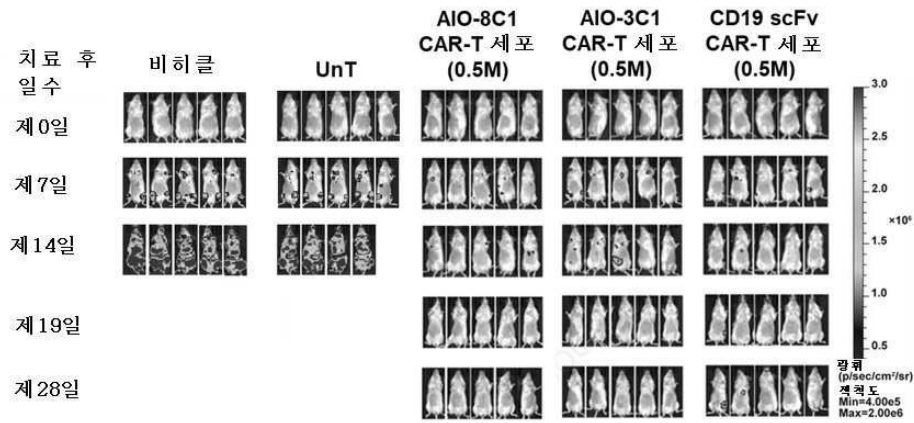


B

도면4cd

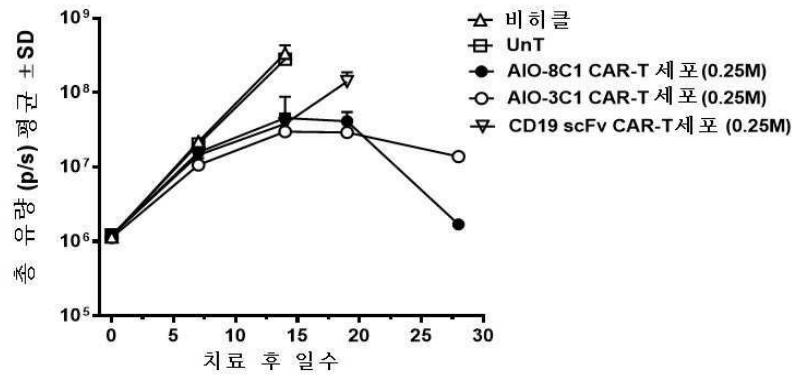


C

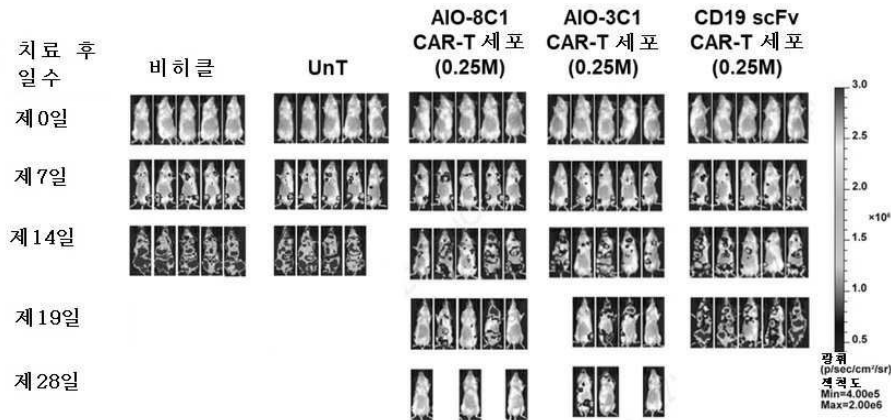


D

도면4ef

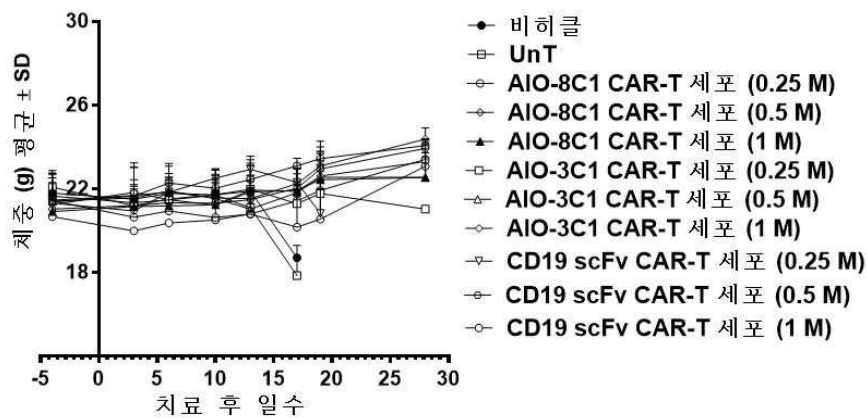


E



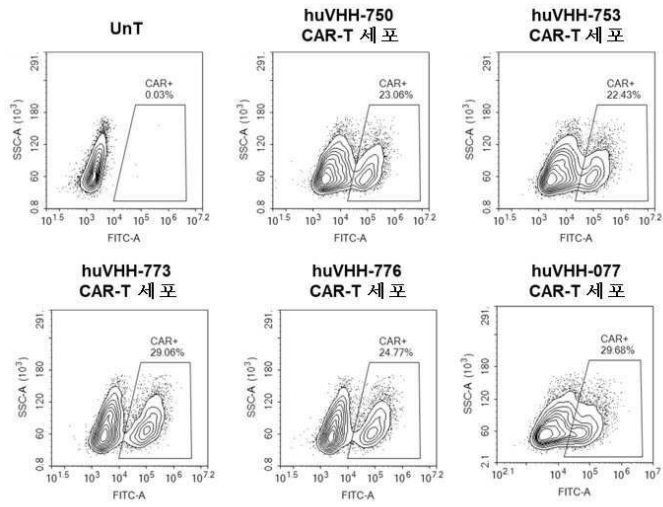
F

도면4g

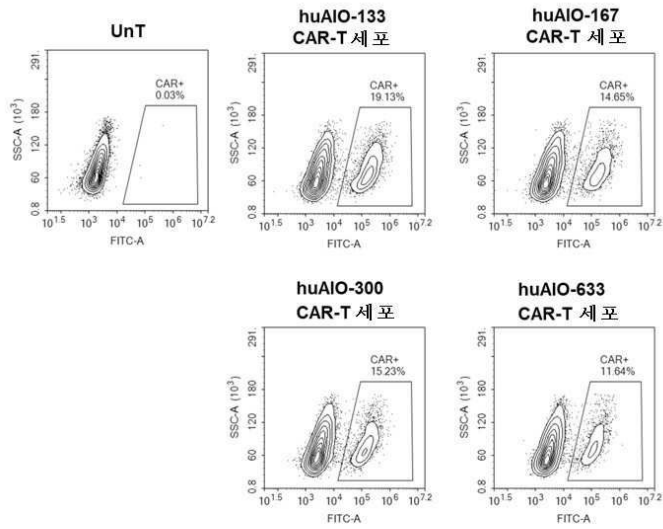


G

도면5

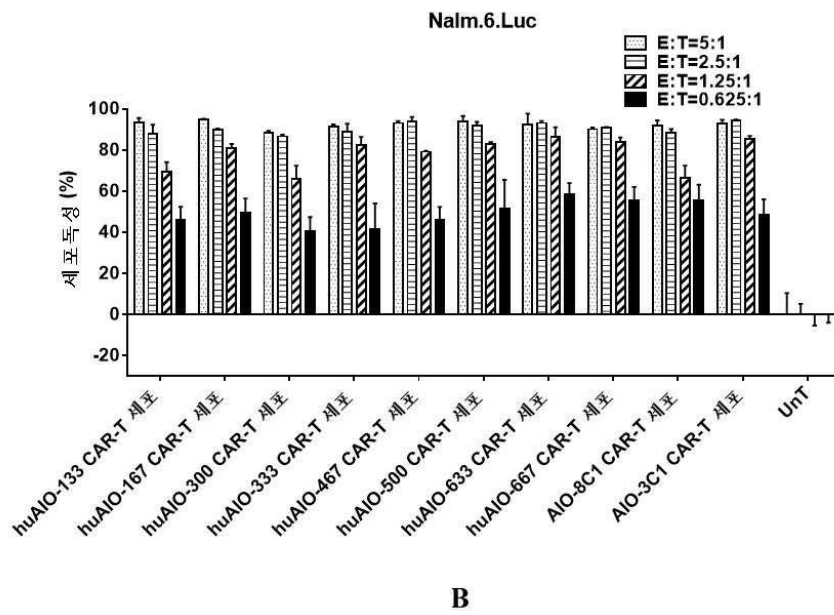
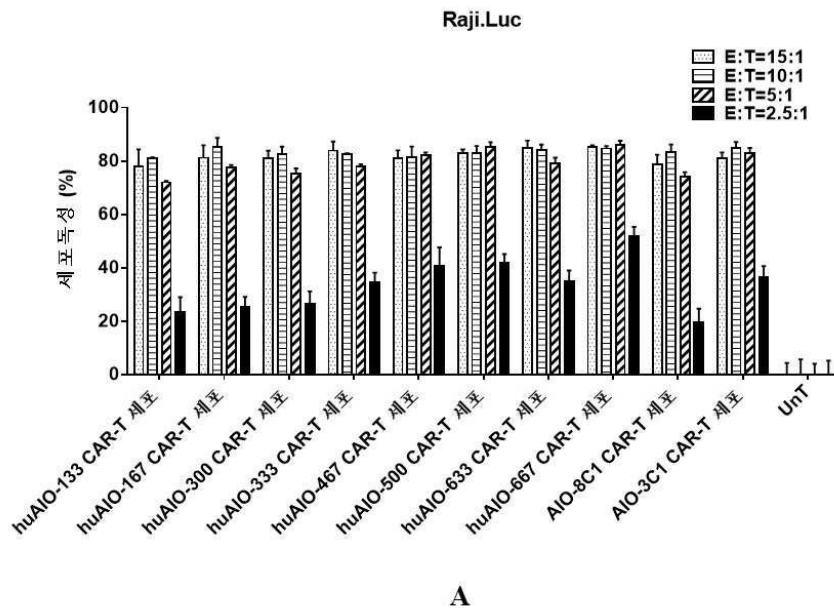


A

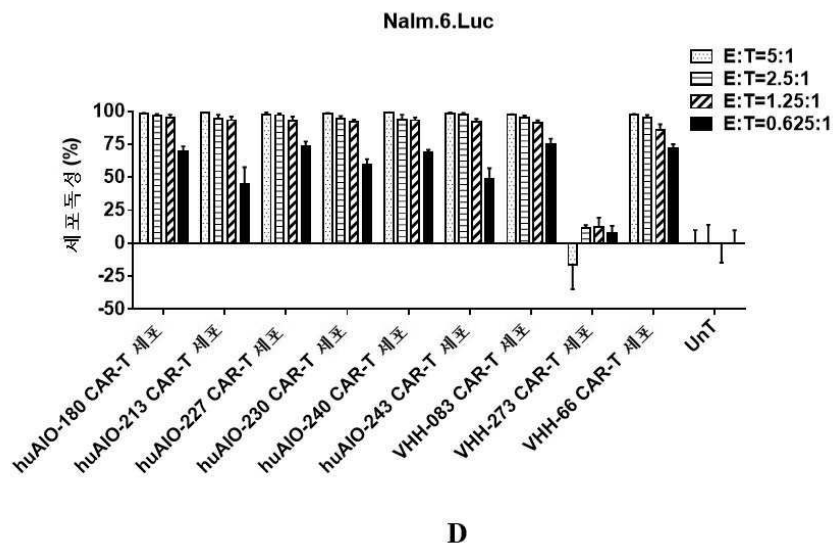
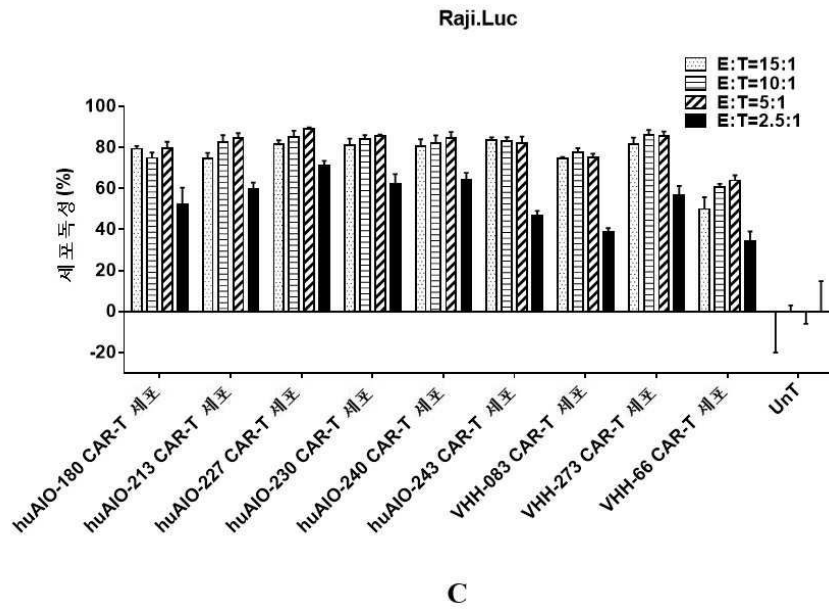


B

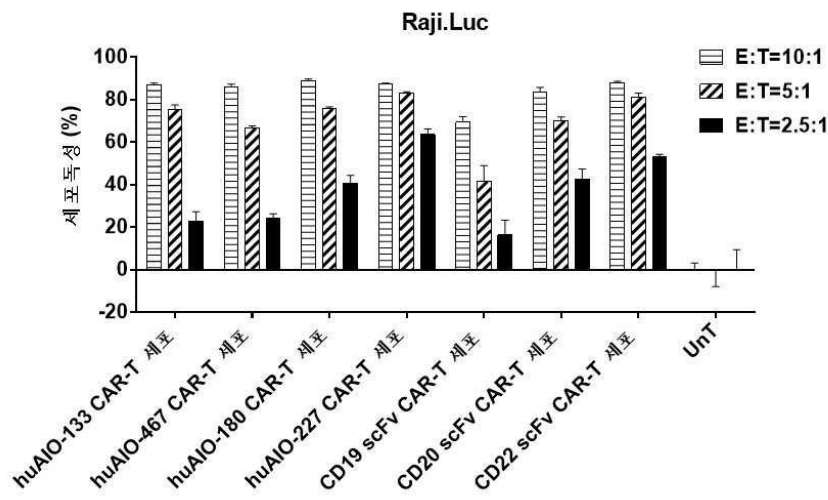
도면6ab



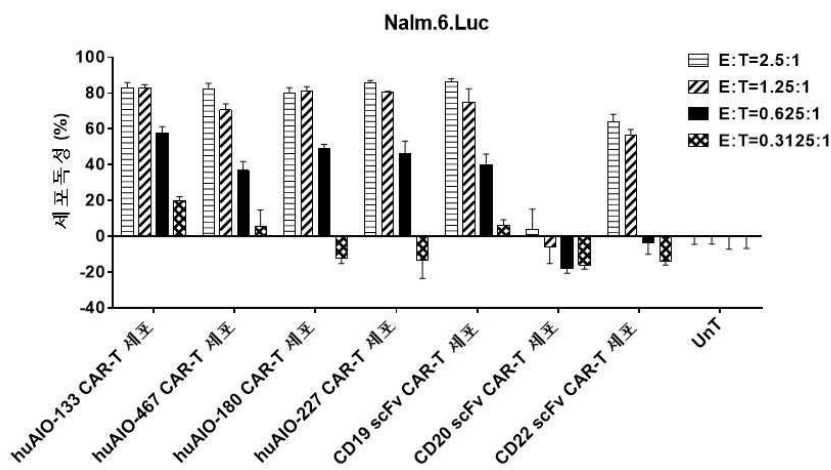
도면6cd



도면6ef

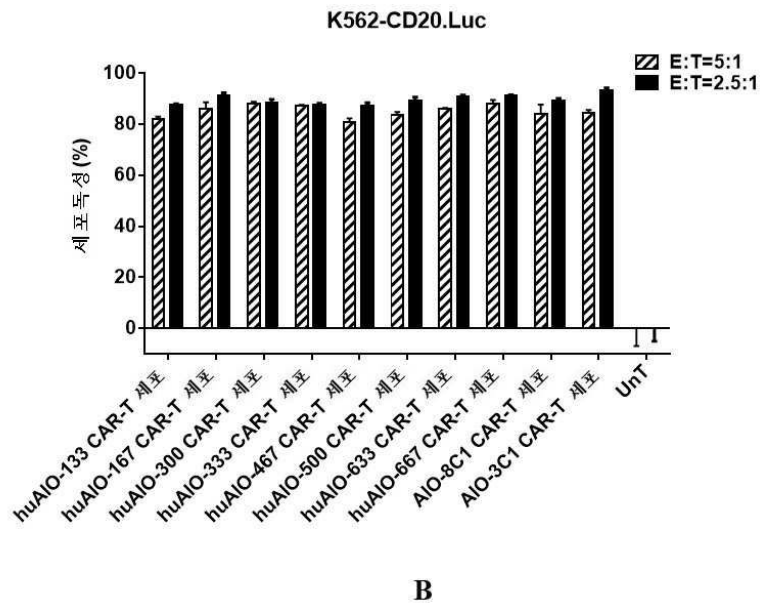
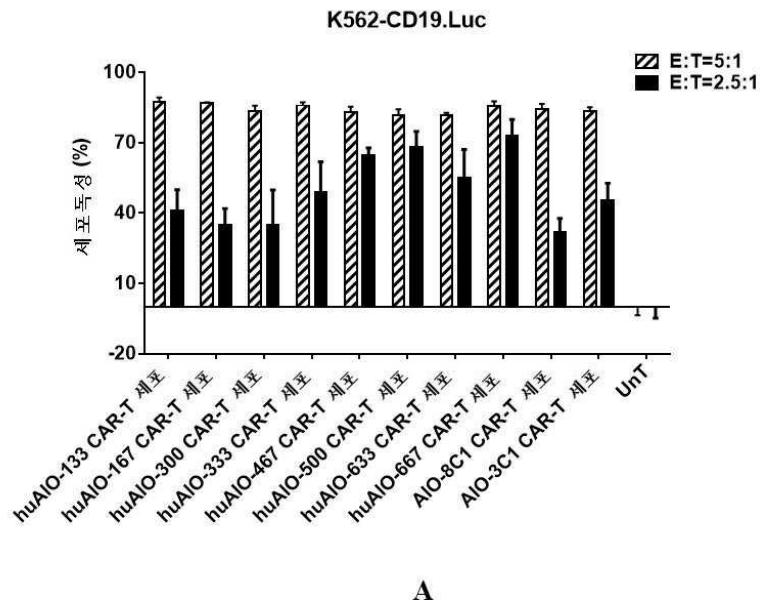


E

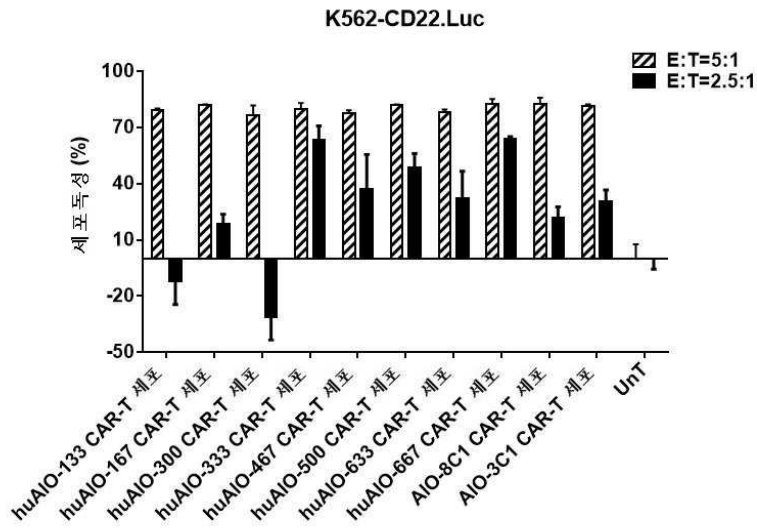


F

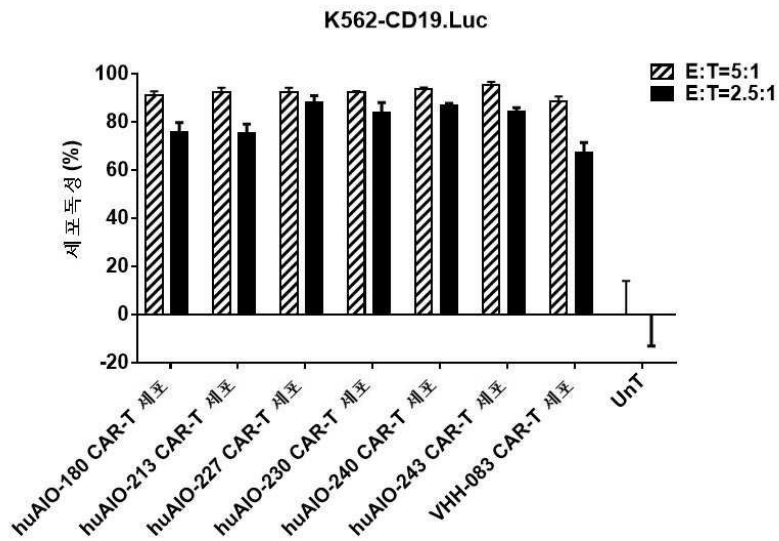
도면7ab



도면7cd

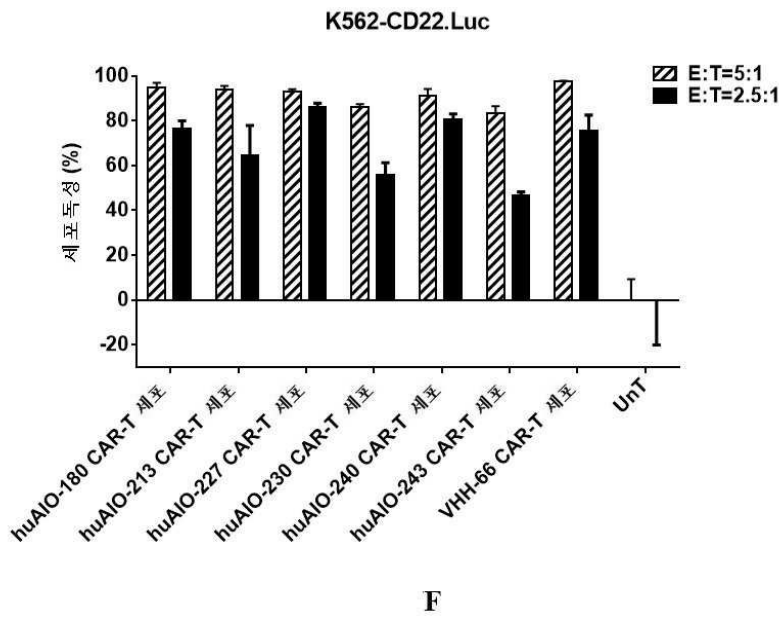
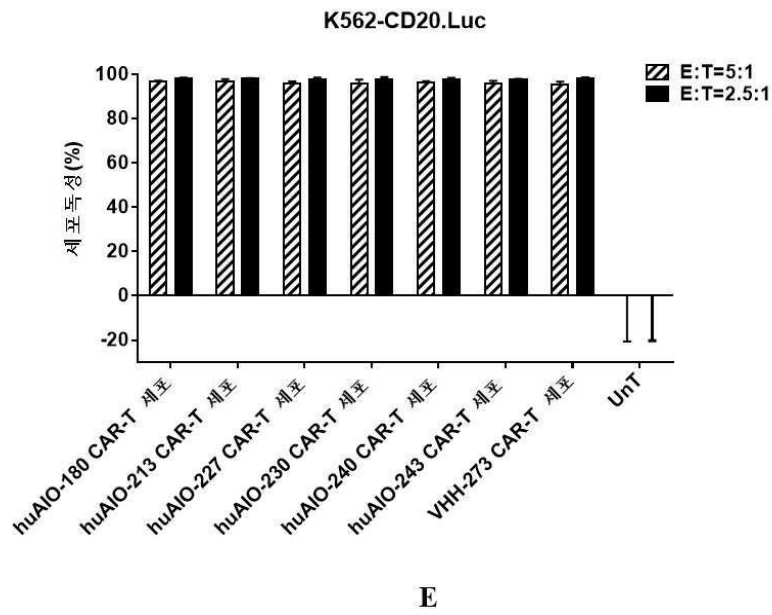


C

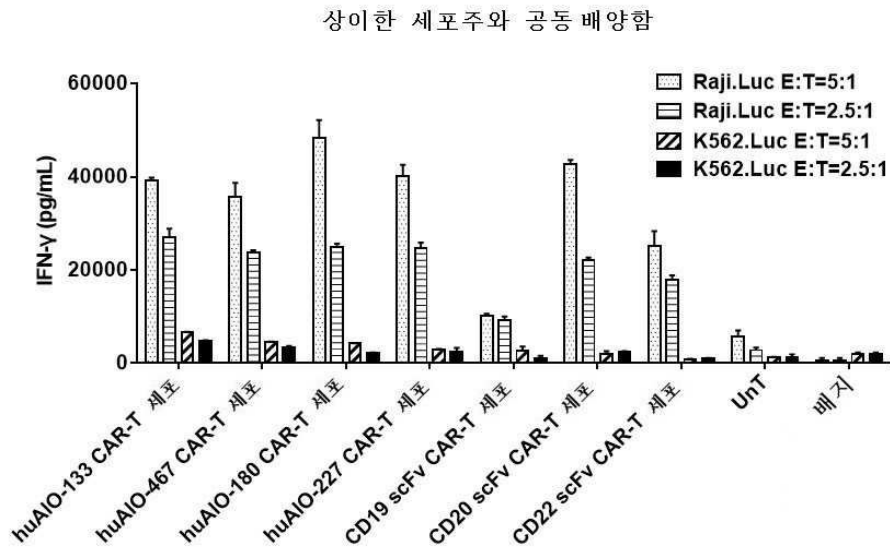


D

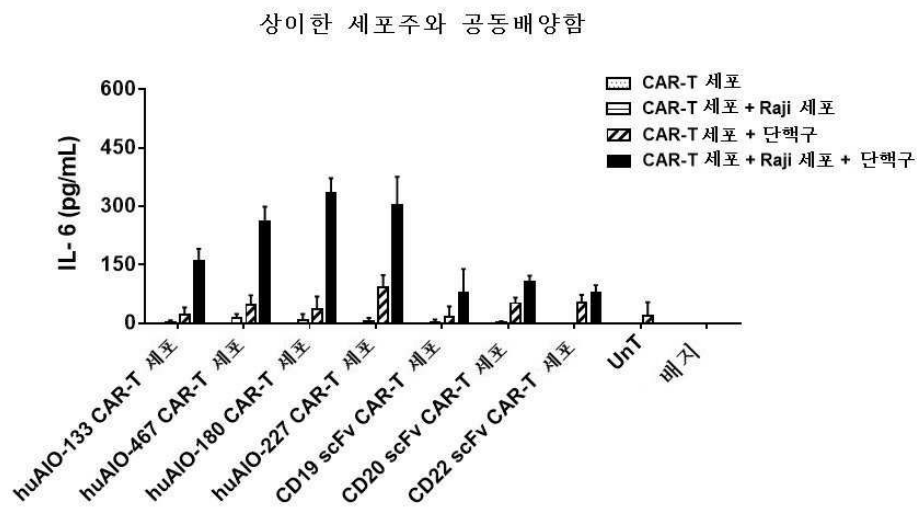
도면7ef



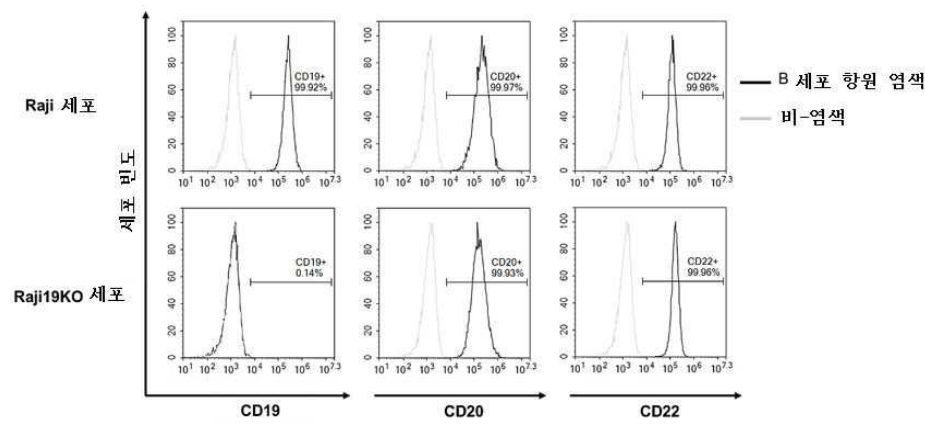
도면8



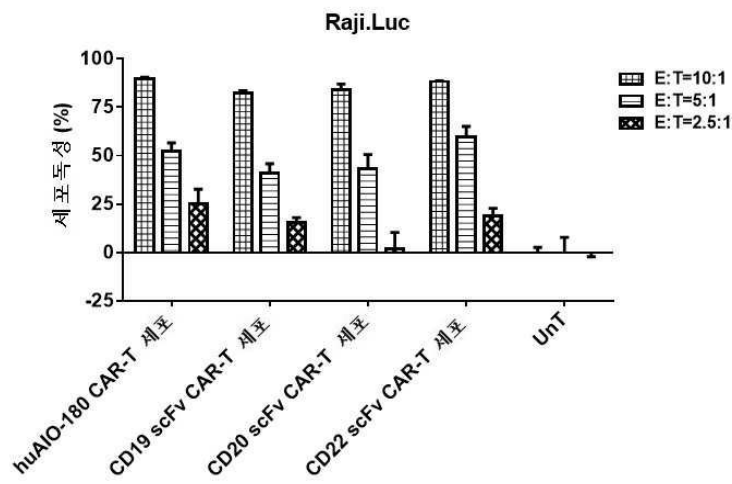
도면9



도면10ab

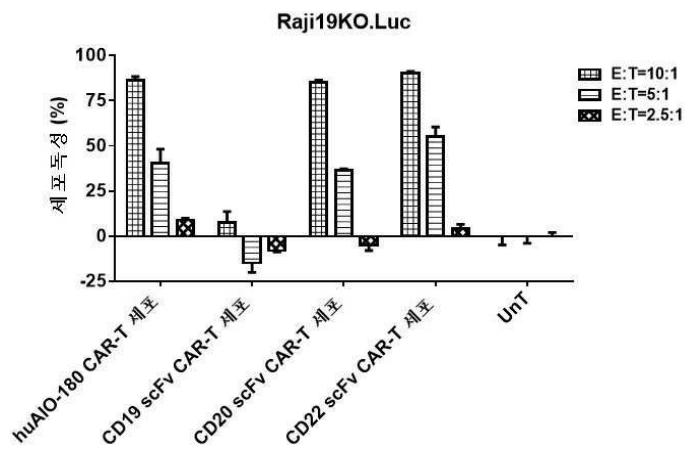


A

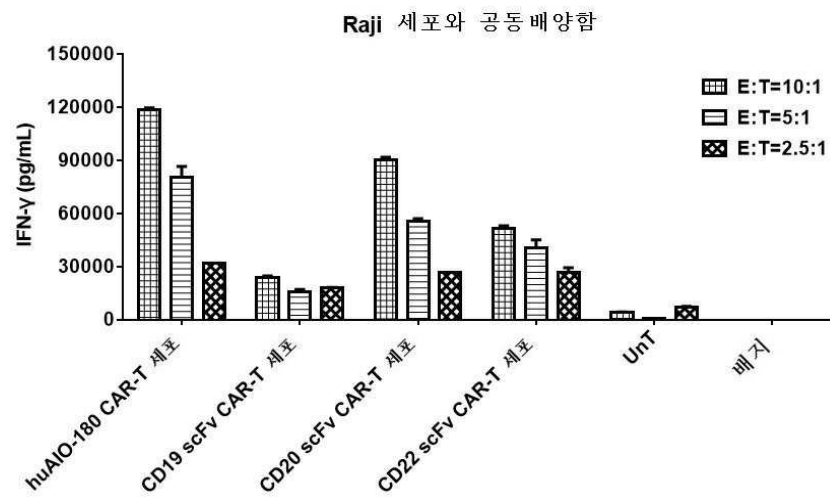


B

도면10cd

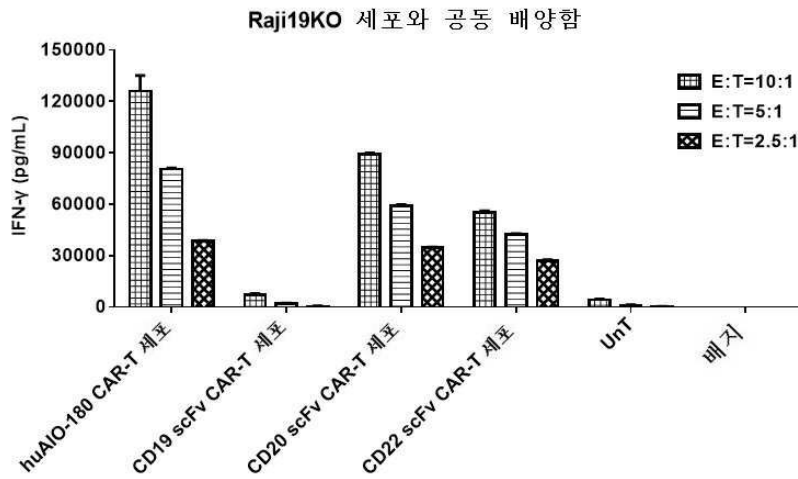


C

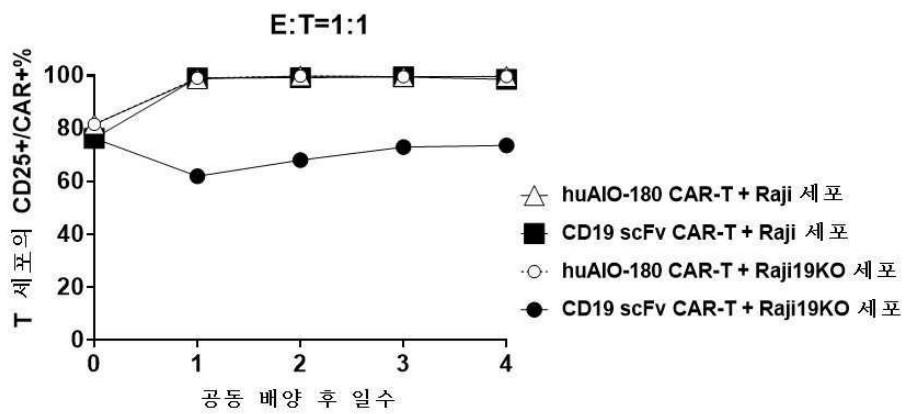


D

도면10ef

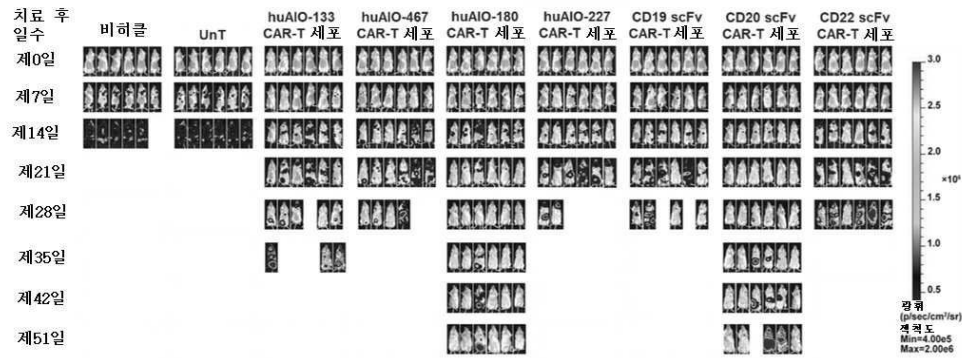


E

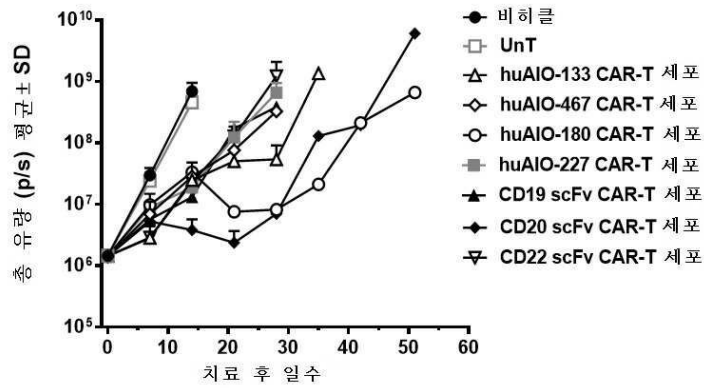


F

도면11ab

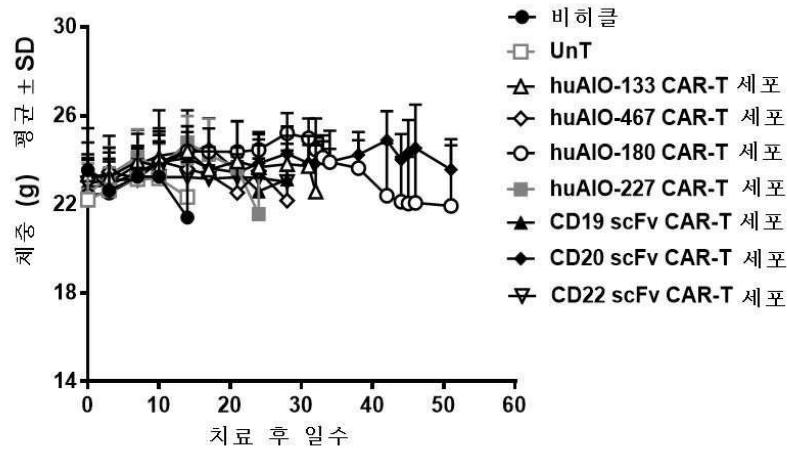


A

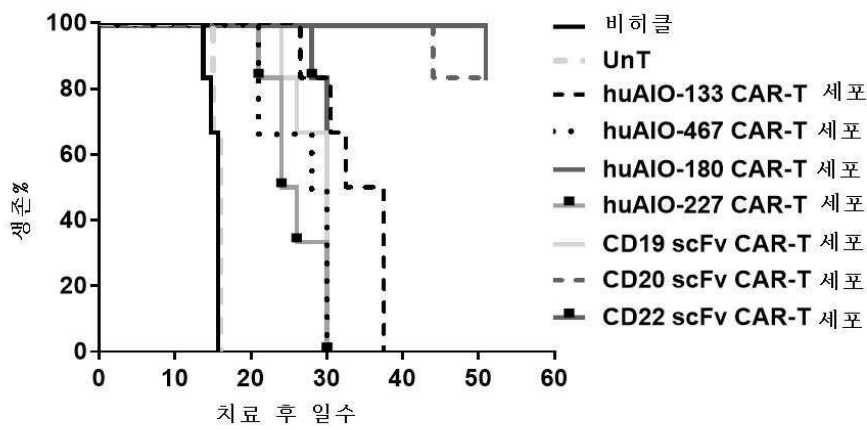


B

도면11cd

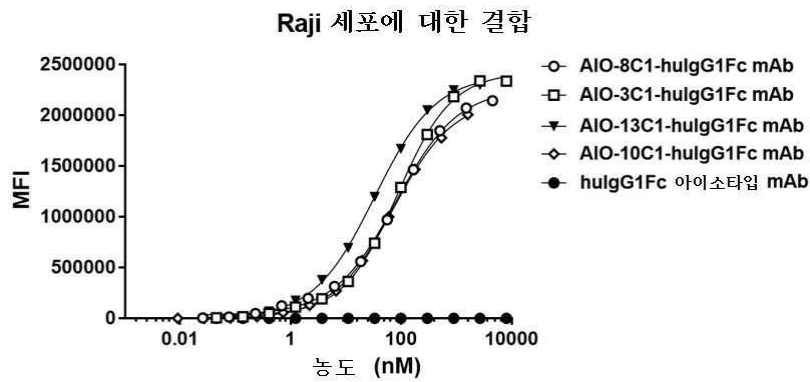


C



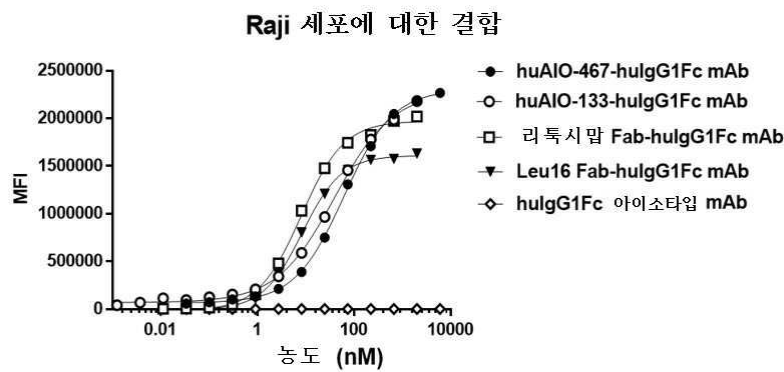
D

도면 12ab



mAb	AIO-8C1-hulgG1Fc mAb	AIO-3C1-hulgG1Fc mAb	AIO-13C1-hulgG1Fc mAb	AIO-10C1-hulgG1Fc mAb
EC50 (nM)	79.6	85.9	32.9	71.9

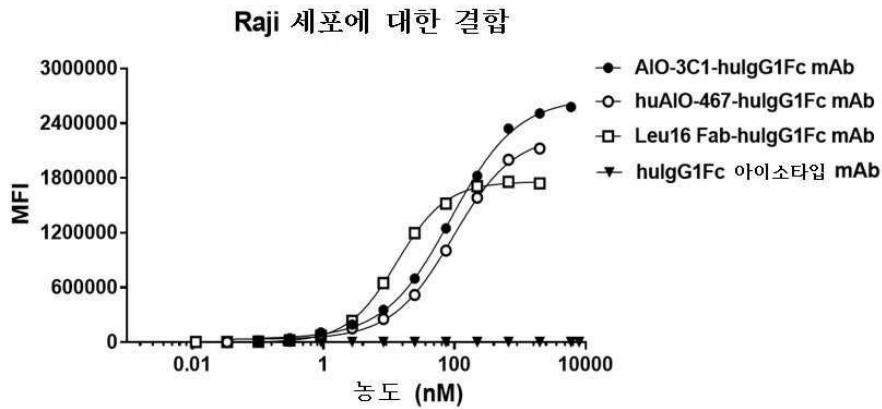
A



mAb	huAIO-467-hulgG1Fc mAb	huAIO-133-hulgG1Fc mAb	리톡시맵 Fab-hulgG1Fc mAb	Leu16 Fab-hulgG1Fc mAb
EC50 (nM)	62	40.1	8.1	8.5

B

도면12c



mAb	AIO-3C1-hulgG1Fc mAb	huAIO-467-hulgG1Fc mAb	Leu16 Fab-hulgG1Fc mAb
EC50 (nM)	88.21	94.52	13.22

C

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> NANJING LEGEND BIOTECH CO., LTD.

<120> MULTISPECIFIC CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS AND USES THEREOF

<130> WO/2022/012681

<140> PCT/CN2021/106889

<141> 2021-07-16

<150> PCT/CN2020/102470

<151> 2020-07-16

<160> 323

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat) of VHH-273, VHH-283, huVHH-253, huVHH-256

<400> 1

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly

1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-273, huVHH-256

<400> 2

Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (Kabat) of VHH-273, huVHH-253, huVHH-256

<400> 3

Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Gly Asp Tyr

1 5 10

<210>

4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (IMGT) of VHH-273, VHH-283, huVHH-253, huVHH-256

<400> 4

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn

1 5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-273

<400> 5

Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro

1 5

<210> 6

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDR3 (IMGT) of VHH-273, huVHH-253, huVHH-256

<400> 6
 Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Gly Asp Tyr
 1 5 10

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-283

<400> 7

Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Ser Ser Val Arg
 1 5 10 15
 Gly

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (Kabat) of VHH-283, VHH-313, and huVHH-260

<400> 8

Pro Ile Glu Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Ala Asp Tyr
 1 5 10

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-283, VHH-313, and huVHH-260

<400> 9

Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 1 5

<210> 10
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDR3 (IMGT) of VHH-283, VHH-313, and huVHH-260
 <400> 10
 Ala Ala Pro Ile Glu Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Ala Asp Tyr

1 5 10
 <210> 11
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDR1 (Kabat) of VHH-313 and huVHH-260
 <400> 11
 Gly Arg Thr Ile Ser Ser Tyr Ser Met Gly

1 5 10
 <210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-313 and huVHH-260
 <400> 12
 Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15
 Gly

<210> 13
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDR1 (IMGT) of VHH-313 and huVHH-260
 <400> 13
 Gly Arg Thr Ile Ser Ser Tyr Ser

1 5

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat) of VHH-440 and VHH-653

<400> 14

Ala Tyr Ile Arg Val Phe Tyr Leu Met Gly

1 5 10

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-440

<400> 15

Arg Val Thr Ala Asp Gly Phe Thr Asn His Ala Ala Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (Kabat) of VHH-440, VHH-466, VHH-653, huVHH-836, huVHH-840, huVHH-843, and huVHH-846

<400> 16

Gly Arg Thr Trp Asn Ser Gly Phe Glu Tyr

1 5 10

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (IMGT) of VHH-440 and VHH-653

<400> 17

Ala Tyr Ile Arg Val Phe Tyr Leu

1 5

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-440

<400> 18

Val Thr Ala Asp Gly Phe Thr

1 5

<210> 19

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (IMGT) of VHH-440, VHH-466, VHH-653, huVHH-836, huVHH-840, huVHH-843, and huVHH-846

<400> 19

Ala Ala Gly Arg Thr Trp Asn Ser Gly Phe Glu Tyr

1 5 10

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat) of VHH-466, huVHH-836, huVHH-840, huVHH-843, and huVHH-846

<400> 20

Ala Asp Ile Arg Leu Phe Tyr Leu Met Gly

1 5 10

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-466

<400> 21

Arg Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile Asn Tyr Val Ala Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (IMGT) of VHH-466, huVHH-836, huVHH-840, huVHH-843, and
huVHH-846

<400> 22

Ala Asp Ile Arg Leu Phe Tyr Leu

1 5

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-466, huVHH-840, and huVHH-843, huVHH-846

<400> 23

Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile

1 5

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> CDR1 (Kabat) of VHH-496, huVHH-746, and huVHH-750, huVHH-753

<400> 24

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr

1 5 10

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-496, huVHH-746, huVHH-750, and huVHH-753

<400> 25

Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (Kabat) of VHH-496, huVHH-746, huVHH-750, and huVHH-753

<400> 26

Trp Asp Arg Thr Leu

1 5

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (IMGT) of VHH-496, huVHH-746, huVHH-750, and huVHH-753

<400> 27

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro

1 5

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-496, huVHH-746, huVHH-750, and huVHH-753

<400> 28

Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro

1 5

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (IMGT) of VHH-496, huVHH-746, huVHH-750, and huVHH-753

<400> 29

Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu

1 5

<210> 30

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-653

<400> 30

Arg Val Asn Ala Asp Gly Ile Thr Asn His Ala Ala Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 31

<211>

7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-653

<400> 31

Val Asn Ala Asp Gly Ile Thr

1 5

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of huVHH-253

<400> 32

Ala Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of huVHH-253, huVHH-256

<400> 33

Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro

1 5

<210> 34

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of huVHH-836

<400> 34

Arg Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 35

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of huVHH-836

<400> 35

Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile Ser

1 5

<210> 36

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of huVHH-840

<400> 36

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

1 5 10 15

<210> 37

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of huVHH-843

<400> 37

Arg Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile Asn Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 38

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of huVHH-846

<400> 38

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

1 5 10 15

<210> 39

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-273 (amino acid)

<400> 39

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 40

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-283 (amino acid)

<400> 40

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Ser Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Pro Ile Glu Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Ala Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 41

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-313 (amino acid)

<400> 41

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Arg Phe Val

35 40 45
Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

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

<210> 42

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-440 (amino acid)

<

400> 42

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

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

115

<210> 43

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-466 (amino acid)

<400> 43

Gln Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gln Ala Ser Ala Asp Ile Arg Leu Phe Tyr

20 25 30

Leu Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Glu Val

35 40 45

Ala Arg Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile Asn Tyr Val Ala Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 44

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-496 (amino acid)

<400> 44

Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

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

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

<210> 45

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-653 (amino acid)

<400> 45

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

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

	100	105	110
Gln Val Thr Val Ser Ser			
115			
<210> 46			
<211> 121			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> huVHH-253 (amino acid)			
<400> 46			
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1 5 10 15			
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr			
20 25 30			
Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35 40 45			
Ala Ala Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50 55 60			
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr			
65 70 75 80			
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85 90 95			
Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly			
100 105 110			
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115 120			

<210> 47	
<211> 121	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> huVHH-256 (amino acid)	
<400> 47	
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 48

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-260 (amino acid)

<400> 48

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Phe Val

35 40 45

Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Ala Pro Ile Glu Tyr Gly Ser Ser Trp Ser Ala Asp Tyr Trp Gly

100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 49

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-746 (amino acid)

<400> 49

Gln Ile Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val

100 105 110

Ser Ser

<210> 50

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-750 (amino acid)

<400> 50

Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val

100 105 110

Ser Ser

<210> 51

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-753 (amino acid)

<400> 51

Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 52

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-836 (amino acid)

<400> 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Asp Ile Arg Leu Phe Tyr

20 25 30

Leu Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val

35 40 45

Ala Arg Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 53

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-840 (amino acid)

<400> 53

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Asp Ile Arg Leu Phe Tyr

20 25 30

Leu Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 54

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-843 (amino acid)

<400> 54

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gln Ala Ser Ala Asp Ile Arg Leu Phe Tyr

20 25 30

Leu Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val

35 40 45

Ala Arg Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile Asn Tyr Val Asp Ser Val Lys

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

Ala Gly Arg Thr Trp Asn Ser Gly Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 55

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-846 (amino acid)

<400> 55

Gln Val His Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gln Ala Ser Ala Asp Ile Arg Leu Phe Tyr
 20 25 30

Leu Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Phe Val Asn Ala Asp Asp Ser Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

Ala Gly Arg Thr Trp Asn Ser Gly Phe Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 56

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-273 (nucleic acid)

<400> 56

gaagtccagc tgggtggaatc cgggggaggc ctggtgcagg caggaggctc cctgcggctg	60
tcttgccag caagcggaag gaccttcagc tcctacaaca tgggctggtt taggcaggca	120
ccaggcaagg agaggaggtt cgtggcagtg gtggactggt ctggaggcag cccttactat	180

gccgattccg tgaaggccg gtttaccatc agccgggaca acggcaagaa tacagtgtat	240
ctgcagatga acagcctgaa gcccaggat acagccgtgt actattgtgc cggccgggtg	300
cagtacgggt caagctggtc tggggattat tgggggcagg ggactcaggt cactgtctca	360
tca	363

<210> 57

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-283 (nucleic acid)

<400> 57

caggtcaaac tggaggaatc tgggggaggc agcgtgcagg caggaggcag cctgcggctg	60
tcctgcgccg cctctggcag gaccttcagc tcctacaaca tgggctggtt taggcaggca	120

ccaggcaagg agaggaggtt cgtggcagca atctcctggt ctggaggcag cccttactat	180
gcctctagcg tgcggggccg gttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa tacagtgtat	240
ctgcagatga acagcctgaa gcccaggat acagccgtgt actattgtgc cggccctatc	300
gagtacggct cttcttggtc agcagattat tggggacagg gcactcaggt cacagtctca	360
tca	363

<210> 58

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-313 (nucleic acid)

<400> 58

gatgtgcagc tgggtgagag cggcggcggg ttggtgcaag ccggtggttc gctgcggttg	60

tcatgcgccg cticcggacg tacaatctct agctactcca tgggctgggt ccgccaggcc 120
cctggtaagg agcgaggtt tgtcgcgcc atctcctggt ctggagggtc gccctattac 180
gcggacacg tgaaggccg cttcaccatc agccgtgaca acgccaagaa cacggtttac 240
ctgcagatga atccctcaa acctgaagac accgccgtgt actactgtgc tgcaccaatt 300
gagtacggct ccagttggtc tgcggactat tggggccagg gcaccagggt caccgtgtcc 360
tct 363

<210> 59

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-440 (nucleic acid)

<400> 59

caggtccacc tgatggagag cggaggcggc tccgtgcagg ccggaggtag tctgcgcctg 60
tcatgccagg cctccgccta cattcgagtg ttctacctga tgggctgggt ccgccaggcc 120
ccggggaagg agcgcgagga ggtggctcgt gtcactgcgg acggcttcac caaccatgca 180
gttctgtga agggccgctt caccatctcc aaggacaacg cgaagaacac gctgtacttg 240
cagatggatt ctatgaaaag cgaagacact gccgtgtact actgtgccgc tgggcggacc 300
tggaactccg gttttgagta ttggggccag ggcacccagg tcaccgtgtc gtcc 354

<210

> 60

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-466 (nucleic acid)

<400> 60

caggtccact tggaggagag cggaggaggc tccgtgcagg ccggaggttc tctccgtctc 60
tcatgccagg cctccgcgga catccgcctg tttacctga tgggctgggt ccgccaagca 120
cccgggaagg agcgcgagga ggtggctcgg gttaacgcgg atgacagcat taactacgtg 180
gcgagtgtaa agggccgctt caccatctcc aaggacaacg ccaagaacac gctgtacttg 240
cagatggatt ctcttaaac ggaagacacc gccacttact actgtgctgc tgggcgaacc 300
tggaactccg gtttcgagta ttggggccag ggcacccagg tcaccgtgag ctcg 354

<210> 61

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-496 (nucleic acid)

<400> 61

cagatccagc tggatggagag tggaggcggc ttggtgcagc cagggggctc cctacgcctg	60
tcatgcgctg cttctggett caggttcagc aactaccga tgacctggct cggccaggcc	120
cccggaag gcctcgagag cgtgtccgac atcacctcg gtggtgatcg gccctattac	180
gcggactcgg tgaaggcgag gtttacaatt tctcgcgaca acgccaagaa tatgctgtac	240
ctggagatga actccctgaa gactgaagac accgccgtgt actactgtgc cacctgggat	300
cgcacctga cgggacaagg caccagggtc accgttagct cg	342

<210> 62

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-653 (nucleic acid)

<400> 62

caggtgaagc tggatggagag cggatggggc tccgtgcagg ccggaggtag ccttcgcctg	60
tcatgccagg cctccgcta cattcgggtg tttacctga tgggctggtt cggccaggcc	120
ccggggaagg agcgcgagga ggtggcacga gtcaacggg acggcatcac caaccatgca	180
gcttcgtaa aaggccgett caccatctcc aaggacaacg ccaagaacac gctatactc	240
cagatggatt ctctgaagc cgaggacacc gccgtgtact actgtgctgc gggacgtact	300
tggaactcgg gcttcgaata ttggggccag ggcaccagg tcactgtcag ttcc	354

<210> 63

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-253 (nucleic acid)

<400> 63

gaggtgcagc tggatggagag cggcggcggc ttggtgcagc caggaggctc cctccgcctg	60
tcatgcgccg cttccggccg cacttcagc agctacaaca tgggctggtt cggccaggcc	120
cccggaag gcctggagtg ggtcgggcc gtggattggt ctggcggttc cccctattac	180
gcggactcgg tgaagggccg cttcaccatc tccgcgaca actccaagaa cacggtgtac	240
ctgcagatga actctctcg cgccgaggac accgccgtct actactgtgc cggccgagtg	300

cagtagcggt ccagttgggtc tggggactat tggggccagg gcaccctggt gaccgtgtcg	360
tcc	363
<210> 64	
<211> 363	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> huVHH-256 (nucleic acid)	
<400> 64	
gaggtgcagc tggtagagag cggaggcggg ttggtgcagc caggggggttc tctgcgcctg	60
agctgtgctg ctcccggtcg tacgttcagc agctacaaca tgggctgggt ccgccaggcc	120
cccggcaaag gcctggagtt cgtcgccgtg gtggactggg ctggcggctc cccctattac	180
gcggactccg tgaagggccg cttcaccatc tcccgcgaca actccaagaa cacgggtgtac	240
ctgcagatgt cttctcttcg cgccgaggac accgccgtct actactgcgc cggccgagtg	300
cagtagcggt ccagttgggtc tggtagattat tggggccagg gcaccctggt gaccgtgtcg	360
tcc	363
<210> 65	
<211> 363	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> huVHH-260 (nucleic acid)	
<400> 65	
gacgtgcagc tgctggagag cggaggcggg ctggtgcagc caggggggttc tcttcgcctg	60
tcatgcgccg ctcccggtcg caccatctct agctactcca tgggctgggt ccgccaggcc	120
cccggcaaag gcctcgagtt cgtcgccgcc atcagttggt ctggcggctc cccctattac	180
gcggactccg tgaagggccg cttcaccatc tcccgcgaca acgccaagaa cacgggtctac	240
ctgcagatga actccctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgtgc tgctcctatt	300
gagtagcggt ccagttgggtc tgggactat tggggccagg gcaccctggt caccgtgtcg	360
tcc	363
<210> 66	
<211> 342	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> huVHH-746 (nucleic acid)

<400> 66

cagatccagc tgctggagag tggcggcggg ctggtgcagc cgggaggctc cctgcgcctg 60
tcatgcgccg cttccggctt cacgttcagc aactacccaa tgacctggat ccgccaggcc 120
cccggcaaag gcctcgagag cgtgtccgac atcacctccg gtggtgatag gccctattac 180

gcggactccg tgaaggcccg cttcaccatc tctcgcgaca acgccaagaa catgctgtac 240
ctgcagatga actccctccg cgccgaggac accgccgtgt actactgtgc cacctgggac 300
cgcacctttt ggggccaggg caccatggtg accgtgagct cc 342

<210> 67

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-750 (nucleic acid)

<400> 67

cagatccagc tggtaggagag cggaggcggg ttggtgcagc cgggaggctc cctgcgcctg 60
agctgtgctg cttccggctt cacattttca aattatccaa tgacctggct ccgccaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtc cgtgtccgac atcacctccg gtggggacag gccctattac 180

gcggacagcg tcaaaggccg cttcaccatc tctcgcgaca acgccaagaa catgctgtac 240
ctgcagatga actccttacg cgccgaggac accgccgtgt actactgcgc cacctgggac 300
cgcacctga ccggccaggg caccatggtg accgtgagct cc 342

<210> 68

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-753 (nucleic acid)

<400> 68

cagatccagc tggtaggagag cggcggcggg ttggtgcagc cgggaggctc cctgcgcctg 60
tcatgcgccg cttccggctt cacattttca aattacccaa tgacctggct ccgccaggcc 120
cccggcaaag gcctggagtc cgtgtccgac atcacctccg gtggggacag gccctattac 180

gcggacagcg tgaaggcccg cttcaccatc tctcgcgaca acgccaagaa catgctttac 240
ctgcagatga actccttacg cgccgaggac accgccgtgt actactgtgc cacctgggac 300
cgcacctca ctggacaggg caccctggtc accgtgtcgt cc 342

<210> 69

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-836 (nucleic acid)

<400> 69

gaggtgcagc tgggtggagag cgggtggcggc ctggtgcagc cgggaggctc cttgcgtcta 60

tcatgcgccg cttccgcgga catccgcctg ttttacctga tgggctgggt cgcgcaggcc 120

cccgggaaag ggttggtttg ggtcggccga gtcaacgcgg atgacagcat ttcttacgcg 180

gatagtgtga agggccgctt caccatctcc cgcgacaacg ccaagaacac gctctacctc 240

cagatgaact ccttgcgcgc cgaggacacc gccgtatact actgtgctgc aggacggacc 300

tggaactccg gcttcgagta ctggggccag ggcactcttg tcaccgtgag ctcg 354

<210> 70

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-840 (nucleic acid)

<400> 70

caggtgcagc tgcaggagag cggaggaggt gtggtgcagc caggcggctc cttgcgcctg 60

tcatgcgccg ctagtgcgga catccgactc ttttacctga tgggctgggt cgcgcaggcc 120

ccggggaaag gtctcgagtg ggtcgccttc gtgaacgcag atgacagcat ttactacgcg 180

gattccgtaa agggccgctt caccatctct cgggacaact ccaagaacac gctgtacctc 240

cagatgaaca gcctacgtgc cgaggacact gccgtgtact actgtgccgc tgggcgcacc 300

tggaactccg gcttcgagta ctggggccaa ggcaccctgg tgaccgtgtc gtct 354

<210> 71

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-843 (nucleic acid)

<400> 71

caggtccact tgggtggagag cggaggtggt ctggtgcagc cagggggctc cctacgcctg 60

tcatgccagg cctccgcgga catccgactc ttttacctaa tgggctgggt cgcgcaggcc 120

cccgggaaag gccttgtttg ggtcgcacgg gtcaacgcgg atgacagcat taactacgtg 180

gattctgtga agggccgctt caccatctcc aaggacaacg ccaagaacac gctgtacctg 240

cagatgaact ccttgcgcgc cgaggacacc gccgtgtact actgtgctgc tggacgtacc 300

tggaactccg gcttcgagta ttggggccag ggcaccctgg taacagtgtc gtcg 354

<210> 72

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-846 (nucleic acid)

<400> 72

caggtccact tgcaggagag cggcgggggt gtggtgcagc cgggaggctc ccttcgtctc 60

tcatgccaaag cctcggcgga catccggcctt tttacctga tgggttggtt ccgccaggcc 120

cccgggaagg gactggagtg ggttccttc gtgaacgtg atgacagcat taactacgcg 180

gattccgtga agggccgctt caccatctct aaggacaaca gcaaaaacac tctgtacctc 240

cagatgaact ccttgcgcgc tgaagacacc gccgtgtact actgtgctgc aggtcgcacc 300

tggaactccg gcttcgagta ttggggccag ggcaccctgg tgacggtgtc cagt 354

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 of VHH-083, huVHH-773, huVHH-776, VHH-131 (Kabat)

<400> 73

Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly

1 5 10

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 of VHH-083, huVHH-773, huVHH-776 (Kabat)

<400> 74

Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 75

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 of VHH-083, huVHH-773, huVHH-776, VHH-131 (Kabat)

<400> 75

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

1 5 10 15

<210> 76

<211>

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 of VHH-083, huVHH-773, huVHH-776, VHH-131 (IMGT)

<400> 76

Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys

1 5

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 of VHH-083, huVHH-773, huVHH-776, VHH-131 (IMGT)

<400> 77

Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser

1 5

<210> 78

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 of VHH-083, huVHH-773, huVHH-776, VHH-131 (IMGT)

<400> 78

Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr

1 5 10 15

Arg Asn

<210> 79

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 of VHH-111 (Kabat)

<400> 79

Gly Asp Thr Leu Ser Asn Lys Trp Met Gly

1 5 10

<210> 80

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 of VHH-111 (Kabat)

<400> 80

Thr Ile Arg Thr Asp His Ala Gly Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 of VHH-111 (Kabat)

<400> 81

Ser Tyr Ser Gly Ala Thr Thr Phe Arg Tyr

1 5 10

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 of VHH-111 (IMGT)

<400> 82

Gly Asp Thr Leu Ser Asn Lys Trp

1 5

<210> 83

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 of VHH-111 (IMGT)

<400> 83

Ile Arg Thr Asp His Ala Gly Thr

1 5

<210> 84

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 of VHH-111 (IMGT)

<400> 84

Ala Ala Ser Tyr Ser Gly Ala Thr Thr Phe Arg Tyr

1 5 10

<210> 85

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-083 (amino acid)

<400> 85

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr

100 105 110

Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 86

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> VHH-111 (amino acid)

<400> 86

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Arg Thr Asp His Ala Gly Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Met Ile Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 87

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-773 (amino acid)

<400> 87

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr

100 105 110

Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 88

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-776 (amino acid)

<400> 88

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val

35 40 45

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

Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 89

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-083 (nucleic acid)

<400> 89

caggtgcagc tggtaggagag cggaggtggc tctgtgcagg ctggtgggtc gctcaggctg 60
tcatgcgggg cgiccgcaa cattaactcc cgcaactgca tgggctgggt ccgtcaagcc 120
ccaggcaagg agcgcgaggg cgtagccgct atcggtcagg tcaccggccg cagctactac 180
gtggattctg ttaaaggccg cttcaccatc tcgttggaaca acgcaagaa cacgctgtac 240

ctgcagatga acacactgaa gcccgaagac accgcatgt attactgtgc tgcagccccg 300
gggtgtctgc tgtccgtctt gcgctccgcg gactaccgga attggggcca gggcaccag 360
gtcacctgtt ccagt 375

<210> 90

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-111 (nucleic acid)

<400> 90

gaggtgcagc tggtaggagag cggaggggga tccgtgcaag ccggcggctc cttgcgcctg 60
tcatgcgccg cttccggtga tactcttagc aacaaatgga tgggctgggt ccgccaggcc 120
cccggcaagg agcgcgattg ggtcgcgacg attcgtaccg accacgccgg gacctacgcg 180

gacagtgtga agggccgctt caccatctcg cgggacaact ttaagaatat gatctacctg 240
cagatgaaca acctgaagcc tgaagacacc gccatgtatt actgtgctgc tagctactcc 300
gggtgcaacca ccttcagata ctggggccag ggcacccagg tcaccgtttc ttct 354

<210> 91

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-773 (nucleic acid)

<400> 91

caggtgcagc tggtagagag cggaggcggg ctggtgcagc cgggcggctc cctccgcctg 60
tcatgcgccg cttccggcaa cattaattcc cgcaactgca tgggctggtt ccgccaggcc 120
cccggcaagg gcagggaggg cgtggcggcc atcggtcagg tcaccggccg cagctattac 180

gtggattctg tgaaggagcg cttcaccatc tctctggaca actccaagaa cacgctgtac 240
ctgcagatga acagcctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgtgc cgcggcgcca 300
gggtgcctgc tgtccgcctt gcgctcggcg gactacagga actggggcca gggcacctg 360
gttaccgtgt cctcc 375

<210> 92

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-776 (nucleic acid)

<400> 92

caggtgcagc tggtagagag cggaggcggg gtggtgcagc caggcgatc tcttcgcctg 60
tcatgcgccg cttccggcaa cattaattcc cgcaactgca tgggctggtt ccgccaggcc 120

cccggcaaag gcagggaggg cgtggcggcc atcggtcagg tcaccggccg cagctattac 180
gtggattctg tgaagggccg cttcaccatc tctctggaca actccaagaa cacgctgtac 240
ctgcagatga acagcctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgtgc tgcggctccc 300
gggtgcctgc tgtccgcctt gcgctcggcg gactaccgga actggggcca gggcacctg 360
gtgaccgtgt cctcc 375

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 CDR1 (Kabat)

<400> 93

Gly Gly Ser Phe Arg Ser Val Ser Met Gly

1 5 10

<210> 94

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 CDR2 (Kabat)

<400> 94

Leu Leu Thr Ala Gly Met Arg Ser Asp Val Tyr Ala Asp Pro Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 95

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 CDR3 (Kabat)

<400> 95

Gly Arg Arg Phe Arg Ser Asp His Trp Tyr Leu Asp Asp Tyr Glu Tyr

1 5 10 15

<210> 96

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 CDR1 (IMGT)

<400> 96

Gly Gly Ser Phe Arg Ser Val Ser

1 5

<210> 97

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 CDR2 (IMGT)

<400> 97

Leu Thr Ala Gly Met Arg Ser Asp

1 5

<210> 98

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 CDR3 (IMGT)

<400> 98

Ala Ala Gly Arg Arg Phe Arg Ser Asp His Trp Tyr Leu Asp Asp Tyr

1 5 10 15

Glu Tyr

<210> 99

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-66 and huVHH-077 CDR1 (Kabat)

<400> 99

Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn

1 5 10

<210> 100

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-66 and huVHH-077 CDR2 (Kabat)

<400> 100

Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser

1 5 10 15

<210> 101

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-66 and huVHH-077 CDR3 (Kabat)

<400> 101

Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn

1 5 10

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-66 and huVHH-077 CDR1 (IMGT)

<400> 102

Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr

1 5 10

<210> 103

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> VHH-66 and huVHH-077 CDR2 (IMGT)

<400> 103

Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 104

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-66 and huVHH-077 CDR3 (IMGT)

<400> 104

Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn

1 5 10

<210> 105

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-87 CDR1 (Kabat)

<400> 105

Val Tyr Thr Trp Gly Thr Tyr Cys Met Gly

1 5 10

<210> 106

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-87 CDR2 (Kabat)

<400> 106

Thr Ile Asp Pro Ala Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asn Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-87 CDR3 (Kabat)

<400> 107

Arg Ala Tyr Asp Ala Pro Trp Ala Cys Trp Thr Gly Ala Val Phe Arg

1 5 10 15

Asp

<210> 108

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-87 CDR1 (IMGT)

<400> 108

Val Tyr Thr Trp Gly Thr Tyr Cys

1 5

<210> 109

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-87 CDR2 (IMGT)

<400> 109

Ile Asp Pro Ala Gly Thr Thr

1 5

<210> 110

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-87 CDR3 (IMGT)

<400> 110

Ala Ala Arg Ala Tyr Asp Ala Pro Trp Ala Cys Trp Thr Gly Ala Val

1 5 10 15

Phe Arg Asp

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-90 CDR1 (Kabat)

<400> 111

Gly Ser Met Tyr Ser Arg Tyr Cys Met Gly

1 5 10

<210> 112

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-90 CDR2 (Kabat)

<400> 112

Thr Ile Asp Pro Ala Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asn Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 113

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-90 CDR3 (Kabat)

<400> 113

Arg Ala Tyr Asp Ala Pro Trp Ser Cys Trp Thr Gly Ala Val Phe Gly

1 5 10 15

Asp

<210> 114

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-90 CDR1 (IMGT)

<400> 114

Gly Ser Met Tyr Ser Arg Tyr Cys

1 5

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> VHH-90 CDR2 (IMGT)

<400> 115

Ile Asp Pro Ala Gly Thr Thr

1 5

<210> 116

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-90 CDR3 (IMGT)

<400> 116

Ala Ala Arg Ala Tyr Asp Ala Pro Trp Ser Cys Trp Thr Gly Ala Val

1 5 10 15

Phe Gly Asp

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-102 CDR1 (Kabat)

<400> 117

Gly Tyr Thr Tyr Arg Gly Tyr Cys Leu Ala

1 5 10

<210> 118

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-102 CDR2 (Kabat)

<400> 118

Thr Ile Asp Ser Asp Gly Tyr Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 119

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-102 CDR3 (Kabat)

<400> 119

Arg Gly Gly Trp Cys Tyr Ser Leu Ser Lys Glu Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 120

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-102 CDR1 (IMGT)

<400> 120

Gly Tyr Thr Tyr Arg Gly Tyr Cys

1 5

<210> 121

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-102 CDR2 (IMGT)

<400> 121

Ile Asp Ser Asp Gly Tyr Ile

1 5

<210> 122

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-102 CDR3 (IMGT)

<400> 122

Ala Ala Arg Gly Gly Trp Cys Tyr Ser Leu Ser Lys Glu Tyr Asn Tyr

1 5 10 15

<210> 123

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-105 CDR1 (Kabat)

<400> 123

Leu Ser Leu Asn Arg Val Ser Ile Ala

1 5

<210> 124

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-105 CDR2 (Kabat)

<400> 124

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

1 5 10 15

<210> 125

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-105 CDR3 (Kabat)

<400> 125

Gly Arg Thr Tyr Ser Ser Arg Asp Pro Leu Ala Asp Glu Tyr Asn Tyr

1 5 10 15

<210> 126

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-105 CDR1 (IMGT)

<400> 126

Leu Ser Leu Asn Arg Val Ser

1 5

<210> 127

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-105 CDR2 (IMGT)

<400>

> 127

Gln Ser Phe Thr Gly Asp Thr

1 5

<210> 128

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-105 CDR3 (IMGT)

<400> 128

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

1 5 10 15

Asn Tyr

<210> 129

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 (amino acid)

<400> 129

Gln Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Glu Ile Gly Gly

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ala Cys Lys Tyr Ser Gly Gly Ser Phe Arg Ser Val

20 25 30
Ser Met Gly Trp Leu Arg Gln Ala Val Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45
Ala Leu Leu Thr Ala Gly Met Arg Ser Asp Val Tyr Ala Asp Pro Val

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Ile Asp Lys Asn Thr Met Tyr

65 70 75 80
Leu Asp Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Ala Gly Arg Arg Phe Arg Ser Asp His Trp Tyr Leu Asp Asp Tyr

100 105 110
Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 130

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> VHH-66 (amino acid)

<400> 130

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly

20 25 30

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

Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Glu Asn Gln Phe
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 131

<211> 125

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-87 (amino acid)

<400> 131

Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ser Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Val Tyr Thr Trp Gly Thr Tyr
20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ala Thr Ile Asp Pro Ala Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asn Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Asp Asp Asn Ala Gln Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Asp Ala Pro Trp Ala Cys Trp Thr Gly Ala Val Phe
100 105 110

Arg Asp Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 132

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-90 (amino acid)

<400> 132

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ser Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Met Tyr Ser Arg Tyr

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Thr Ile Asp Pro Ala Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asn Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Ala Gln Asn Thr Met Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Asp Ala Pro Trp Ser Cys Trp Thr Gly Ala Val Phe

100 105 110

Gly Asp Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 133

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-102 (amino acid)

<400> 133

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ser Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Tyr Arg Gly Tyr

20 25 30

Cys Leu Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Arg Val

35 40 45

Ala Thr Ile Asp Ser Asp Gly Tyr Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Thr Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Glu Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Trp Cys Tyr Ser Leu Ser Lys Glu Tyr Asn Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 134

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-105 (amino acid)

<400> 134

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Ser Ala Lys Tyr Tyr Cys Ala Ala

85 90 95

Gly Arg Thr Tyr Ser Ser Arg Asp Pro Leu Ala Asp Glu Tyr Asn Tyr

100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 135
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> huVHH-077 (amino acid)
 <400> 135
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly
 20 25 30
 Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser
 50 55 60
 Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95
 Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 136

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 (nucleic acid)

<400> 136

cagggttaagc tgggtggagag cggaggcggc tccgtggaga tcggtggctc cctacgcctg 60

gcctgcaagt aciccgggtgg ttccttccgc tcggtatcta tgggctggct ccgccaggcc	120
gtggggaagg agcgcgaggg cgctcgtctg cttactgctg gaatgcgtag cgacgtgtac	180
gcggaccggg tgaagggccg cttcaccatc tcacaggata ttgacaaaaa cacgatgtac	240
ctggacatga acgcgctgaa gcccgaagac accgccatgt attactgtgc cgcagggcga	300
aggtttcggg gtgaccactg gtacttggat gactacgagt attggggcca gggcaccag	360
gtcacctga gctct	375
<210> 137	
<211> 366	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> VHH-66 (nucleic acid)	
<400> 137	
gaggtgcagc tgggtggagag tgggcccggg ttggtgaagc cctctcagac tctgtctctg	60
acctgcaccg tgtccgggtgc ttccatcacc accggcgagt tctattggaa ttggttccgc	120
cagccgcctg gcaagggcct ggagtggatg ggcgccatcg cggcttctgg ctccacgacc	180
tactcccat cttcgagag ccgcaccagc atctctcgcg acacctccga gaaccagttc	240
tacctgcagc tgagctccgt gactccggaa gataccgccg tgtactactg cgggcgcagc	300
ttcggcgtgg cggccgtcac cacaggccag aaccgcggac agggcaccca ggtcacctg	360
tcgtcc	366
<210> 138	
<211> 375	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> VHH-87 (nucleic acid)	
<400> 138	
caaatccagc tgggtggagag tgggtgtgga tcggtgcaga gcggaggctc cctccgcctg	60
tcatgcaagg cctccgtgta cacctggggc acctactgta tgggctggtt ccgccaggcc	120
cccgggaagg agcgcgaggg cgctgcaact attgaccag ctgggaccac aacttacgcc	180
aactccgtta agggccgctt caccatcagc gatgacaacg cgcagaacac gctgtacctg	240
cagatgaact cttgaggcc tgaagacacc gccatgtatt actgtgctgc gcgggcctac	300
gacgtccgt gggcgtgctg gacgggtgcc gtgtttcgtg attggggcca gggcaccag	360

gtcacctgt cctct	375
<210> 139	
<211> 375	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> VHH-90 (nucleic acid)	
<400> 139	
caagtgcagc tggtagagag cggaggcggc tccgtgcaga gcggtggcag tctcaagctg	60
agctgcgccg ctccgggttc tatgtactcc cgctactgca tgggttggtt ccgccaggcc	120
cccgggaagg agaggaggagg cgtcgcaact attgacctg ctggaacaac cacctacgcg	180
aactccgtta aaggccgctt caccatctct ggggacaacg cgcagaacac gatgtacctg	240
cagatgaact ccttgcggcc cgaagacacc gccatgtatt actgtgctgc tcgtgcctac	300
gacgccccgt ggtcttgttg gactggggcg gtgtttgttg attggggcca gggcacccag	360
gtcacctgt cgtcg	375
<210> 140	
<211> 366	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> VHH-102 (nucleic acid)	
<400> 140	
gaggtgcagc tggtagagag cggagggtggg tctgtgcaaa gcggcggctc cctccgcctg	60
tcatgcgccg ctccggata cacctacagg ggctactgcc tggcgttggtt ccgccaggcc	120
cccgggaaag agcgcgagcg ggtcgccact attgacagcg atggctacat ctgctacgcg	180
gactccgtga agggccgctt taccatctct caggacaaca ctaagaacac gttgtacctg	240
gagatgaata cactgaagcc tgaagacacc gccatgtatt actgtgctgc acgtggtggt	300
tgggtgtact ccctttccaa ggagtacaac tattggggcc agggcaccca ggtcacctt	360
tcgagt	366
<210> 141	
<211> 369	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> VHH-105 (nucleic acid)	

<400> 141

caagtgcagc tggtagagag cggaggcggc tccgtgcagg ccggtgggtc tcttcgattg	60
tcatgcgccg aaagtctatc tctcaaccgc gtcagcattg catggttccg ccaggctcct	120
ggcaaggaga gggaggggcgt agctaccacg agctttacag gggacaccgc gtacgcggat	180
tctgttaaag ggcgcttcac catctcccgc gacaacacta agaacacggg gtacctgtcc	240

atgaactccc tgaagctgga ggacagcgcc aagtactact gtgcccgtgg acgtacttac	300
tcctcccggg atccccctggc ggacgagtag aactattggg gccagggcac ccaggtcacc	360
gtgtcgtcg	369

<210> 142

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huVHH-077 (nucleic acid)

<400> 142

caggtgcagc tgcaggagag tgggcccggg ttggtgaagc cctctcagac tctttctctg	60
acctgcaccg tgtccgggtc ttccatcacc accggcgagt tctattggaa ttggttccgc	120
cagccgcccg gcaagggcct ggagtggatg ggcgccatcg cggttcttgg ctccacgacc	180

tactcccat ccttcgagag ccgcaccagc atctcccgcg acacctcaa gaaccagttt	240
tactgaagc tgagctccgt gacggccgcg gacaccgccg tgtactactg cgggcgctcc	300
ttcggcgtgg cggccgtcac cacaggccag aaccgcggac agggcaccct ggtgaccgtg	360
agctcg	366

<210> 143

<211> 2

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 1

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(2)

<223> can be repeated n times, where n is an integer including, e.g.,

1, 2, 3, 4, 5, and 6

<400> 143

Gly Ser

1

<210> 144

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 2

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> can be repeated n times, where n is an integer including, e.g.,

1, 2, 3, 4, 5, and 6

<400> 144

Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 145

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 3

<220><221> MISC_FEATURE

<222>

> (1)..(4)

<223> can be repeated n times, where n is an integer including, e.g.,

1, 2, 3, 4, 5, and 6

<400> 145

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 146

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 4

<400> 146

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

20

25

30

Gly Ser

<210> 147

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 5

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> can be repeated n times, where n is an integer including, e.g.,

1, 2, 3, 4, 5, and 6

<400> 147

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 148

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 6

<400> 148

Asp Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 149

<

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 7

<400> 149

Thr Gly Glu Lys Pro

1 5

<210> 150

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 8

<400> 150

Gly Gly Arg Arg

1

<210> 151

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 9

<400> 151

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20

<210> 152

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 10

<400> 152

Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Val Asp

1 5 10

<210> 153

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 11

<400> 153

Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser

1 5 10 15

<210> 154

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 12

<400> 154

Gly Gly Arg Arg Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 155

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 13

<400> 155

Leu Arg Gln Arg Asp Gly Glu Arg Pro

1 5

<210> 156

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 14

<400> 156

Leu Arg Gln Lys Asp Gly Gly Gly Ser Glu Arg Pro

1 5 10

<210> 157

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 15

<400> 157

Leu Arg Gln Lys Asp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Arg Pro

1 5 10 15

<210> 158

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 16

<400> 158

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

1 5 10 15

<210> 159

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 17

<400> 159

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Ser Ser Glu Gly Lys Gly

1 5 10

<210> 160

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary peptide linker 18

<400> 160

Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser

1 5 10 15

Leu Asp

<210> 161

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal Peptide (CD8Alpha)

<400> 161

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

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro

20

<210> 162

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hinge (CD8Alpha)

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

<210> 163

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Transmembrane domain (CD8Alpha)

<400> 163

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

1 5 10 15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

20

<210> 164

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Co-stimulatory signaling domain (CD137)

<400> 164

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35

40

<210> 165

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primary intracellular signaling domain (CD3Zeta)

<400> 165

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 166

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Kozak sequence

<400> 166

gccgccacc

9

<210> 167

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EcoRI restriction site

<400> 167

gaattc

6

<210> 168

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpeI restriction site

<400> 168

actagt

6

<210> 169

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> human IgG1 Fc fragment sequence

<400> 169

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

100 105 110

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

115 120 125

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

 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 170
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Rituximab VH-CH1

 <400> 170
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

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

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

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

<210> 171

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Rituximab VL-CL

<400> 171

Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr

115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala

180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe

195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210

> 172

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Leu16 VH-CH1

<400> 172

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

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

115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220

Cys

225

<210> 173

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Leu16 VL-CL

<400> 173

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

1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met

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

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

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

 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 174
 <211> 617
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> AIO-2C1 CAR (amino acid)
 <400> 174
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

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

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

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

 225 230 235 240
 Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr
 245 250 255

Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
260 265 270

Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
275 280 285

Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe
290 295 300

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln
305 310 315 320

Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
325 330 335

Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr
340 345 350

Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly
355 360 365

Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln
370 375 380

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
435 440 445

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
450 455 460

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
465 470 475 480

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
485 490 495

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

500 505 510
 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 515 520 525
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 530 535 540
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

 545 550 555 560
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 565 570 575
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 580 585 590
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 595 600 605
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 610 615

<210> 175

<211> 627

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-2C2 CAR (amino acid)

<400> 175

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

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

85 90 95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr

100 105 110

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

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

Tyr	Cys	Gly	Arg	Ser	Phe	Gly	Val	Ala	Ala	Val	Thr	Thr	Gly	Gln	Asn
				245					250					255	
Arg	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
				260					265					270	
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser
				275					280					285	
Val	Gln	Ala	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Gly	Ala	Ser	Gly	Asn
				290					295					300	

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
305 310 315 320
Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr
325 330 335

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala
 340 345 350
 Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 355 360 365

 Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu
 370 375 380
 Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
 385 390 395 400
 Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
 405 410 415
 Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
 420 425 430

 Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
 435 440 445
 Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
 450 455 460
 Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
 465 470 475 480
 Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
 485 490 495

 Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
 500 505 510
 Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 515 520 525
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 530 535 540
 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 545 550 555 560

 Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 565 570 575
 Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

580 585 590
 Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
 595 600 605
 Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
 610 615 620

Pro Pro Arg

625

<210> 176

<211> 637

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-2C3 CAR (amino acid)

<400> 176

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

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

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

50 55 60

Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala

85 90 95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly

115 120 125

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly

145 150 155 160
 Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly
 165 170 175

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

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

 Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys
 305 310 315 320
 Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala
 325 330 335
 Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 340 345 350
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 355 360 365

 Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
 370 375 380
 Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg
 385 390 395 400

Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr
405 410 415

Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
420 425 430

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
435 440 445

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
450 455 460

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
465 470 475 480

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
485 490 495

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
500 505 510

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
515 520 525

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
530 535 540

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
545 550 555 560

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
565 570 575

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
580 585 590

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
595 600 605

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
610 615 620

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
625 630 635

<210> 177

<211> 647

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-2C4 CAR (amino acid)

<400> 177

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

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

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

50 55 60

Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala

85 90 95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly

115 120 125

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn

180 185 190

Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile

195 200 205

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

210					215					220									
Ser	Ile	Ser	Arg	Asp	Thr	Ser	Glu	Asn	Gln	Phe	Tyr	Leu	Gln	Leu	Ser				
225					230					235					240				
Ser	Val	Thr	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Arg	Ser	Phe				
245					250					255									
Gly	Val	Ala	Ala	Val	Thr	Thr	Gly	Gln	Asn	Arg	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln				
260					265					270									
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly				
275					280					285									
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser				
290					295					300									
Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Gln	Ala	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Gly				
305					310					315					320				
Ala	Ser	Gly	Asn	Ile	Asn	Ser	Arg	Asn	Cys	Met	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln				
325					330					335									
Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Gly	Val	Ala	Ala	Ile	Gly	Gln	Val	Thr				
340					345					350									
Gly	Arg	Ser	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser				
355					360					365									
Leu	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Thr	Leu	Lys				
370					375					380									
Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Ala	Pro	Gly	Cys	Leu				
385					390					395					400				
Leu	Ser	Ala	Leu	Arg	Ser	Ala	Asp	Tyr	Arg	Asn	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr				
405					410					415									
Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro				
420					425					430									
Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro				
435					440					445									
Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu				
450					455					460									

Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
 465 470 475 480
 Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
 485 490 495
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 500 505 510
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 515 520 525
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 530 535 540
 Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 545 550 555 560
 Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 565 570 575
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 580 585 590
 Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 595 600 605
 Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 610 615 620
 Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 625 630 635 640
 Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 645
 <210> 178
 <211> 617
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> A10-3C1 CAR (amino acid)
 <400> 178
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

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

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

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

Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
275 280 285

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
290 295 300

Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly
305 310 315 320

Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro
325 330 335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
340 345 350

Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp
355 360 365

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln
370 375 380

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
435 440 445

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
450 455 460

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
465 470 475 480

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
485 490 495

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

500 505 510
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
515 520 525

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
530 535 540
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
545 550 555 560
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
565 570 575
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
580 585 590

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615

<210> 179

<211> 627

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-3C2 CAR (amino acid)

<400> 179

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu

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

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr

85 90 95

Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr

115 120 125

Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser

145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly

165 170 175

Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln

180 185 190

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

195 200 205

Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

210 215 220

Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys

225 230 235 240

Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu

245 250 255

Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr

260 265 270

Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

275 280 285

Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

290 295 300

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

305 310 315 320

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

325 330 335
Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

340 345 350
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Leu Tyr

355 360 365
Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

370 375 380
Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val

385 390 395 400
Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala

405 410 415
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg

420 425 430
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys

435 440 445
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu

450 455 460
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu

465 470 475 480
Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln

485 490 495
Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly

500 505 510
Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr

515 520 525
Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg

530 535 540
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met

545 550 555 560
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu

565 570 575

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
580 585 590
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
595 600 605
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
610 615 620
Pro Pro Arg
625
<210> 180
<211> 637
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> AIO-3C3 CAR (amino acid)
<400> 180
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu
20 25 30
Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala
35 40 45
Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro
50 55 60
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
65 70 75 80
Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
85 90 95
Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp
100 105 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr
115 120 125
Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val

145 150 155 160

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu

165 170 175

Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met

180 185 190

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala

195 200 205

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

210 215 220

Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

225 230 235 240

Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala

245 250 255

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

260 265 270

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu

290 295 300

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys

305 310 315 320

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg

325 330 335

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

340 345 350

Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile

355 360 365

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu

370 375 380

Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr

385	390							395							400						
Leu	Thr	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr						
				405				410				415									
Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln						
				420				425				430									
Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala						
				435				440				445									
Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala						
				450				455				460									
Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr						
465				470				475				480									
Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln						
				485				490				495									
Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser						
				500				505				510									
Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys						
				515				520				525									
Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln						
530				535				540													
Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu						
545				550				555				560									
Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg						
				565				570				575									
Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met						
				580				585				590									
Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly						
595				600				605													
Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp						
610				615				620													
Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg									
625				630				635													

<210> 181

<211> 647

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-3C4 CAR (amino acid)

<400> 181

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala

35 40 45

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

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr

85 90 95

Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr

115 120 125

Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln

165 170 175

Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn

180 185 190

Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg

195 200 205
 Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val
 210 215 220
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn
 225 230 235 240
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met
 245 250 255
 Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser
 260 265 270

 Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 275 280 285
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 290 295 300
 Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 305 310 315 320
 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 325 330 335

 Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 340 345 350
 Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr
 355 360 365
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 370 375 380
 Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
 385 390 395 400

 Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr
 405 410 415
 Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
 420 425 430
 Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
 435 440 445

Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
450 455 460

Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
465 470 475 480

Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
485 490 495

Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
500 505 510

Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
515 520 525

Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
530 535 540

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
545 550 555 560

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
565 570 575

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
580 585 590

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
595 600 605

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
610 615 620

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
625 630 635 640

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
645

<210> 182

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-4C1 CAR (amino acid)

<400> 182

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

Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr

245 250 255

Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val

260 265 270

Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

275 280 285

Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe

290 295 300

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

305 310 315 320

Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr

325 330 335

Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr

340 345 350

Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly

355 360 365

Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln

370 375 380

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro

385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

435 440 445

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

500 505 510
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu

515 520 525
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

530 535 540
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

545 550 555 560
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr

565 570 575
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp

580 585 590
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala

595 600 605
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

610 615

<210> 183

<211> 627

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-4C2 CAR (amino acid)

<400> 183

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala

35 40 45

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

50 55 60

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

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

 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly
 195 200 205
 Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 210 215 220
 Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys
 225 230 235 240
 Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu
 245 250 255

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

305				310				315				320			
Glu	Arg	Glu	Gly	Val	Ala	Ala	Ile	Gly	Gln	Val	Thr	Gly	Arg	Ser	Tyr
325				330				335							
Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Leu	Asp	Asn	Ala
340				345				350							
Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Thr	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr
355				360				365							
Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Ala	Pro	Gly	Cys	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu
370				375				380							
Arg	Ser	Ala	Asp	Tyr	Arg	Asn	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val
385				390				395				400			
Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala
405				410				415							
Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg
420				425				430							
Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys
435				440				445							
Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu
450				455				460							
Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu
465				470				475				480			
Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln
485				490				495							
Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly
500				505				510							
Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr
515				520				525							
Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg
530				535				540							
Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met
545				550				555				560			

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
565 570 575

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
580 585 590

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
595 600 605

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
610 615 620

Pro Pro Arg
625

<210> 184

<211> 637

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-4C3 CAR (amino acid)

<400> 184

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu
20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala
35 40 45

Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro
50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
65 70 75 80

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
85 90 95

Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr

115	120	125
Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly		
130	135	140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile		
145	150	155
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu		
165	170	175
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met		
180	185	190
Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp		
195	200	205
Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly		
210	215	220
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu		
225	230	235
Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr		
245	250	255
Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser		
260	265	270
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln		
275	280	285
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser		
290	295	300
Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys		
305	310	315
Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala		
325	330	335
Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys		
340	345	350
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
355	360	365

Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
370 375 380

Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg
385 390 395 400

Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr
405 410 415

Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
420 425 430

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
435 440 445

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
450 455 460

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
465 470 475 480

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
485 490 495

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
500 505 510

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
515 520 525

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
530 535 540

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
545 550 555 560

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
565 570 575

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
580 585 590

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
595 600 605

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

610 615 620
 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 625 630 635
 <210>
 185
 <211> 647
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> AIO-4C4 CAR (amino acid)
 <400> 185
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu
 20 25 30
 Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala
 35 40 45
 Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
 65 70 75 80
 Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
 85 90 95
 Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr
 115 120 125
 Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160
 Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 165 170 175

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
180 185 190

Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
195 200 205

Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala
210 215 220

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
225 230 235 240

Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
245 250 255

Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr Gln
260 265 270

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly
305 310 315 320

Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln
325 330 335

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr
340 345 350

Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
355 360 365

Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys
370 375 380

Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu
385 390 395 400

Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr
405 410 415

Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro

				420				425				430			
Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro
435				440				445							
Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu
450				455				460							
Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys
465				470				475				480			
Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly
485				490				495							
Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val
500				505				510							
Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu
515				520				525							
Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp
530				535				540							
Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn
545				550				555				560			
Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg
565				570				575							
Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly
580				585				590							
Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu
595				600				605							
Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu
610				615				620							
Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His
625				630				635				640			
Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg									
645															

<210> 186

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-5C1 CAR (amino acid)

<400> 186

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

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

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

50 55 60

Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala

85 90 95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly

115 120 125

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu

130 135 140

Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu

145 150 155 160

Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp

165 170 175

Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly

180 185 190

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

195 200 205

Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn

210				215				220							
Thr	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Ala	Pro
225				230				235				240			
Gly	Cys	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Arg	Ser	Ala	Asp	Tyr	Arg	Asn	Trp	Gly
245				250				255							
Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val
260				265				270							
Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln	Thr	Leu
275				280				285							
Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Ala	Ser	Ile	Thr	Thr	Gly	Glu	Phe
290				295				300							
Tyr	Trp	Asn	Trp	Phe	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
305				310				315				320			
Gly	Ala	Ile	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Thr	Tyr	Ser	Pro	Ser	Phe	Glu
325				330				335							
Ser	Arg	Thr	Ser	Ile	Ser	Arg	Asp	Thr	Ser	Glu	Asn	Gln	Phe	Tyr	Leu
340				345				350							
Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gly
355				360				365							
Arg	Ser	Phe	Gly	Val	Ala	Ala	Val	Thr	Thr	Gly	Gln	Asn	Arg	Gly	Gln
370				375				380							
Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro
385				390				395				400			
Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu
405				410				415							
Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg
420				425				430							
Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly
435				440				445							
Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys
450				455				460							

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
465 470 475 480

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
485 490 495

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
500 505 510

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
515 520 525

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
530 535 540

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
545 550 555 560

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
565 570 575

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
580 585 590

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615

<210> 187

<211> 627

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-5C2 CAR (amino acid)

<400> 187

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

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

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

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

 225 230 235 240
 Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp
 245 250 255
 Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 260 265 270
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 275 280 285

Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val

290 295 300

Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg

305 310 315 320

Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala

370 375 380

Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val

385 390 395 400

Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala

405 410 415

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu

465 470 475 480

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln

485 490 495

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly

500 505 510

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr

515 520 525

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

530 535 540
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met

545 550 555 560
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu

565 570 575
Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

580 585 590
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu

595 600 605
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu

610 615 620
Pro Pro Arg

625

<210> 188

<211> 637

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-5C3 CAR (amino acid)

<400> 188

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

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45
Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala

85 90 95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly

115 120 125

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

145 150 155 160

Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly

165 170 175

Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly

180 185 190

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

195 200 205

Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn

210 215 220

Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp

225 230 235 240

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala

245 250 255

Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr

260 265 270

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

275 280 285

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser

340 345 350
Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Glu Asn

355 360 365
Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

370 375 380
Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln

385 390 395 400
Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr

405 410 415
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln

420 425 430
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala

435 440 445
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala

450 455 460
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr

465 470 475 480
Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln

485 490 495
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser

500 505 510
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys

515 520 525
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln

530 535 540
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

545 550 555 560
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

565 570 575
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

580 585 590

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635

<210> 189

<211> 647

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-5C4 CAR (amino acid)

<400> 189

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val

145 150 155 160
 Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 165 170 175
 Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe
 180 185 190
 Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln
 195 200 205
 Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
 210 215 220

 Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr
 225 230 235 240
 Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly
 245 250 255
 Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln
 260 265 270
 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 275 280 285

 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
 290 295 300
 Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu
 305 310 315 320
 Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp
 325 330 335
 Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala
 340 345 350

 Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg
 355 360 365
 Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu
 370 375 380
 Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser
 385 390 395 400

Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr
 405 410 415

 Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
 420 425 430
 Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
 435 440 445
 Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
 450 455 460
 Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
 465 470 475 480

 Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
 485 490 495
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 500 505 510
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 515 520 525
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 530 535 540

 Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 545 550 555 560
 Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 565 570 575
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 580 585 590
 Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 595 600 605

 Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 610 615 620
 Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 625 630 635 640
 Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

645

<210> 190

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-6C1 CAR (amino acid)

<400> 190

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg

35 40 45

Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly

85 90 95

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser

115 120 125

Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln

145 150 155 160

Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn

165 170 175

Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg

180 185 190

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

195 200 205
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn
 210 215 220
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met
 225 230 235 240
 Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser
 245 250 255
 Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 260 265 270

 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu
 275 280 285
 Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala
 290 295 300
 Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro
 305 310 315 320
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
 325 330 335

 Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
 340 345 350
 Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr
 370 375 380
 Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400

 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 405 410 415
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 420 425 430
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
 435 440 445

Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
450 455 460

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
465 470 475 480

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
485 490 495

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
500 505 510

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
515 520 525

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
530 535 540

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
545 550 555 560

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
565 570 575

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
580 585 590

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
595 600 605

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615 620

<210> 191

<211> 634

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-6C2 CAR (amino acid)

<400> 191

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

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

20	25	30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg		
35	40	45
Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
50	55	60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr		
65	70	75
		80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly		
85	90	95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr		
100	105	110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser		
115	120	125
Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly		
130	135	140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly		
145	150	155
Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala		
165	170	175
Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala		
180	185	190
Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly		
195	200	205
Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu		
210	215	220
Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro		
225	230	235
Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu		
245	250	255
Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln		
260	265	270

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
275 280 285

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr
290 295 300

Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu
305 310 315 320

Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
325 330 335

Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe
340 345 350

Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Glu Asn Gln Phe Tyr
355 360 365

Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
370 375 380

Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly
385 390 395 400

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala
405 410 415

Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
420 425 430

Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
435 440 445

Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
450 455 460

Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
465 470 475 480

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
485 490 495

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
500 505 510

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg

515
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
530 535 540
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
545 550 555 560
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
565 570 575
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
580 585 590

Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His
595					600					605					
Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp
610					615					620					
Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg						
625					630										
<210>	192														
<211>	644														
<212>	PRT														
<213>	Artificial Sequence														
<220><223>	A10-6C3 CAR (amino acid)														
<400>	192														
Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu

1				5						10						15	
His	Ala	Ala	Arg	Pro	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu		
				20					25						30		
Val	Gln	Ala	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg		
				35				40						45			
Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Asn	Met	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys		
				50				55					60				
Glu	Arg	Glu	Phe	Val	Ala	Val	Val	Asp	Trp	Ser	Gly	Gly	Ser	Pro	Tyr		
65					70						75					80	

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly
 85 90 95
 Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser
 115 120 125
 Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 130 135 140
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
 145 150 155 160
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
 165 170 175
 Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly
 180 185 190
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile
 195 200 205
 Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
 210 215 220
 Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
 225 230 235 240
 Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala
 245 250 255
 Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp
 260 265 270
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 275 280 285
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 290 295 300
 Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr
 305 310 315 320
 Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe

325 330 335
 Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala
 340 345 350
 Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile
 355 360 365
 Ser Arg Asp Thr Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val
 370 375 380
 Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val

 385 390 395 400
 Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 405 410 415
 Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 420 425 430
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 435 440 445
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala

 450 455 460
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 465 470 475 480
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 485 490 495
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 500 505 510
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly

 515 520 525
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 530 535 540
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 545 550 555 560
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 565 570 575

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

580 585 590
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 595 600 605
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 610 615 620
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 625 630 635 640
 Leu Pro Pro Arg

<210> 193

<211> 654

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-6C4 CAR (amino acid)

<400> 193

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

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

115	120	125	
Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly			
130	135	140	
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly			
145	150	155	160
Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala			
165	170	175	
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser			
180	185	190	
Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu			
195	200	205	
Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp			
210	215	220	
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr			
225	230	235	240
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr			
245	250	255	
Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala			
260	265	270	
Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly			
275	280	285	
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
290	295	300	
Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys			
305	310	315	320
Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile			
325	330	335	
Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys			
340	345	350	
Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr			
355	360	365	

Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Glu

370

375

380

Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala

385

390

395

400

Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly

405

410

415

Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr

420

425

430

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

435

440

445

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

450

455

460

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp

465

470

475

480

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile

485

490

495

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys

500

505

510

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

515

520

525

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val

530

535

540

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

545

550

555

560

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val

565

570

575

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

580

585

590

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

595

600

605

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

610 615 620
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys

625 630 635 640
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

645 650

<210> 194

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-7C1 CAR (amino acid)

<400> 194

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

145 150 155 160

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

 Asn Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
 225 230 235 240
 Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly
 245 250 255
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
 260 265 270
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu
 275 280 285

 Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe
 290 295 300
 Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 305 310 315 320
 Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu
 325 330 335
 Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu
 340 345 350

 Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly
 355 360 365
 Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln
 370 375 380
 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
 385 390 395 400
 Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

405 410 415
 Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
 420 425 430
 Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
 435 440 445
 Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
 450 455 460
 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
 465 470 475 480

 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 485 490 495
 Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 500 505 510
 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 515 520 525
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 530 535 540

 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 545 550 555 560
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 565 570 575
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 580 585 590
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 595 600 605

 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 610 615
 <210> 195
 <211> 627
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-7C2 CAR (amino acid)

<400> 195

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu

145 150 155 160

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu

165 170 175

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn

225 230 235 240
 Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp
 245 250 255
 Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 260 265 270
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 275 280 285
 Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val

 290 295 300
 Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg
 305 310 315 320
 Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser
 325 330 335
 Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser
 340 345 350
 Arg Asp Thr Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr

 355 360 365
 Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala
 370 375 380
 Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
 385 390 395 400
 Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
 405 410 415
 Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg

 420 425 430
 Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
 435 440 445
 Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
 450 455 460
 Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
 465 470 475 480

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln

485 490 495

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly

500 505 510

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

580 585 590

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu

595 600 605

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu

610 615 620

Pro Pro Arg

625

<210> 196

<211> 637

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-7C3 CAR (amino acid)

<400> 196

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn

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

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

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

 225 230 235 240
 Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 245 250 255
 Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 260 265 270
 Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 275 280 285

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro

290

295

300

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

305

310

315

320

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

325

330

335

Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser

340

345

350

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

355

360

365

Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

370

375

380

Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln

385

390

395

400

Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr

405

410

415

Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln

420

425

430

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

435

440

445

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala

450

455

460

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr

465

470

475

480

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln

485

490

495

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

500

505

510

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys

515

520

525

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

530 535 540
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

545 550 555 560
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

565 570 575
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

580 585 590
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly

595 600 605
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

610 615 620
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

625 630 635

<210> 197

<211> 647

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-7C4 CAR (amino acid)

<400> 197

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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

 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 225 230 235 240
 Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp
 245 250 255
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln
 260 265 270
 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 275 280 285

 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
 290 295 300
 Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu
 305 310 315 320
 Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp
 325 330 335
 Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala

				340						345					350				
Ile	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Thr	Tyr	Ser	Pro	Ser	Phe	Glu	Ser	Arg				
		355						360					365						
Thr	Ser	Ile	Ser	Arg	Asp	Thr	Ser	Glu	Asn	Gln	Phe	Tyr	Leu	Gln	Leu				
	370						375				380								
Ser	Ser	Val	Thr	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Arg	Ser				
385					390					395					400				
Phe	Gly	Val	Ala	Ala	Val	Thr	Thr	Gly	Gln	Asn	Arg	Gly	Gln	Gly	Thr				
				405					410					415					
Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro				
		420						425					430						
Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro				
	435						440				445								
Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu				
	450					455				460									
Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys				
465					470					475					480				
Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly				
			485						490					495					
Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val				
		500							505				510						
Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu				
	515						520				525								
Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp				
	530					535				540									
Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn				
545					550					555					560				
Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg				
			565						570				575						
Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly				
	580							585					590						

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
595 600 605

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
610 615 620

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
625 630 635 640

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
645

<210> 198

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-8C1 CAR (amino acid)

<400> 198

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn
35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr
65 70 75 80

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala
85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu
115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val

130 135 140

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

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

 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro
 325 330 335

 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 340 345 350
 Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln
 370 375 380

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
435 440 445

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
450 455 460

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
465 470 475 480

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
485 490 495

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
500 505 510

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
515 520 525

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
530 535 540

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
545 550 555 560

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
565 570 575

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
580 585 590

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615

<210> 199

<211> 627

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-8C2 CAR (amino acid)

<400> 199

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp

180 185 190

Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala

195 200 205

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

210 215 220

Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu

225 230 235 240

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

245 250 255

Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr

260 265 270

Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

275 280 285

Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

290 295 300

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

305 310 315 320

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

325 330 335

Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

340 345 350

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

355 360 365

Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

370 375 380

Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val

385 390 395 400

Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala

405 410 415

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu

465 470 475 480
Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln

485 490 495
Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly

500 505 510
Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr

515 520 525
Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg

530 535 540
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met

545 550 555 560
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu

565 570 575
Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

580 585 590
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu

595 600 605
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu

610 615 620
Pro Pro Arg

625

<210> 200

<211> 637

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-8C3 CAR (amino acid)

<400> 200

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Ser Pro

210 215 220

Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Glu Asn Gln

225 230 235 240

Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr

245 250 255

Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr Thr Gly Gln Asn

260 265 270
Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

275 280 285
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu

290 295 300
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys

305 310 315 320
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg

325 330 335
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly

340 345 350
Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile

355 360 365
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu

370 375 380
Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr

385 390 395 400
Leu Thr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr

405 410 415
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln

420 425 430
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala

435 440 445
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala

450 455 460
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr

465 470 475 480
Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln

485 490 495
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser

500 505 510

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
515 520 525
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
530 535 540
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
545 550 555 560
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
565 570 575
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
580 585 590
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
595 600 605
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
610 615 620
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
625 630 635
<210> 201
<211> 647
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> AIO-8C4 CAR (amino acid)
<400> 201
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn
35 40 45
Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr

65				70				75				80			
Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Leu	Asp	Asn	Ala
85				90				95							
Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Thr	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr
100				105				110							
Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Ala	Pro	Gly	Cys	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu
115				120				125							
Arg	Ser	Ala	Asp	Tyr	Arg	Asn	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val
130				135				140							
Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
145				150				155				160			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly
165				170				175							
Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly
180				185				190							
Ala	Ser	Ile	Thr	Thr	Gly	Glu	Phe	Tyr	Trp	Asn	Trp	Phe	Arg	Gln	Pro
195				200				205							
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Ala	Ile	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser
210				215				220							
Thr	Thr	Tyr	Ser	Pro	Ser	Phe	Glu	Ser	Arg	Thr	Ser	Ile	Ser	Arg	Asp
225				230				235				240			
Thr	Ser	Glu	Asn	Gln	Phe	Tyr	Leu	Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Pro	Glu
245				250				255							
Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Arg	Ser	Phe	Gly	Val	Ala	Ala	Val
260				265				270							
Thr	Thr	Gly	Gln	Asn	Arg	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser
275				280				285							
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
290				295				300							
Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val
305				310				315				320			

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
325 330 335

Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
340 345 350

Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro Tyr Tyr
355 360 365

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
370 375 380

Asn Met Leu Tyr Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
385 390 395 400

Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln Gly Thr
405 410 415

Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
420 425 430

Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
435 440 445

Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
450 455 460

Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
465 470 475 480

Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
485 490 495

Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
500 505 510

Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
515 520 525

Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
530 535 540

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
545 550 555 560

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg

565 570 575
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 580 585 590

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 595 600 605

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 610 615 620

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 625 630 635 640

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 645

<210> 202

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-9C1 CAR (amino acid)

<400> 202

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
 35 40 45

Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60
 Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly
 85 90 95

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp Ser

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

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

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

305 310 315 320
Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp
325 330 335
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr
340 345 350
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr

355 360 365
Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala

370 375 380
Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
385 390 395 400
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
405 410 415
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
420 425 430
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr

435 440 445
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
450 455 460
Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
465 470 475 480
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
485 490 495
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

500 505 510
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
515 520 525
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
530 535 540
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
545 550 555 560
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

565 570 575
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
580 585 590
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
595 600 605

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

610

615

620

<210> 203

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-10C1 CAR (amino acid)

<400> 203

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala

35

40

45

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

50

55

60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr

65

70

75

80

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr

85

90

95

Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp

100

105

110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr

115

120

125

Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly

130

135

140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val

145

150

155

160

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile

165

170

175

Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu

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

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

 305 310 315 320
 Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 340 345 350
 Gly Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp

 370 375 380
 Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 405 410 415
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

465 470 475 480

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp

485 490 495

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

<210> 204

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-11C1 CAR (amino acid)

<400> 204

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

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

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

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

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

 245 250 255

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

 305 310 315 320
 Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Val Asp
 325 330 335
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ala Lys Asn Thr
 340 345 350
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr
 355 360 365
 Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala

 370 375 380
 Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 405 410 415
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 420 425 430
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr

 435 440 445
 Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
 450 455 460
 Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
 465 470 475 480
 Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
 485 490 495
 Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

500 505 510
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 515 520 525
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 530 535 540
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 545 550 555 560
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

565 570 575
 Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 580 585 590
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 595 600 605
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 610 615 620

<210> 205

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-12C1 CAR (amino acid)

<400> 205

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

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

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

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

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

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

 305 310 315 320
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
 325 330 335

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
340 345 350
Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp
355 360 365
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr
370 375 380
Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
385 390 395 400
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
405 410 415
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
420 425 430
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
435 440 445
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
450 455 460
Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
465 470 475 480
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
485 490 495
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
500 505 510
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
515 520 525
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
530 535 540
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
545 550 555 560
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
565 570 575
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

580 585 590
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 595 600 605
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 610 615 620
 <210> 206
 <211> 624
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> A10-13C1 CAR
 <400> 206
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn
 35 40 45
 Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60

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

 Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
 130 135 140
 Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro
 145 150 155 160
 Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser

165 170 175
 Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln
 180 185 190

 Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly
 195 200 205
 Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg
 210 215 220
 Asp Thr Ser Glu Asn Gln Phe Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro
 225 230 235 240
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala
 245 250 255

 Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 260 265 270
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 275 280 285
 Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320

 Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 340 345 350
 Gly Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp
 370 375 380

 Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

465 470 475 480

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp

485 490 495

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

<210> 207

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-100 CAR (amino acid)

<400>

207

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

				245				250				255			
Val	Thr	Thr	Gly	Gln	Asn	Arg	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
260				265				270							
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly
275				280				285							
Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly
290				295				300							
Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr	Pro	Met	Thr	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly
305				310				315				320			
Lys	Gly	Leu	Glu	Ser	Val	Ser	Asp	Ile	Thr	Ser	Gly	Gly	Asp	Arg	Pro
325				330				335							
Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn
340				345				350							
Ala	Lys	Asn	Met	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp
355				360				365							
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Thr	Trp	Asp	Arg	Thr	Leu	Trp	Gly	Gln
370				375				380							
Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro
385				390				395				400			
Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu
405				410				415							
Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg
420				425				430							
Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly
435				440				445							
Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys
450				455				460							
Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg
465				470				475				480			
Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro
485				490				495							

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
500 505 510

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
515 520 525

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
530 535 540

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
545 550 555 560

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
565 570 575

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
580 585 590

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615

<210> 208

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-133 CAR (amino acid)

<400> 208

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

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn
35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

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

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

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

 195 200 205
 Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg
 210 215 220
 Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala
 225 230 235 240
 Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala
 245 250 255
 Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

 260 265 270
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320

Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro

325 330 335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

340 345 350

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

355 360 365

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln

370 375 380

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro

385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

435 440 445

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

500 505 510

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu

515 520 525

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

530 535 540

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

545 550 555 560

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr

565 570 575
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp

580 585 590
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala

595 600 605
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

610 615

<210> 209

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huAI0-167 CAR (amino acid)

<400> 209

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

130 135 140

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

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
275 280 285
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
290 295 300
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly
305 310 315 320
Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro
325 330 335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
340 345 350
Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
355 360 365
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln
370 375 380
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro

385					390					395					400
Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu
				405				410				415			
Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg
				420				425				430			
Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly
				435				440				445			
Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys
450				455				460							
Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg
465				470				475				480			
Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro
				485				490				495			
Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser
				500				505				510			
Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu
515				520				525							
Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg
530				535				540							
Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln
545				550				555				560			
Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr
				565				570				575			
Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp
580				585				590							
Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala
595				600				605							
Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg							
610				615											
<210>	210														
<211>	624														

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-180 CAR (amino acid)

<400> 210

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro

145 150 155 160

Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser

165 170 175

Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly

195 200 205

Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg

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

 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

 340 345 350
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp
 370 375 380
 Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile

 405 410 415
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 420 425 430
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
 435 440 445
 Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
 450 455 460

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

465 470 475 480

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp

485 490 495

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

<210> 211

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huAIO-203 CAR (amino acid)

<400> 211

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn

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

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

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

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

 275 280 285

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 340 345 350
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp
 370 375 380
 Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 405 410 415
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 420 425 430
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
 435 440 445
 Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
 450 455 460
 Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
 465 470 475 480
 Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
 485 490 495
 Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 500 505 510
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 515 520 525
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

530 535 540
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 545 550 555 560
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
 565 570 575
 Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 580 585 590
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

 595 600 605
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 610 615 620
 <210> 212
 <211> 624
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> huA10-213 CAR (amino acid)
 <400> 212
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val

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

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

115 120 125
 Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 130 135 140
 Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro

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

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

 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

 340 345 350
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp
 370 375 380
 Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 405 410 415
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 420 425 430
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
 435 440 445
 Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
 450 455 460
 Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
 465 470 475 480
 Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
 485 490 495
 Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 500 505 510
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 515 520 525
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 530 535 540
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 545 550 555 560
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
 565 570 575
 Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 580 585 590
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 595 600 605
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

610 615 620

<210> 213

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huAI0-217 CAR (amino acid)

<400> 213

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro

145 150 155 160

Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser

165 170 175

Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly

195 200 205
Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg

210 215 220
Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala
225 230 235 240

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

Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

275 280 285
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
290 295 300

Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
305 310 315 320

Lys Gly Leu Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
325 330 335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

340 345 350
Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp
355 360 365

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp
370 375 380

Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
385 390 395 400

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

405 410 415
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
420 425 430

Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
435 440 445

Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
450 455 460
Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
465 470 475 480
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
485 490 495
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
500 505 510
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
515 520 525
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
530 535 540
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
545 550 555 560
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
565 570 575
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
580 585 590
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
595 600 605
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615 620
<210> 214
<211> 624
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> huA10-227 CAR (amino acid)
<400> 214
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

20 25 30
 Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala
 35 40 45
 Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
 65 70 75 80
 Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
 85 90 95
 Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr
 115 120 125
 Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 145 150 155 160
 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile
 165 170 175
 Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 180 185 190
 Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr
 195 200 205
 Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys
 210 215 220
 Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
 225 230 235 240
 Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg
 245 250 255
 Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

275 280 285

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

290 295 300

Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly

305 310 315 320

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

325 330 335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

340 345 350

Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

355 360 365

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp

370 375 380

Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

465 470 475 480

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp

485 490 495

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

500 505 510

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

515 520 525
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

530 535 540
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
545 550 555 560
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
565 570 575
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
580 585 590
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

595 600 605
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615 620

<210> 215

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-230 CAR (amino acid)

<400> 215

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

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

85

90

95

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

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

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

 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

340 345 350
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp
 370 375 380
 Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile

 405 410 415
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 420 425 430
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
 435 440 445
 Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
 450 455 460
 Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

 465 470 475 480
 Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
 485 490 495
 Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 500 505 510
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 515 520 525
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

 530 535 540
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 545 550 555 560
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
 565 570 575
 Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 580 585 590

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

595

600

605

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

610

615

620

<210> 216

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-240 CAR (amino acid)

<400> 216

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala

35

40

45

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

50

55

60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr

65

70

75

80

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr

85

90

95

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

100

105

110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr

115

120

125

Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly

130

135

140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val

145

150

155

160

Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile

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

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

 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

 340 345 350
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp
 370 375 380
 Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile

 405 410 415

Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
420 425 430

Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
435 440 445

Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
450 455 460

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

465 470 475 480

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
485 490 495

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
500 505 510

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
515 520 525

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

530 535 540

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
545 550 555 560

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
565 570 575

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
580 585 590

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

595 600 605

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615 620

<210> 217

<211> 624

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-243 CAR (amino acid)

<400> 217

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

245 250 255
 Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 260 265 270
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Phe Val Ala Val Val Asp Trp Ser Gly Gly Ser Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

 340 345 350
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Arg Val Gln Tyr Gly Ser Ser Trp
 370 375 380
 Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile

 405 410 415
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 420 425 430
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
 435 440 445
 Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
 450 455 460
 Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

 465 470 475 480
 Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
 485 490 495

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
500 505 510
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
515 520 525
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
530 535 540
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
545 550 555 560
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
565 570 575
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
580 585 590
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
595 600 605
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615 620
<210> 218
<211> 617
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> huA10-267 CAR (amino acid)
<400> 218
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
20 25 30
Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn
35 40 45
Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr
65 70 75 80

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro

145 150 155 160

Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser

165 170 175

Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly

195 200 205

Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg

210 215 220

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

225 230 235 240

Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala

245 250 255

Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly

275 280 285

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

290 295 300

Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly

305 310 315 320

Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro

325 330 335
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

340 345 350
Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

355 360 365
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Trp Gly Gln

370 375 380
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro

385 390 395 400
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

405 410 415
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

420 425 430
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

435 440 445
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys

450 455 460
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg

465 470 475 480
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro

485 490 495
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

500 505 510
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu

515 520 525
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

530 535 540
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

545 550 555 560
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr

565 570 575

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
580 585 590

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615

<210> 219
<211> 617
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> huA10-300 CAR (amino acid)
<400> 219

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn
35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr
65 70 75 80

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser
85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu
115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro

145 150 155 160
 Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser
 165 170 175
 Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln
 180 185 190
 Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly
 195 200 205
 Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg
 210 215 220

 Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala
 225 230 235 240
 Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala
 245 250 255
 Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 260 265 270
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 275 280 285

 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 340 345 350

 Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln
 370 375 380
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
 385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
435 440 445

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
450 455 460

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
465 470 475 480

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
485 490 495

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
500 505 510

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
515 520 525

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
530 535 540

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
545 550 555 560

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
565 570 575

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
580 585 590

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615

<210> 220

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-333 CAR (amino acid)

<400> 220

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser

85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu

115 120 125

Arg Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro

145 150 155 160

Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser

165 170 175

Gly Ala Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly

195 200 205

Ser Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg

210 215 220

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

225 230 235 240

Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala

245 250 255

Val Thr Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro

325 330 335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

340 345 350

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

355 360 365

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln

370 375 380

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro

385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

435 440 445

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys

450 455 460

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

465 470 475 480
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro

485 490 495

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

500 505 510

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr

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

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

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

610

<210> 221

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huAI0-433 CAR (amino acid)

<400> 221

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala

35 40 45

Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro
50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
65 70 75 80

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr
115 120 125

Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile
165 170 175

Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190

Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr
195 200 205

Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys
210 215 220

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg
245 250 255

Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
275 280 285

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

290	295	300	
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly			
305	310	315	320
Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro			
	325	330	335
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn			
	340	345	350
Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp			
	355	360	365
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Trp Gly Gln			
	370	375	380
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro			
385	390	395	400
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu			
	405	410	415
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg			
	420	425	430
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly			
	435	440	445
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys			
	450	455	460
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg			
465	470	475	480
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro			
	485	490	495
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser			
	500	505	510
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu			
	515	520	525
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg			
	530	535	540

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
545 550 555 560

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
565 570 575

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
580 585 590

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615

<210> 222

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-467 CAR (amino acid)

<400> 222

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu
20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala
35 40 45

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

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
65 70 75 80

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr

115	120	125	
Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly			
130	135	140	
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val			
145	150	155	160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile			
165	170	175	
Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly			
180	185	190	
Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr			
195	200	205	
Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys			
210	215	220	
Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala			
225	230	235	240
Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg			
245	250	255	
Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
260	265	270	
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly			
275	280	285	
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly			
290	295	300	
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly			
305	310	315	320
Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro			
325	330	335	
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn			
340	345	350	
Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp			
355	360	365	

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln

370 375 380

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro

385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

435 440 445

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

500 505 510

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu

515 520 525

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

530 535 540

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

545 550 555 560

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

[illegible]

Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr
195 200 205

Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys
210 215 220

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg
245 250 255

Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
260 265 270

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
275 280 285

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
290 295 300

Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly
305 310 315 320

Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro
325 330 335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
340 345 350

Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
355 360 365

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln
370 375 380

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
385 390 395 400

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
405 410 415

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
420 425 430

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

435 440 445
 Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
 450 455 460
 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
 465 470 475 480
 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 485 490 495
 Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 500 505 510

 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 515 520 525
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 530 535 540
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 545 550 555 560
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 565 570 575

 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 580 585 590
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 595 600 605
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 610 615
 <210> 224
 <211> 617
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> huA10-600 CAR (amino acid)
 <400> 224
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

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

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

 195 200 205
 Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys
 210 215 220
 Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
 225 230 235 240
 Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg
 245 250 255
 Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

260 265 270
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro

 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 340 345 350
 Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Trp Gly Gln
 370 375 380
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro

 385 390 395 400
 Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
 405 410 415
 Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
 420 425 430
 Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
 435 440 445
 Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys

 450 455 460
 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
 465 470 475 480
 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 485 490 495
 Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 500 505 510

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu

515 520 525

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

530 535 540

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

545 550 555 560

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

610 615

<210> 225

<211> 617

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-633 CAR (amino acid)

<400> 225

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala

35 40 45

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

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr

	85	90	95
Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp			
	100	105	110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr			
	115	120	125
Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly			
	130	135	140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val			
145	150	155	160
Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile			
	165	170	175
Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly			
	180	185	190
Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr			
	195	200	205
Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys			
	210	215	220
Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala			
225	230	235	240
Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg			
	245	250	255
Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
	260	265	270
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly			
	275	280	285
Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly			
	290	295	300
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly			
305	310	315	320
Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro			
	325	330	335

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 340 345 350
 Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln
 370 375 380
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
 385 390 395 400

 Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
 405 410 415
 Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
 420 425 430
 Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
 435 440 445
 Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
 450 455 460

 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
 465 470 475 480
 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 485 490 495
 Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 500 505 510
 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 515 520 525

 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 530 535 540
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 545 550 555 560
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 565 570 575
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp

580 585 590

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
595 600 605

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615

<210> 226
<211> 617
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> huAIO-667 CAR (amino acid)
<400> 226

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu
20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ala
35 40 45

Ser Ile Thr Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn Trp Phe Arg Gln Pro Pro
50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ala Ala Ser Gly Ser Thr
65 70 75 80

Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Glu Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr
85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Ser Phe Gly Val Ala Ala Val Thr
115 120 125

Thr Gly Gln Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
145 150 155 160

Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile
 165 170 175
 Asn Ser Arg Asn Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 180 185 190
 Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr
 195 200 205
 Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Lys
 210 215 220
 Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
 225 230 235 240
 Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg
 245 250 255
 Ser Ala Asp Tyr Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 260 265 270
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 275 280 285
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 290 295 300
 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Pro Met Thr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly
 305 310 315 320
 Lys Gly Leu Glu Ser Val Ser Asp Ile Thr Ser Gly Gly Asp Arg Pro
 325 330 335
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 340 345 350
 Ala Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 355 360 365
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Thr Leu Thr Gly Gln
 370 375 380
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
 385 390 395 400
 Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

405 410 415
 Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
 420 425 430
 Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
 435 440 445
 Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
 450 455 460
 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg

 465 470 475 480
 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 485 490 495
 Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 500 505 510
 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 515 520 525
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

 530 535 540
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 545 550 555 560
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 565 570 575
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 580 585 590
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala

595 600 605
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

610 615

<210> 227

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-2C1 CAR (nucleic acid)

<400> 227

atggcgcttc cggtagacggc actgctgctg cccctggctt tgctactaca cgccgcccgc	60
cctcagatcc agctggtgga gagcggcggc ggactggtgc agccgggagg ctcgctgct	120
ctttctgtg ccgcttcgg cttcaccttt tcaaattacc caatgacctg gctgcgacag	180
gccccggga agggcctcga gagcgtttcc gacatcactt ctggagggga caggccctat	240
tacgcggaca gcgtcaaggg aaggtttacc atctcgcgcg acaacgcgaa gaacatgctg	300
tacctggaga tgaatagctt gaagaccgaa gatactgcgg tgtactactg tgctacctgg	360
gaccgcaccc tgactggaca gggcacccag gtcacagtct cctctggcgg cggcgggtcg	420
gaggtgcaat tagtggagtc cggccctggt ctcgtgaagc cctcacagac tctgagcctg	480
acctgcactg tatcgggtgc ttctatcacc acaggcgagt tctattgaa ttggttcaga	540
cagccacctg gcaaaggtct ggagtggatg ggcgccatcg cagctagcgg ctccaccacc	600
tactccccct cttttgagag ccgtaccagc atctctcggg acacctccga gaaccagttc	660
tacctgcagc tgtcctcggc cactcccag gacacagccg tgtactattg tgggcgctcc	720
ttcggcgtgg cagctgtgac cacaggacag aaccgcggcc agggcaccca ggtcacctg	780
tcgtccggtg gtggtggctc ccaggttcaa ttggtggaga gtggtggcgg ctctgtgcag	840
gccggcggtt ctctgcgctt gtcacgcggg gcctcgggca acattaaact ccgcaactgc	900
atggggtggt tccgccaggc cccgggcaag gagcgcgagg gcgtcgctgc tatcggtcag	960
gtcacccgtc gcagctacta cgtggattct gttaaaggcc gcttcacgat ttctctcgat	1020
aacgccaaga acacgtctta cttgcagatg aacacgtca agcctgaaga caccgcgatg	1080
tattactgtg ccgcagcgcc ggggtgccctg ctgtccgccc tgcgtagtgc cgactaccgg	1140
aactggggcc aggggaccca ggtgacctg tctccacta gtaccagac gccagcgccg	1200
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg	1260
tgccggccag cggcgggggg cgcagtgac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc	1320
tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc	1380
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga	1440
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaaga	1500
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag	1560
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg	1620
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag	1680
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg	1740
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca	1800

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 228

<211> 1884

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-2C2 CAR (nucleic acid)

<400> 228

atggcccttc cggtagctgc tctgtctgtg cccctggcgc tgctgtcca cgccgtcgc 60

cctcagatcc agctggtgga gagcggaggc ggcttggtgc agccgggagg ctccctgcgc 120

ctgtcatcgc ccgttccgg cttcaccttt tcaaactacc cgatgacctg gctacgacag 180

gccccggca aaggcctgga gagcgtgtct gacatcactt cgggggggga caggccctat 240

tacgcggaca gcgtcaaagg tcgtttcacc atctctcgcg acaacgcaa gaacatgctg 300

tacctcgaga tgaactccct gaagaccgag gacacggcag tctactactg tgccacctgg 360

gaccgcaccc tgaccggaca gggcacgcag gtcaactgtt cctccggtgg cggaggatct 420

ggtggtggtg gctccgaggt gcaactggtg gagagtgggc cgggcttagt taagcccagt 480

cagactctga gcctcacctg taccgtgtcc ggtgcgagca tcaccaccgg cgagttctat 540

tggaaactgt tccgccagcc acccggtgaag ggcttgaat ggatgggagc cattgcagcg 600

tctgggtcta ctactactc cccatccttc gagagccgta caagtatctc gcgggacacc 660

tccgagaacc agttctactt gcagctttct tctgtgacac ctgaggacac cgccgtgtac 720

tactgtgggc gcagttttgg cgttgctgcc gttacgaccg gtcagaaccg cggacagggt 780

accaggttaa ccgtctctc cggcgggtggg ggctccggag gcggaggctc ccaggtgcaa 840

ctggtggagt ctggtggagg gtcggtgcag gccggcggca gcttgcgttt gtcacgagg 900

gcctcgggca acattaaact ccgcaactgc atggggtggt tcagacaggc tcctggcaag 960

gagcgcgagg gcgtggcggc catcgccag gtcaccggcc gctcgtacta cgtggattct 1020

gtgaagggtc gttttacat cagcctggat aacgctaaga atactcttta cctgcagatg 1080

aacacactca agcctgaaga tacggctatg tattactgtg ctgctgcgcc cgggtgcctg 1140

ctcagcgcac ttaggagcgc ggactaccgg aattggggcc agggcaccca ggtcaccgtg 1200

tcgtccacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 1260

tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg gcagtgacac 1320

acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcctttggc cgggacttgt 1380

ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1440

ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1500
 tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 1560
 aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1620

ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccttgagatg 1680
 gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1740
 aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1800
 cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1860
 atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1884

<210> 229
 <211> 1914
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> AIO-2C3 CAR (nucleic acid)
 <400> 229

atggctctgc ccgtgacggc cttgctgctg ccacttgac tgctgctgca cgccgcacgg 60

cctcagatcc agctggtaga gtctggaggg ggtctggtgc agccgggagg ctccctgcgt 120
 ttgtcttgtg ccgcatcggg cttcacgttc agcaactacc ctatgacctg gctgctcag 180
 gctccgggca aaggccttga gagcgtttcc gacatcacgt cgggggggga ccgccctat 240
 tacgcgga gctgaaggg ccgtttcacc atctccggg acaacgcaa gaatatgctg 300
 tacctggaga tgaactccct caagaccgag gacaccgccg tctactactg tgctacctgg 360
 gatcgaactc tgaccggcca gggcaccag gtcaccgtct cttctggtgg cggcggcagt 420
 ggcgcggtg gttccggagg cggcggcagc gaggtgcagt tgggtggagtc tggccctggc 480

ctggttaagc ccagtacagc tctttccctc acctgcaccg tgtccggcgc ctcaattacc 540
 acaggcgagt tctattggaa ttggttccgc cagccccag gaaaggggct ggagtggatg 600
 ggcgccatcg cggcctcggg ctctacgacc tactccccct cttttgagag cggaccagc 660
 atctctcgcg acacctcgga gaaccagttt tatctccagc tctcctctgt aactccgga 720
 gatacagccg tgtactactg cgggaggtcc ttcggtgtgg cggcgggtgac tacaggacag 780
 aaccgcggtc agggcaccca ggtcactgtc tcctcgggtg gggcggtc cgggtggaggc 840
 ggtagcggag gcgggggcag ccaggtgcag ctggtgaaa gtggtggcgg ctccgtgcaa 900

gccggagggt cattacgct gtctgtggc gcttccggca acattaaact ccgcaactgc 960
 atgggctggt tccgccagc tcccggaag gagagagagg gcgtggctgc gatcggtcaa 1020

gtgaccggtc gcagctacta cgtggattct gtcaaaggga ggtttaccat ctgctggac 1080

aacgctaaga acacgcttta cttgcagatg aacactctga agcctgaaga caccgccatg 1140

tattactgtg cggcggcccc ggggtgcctg ctctctgctc tacgctcggc ggactaccgc 1200

aactgggggc agggaaacca ggtcaccgtg agcagcacta gtaccacgac gccagcgccg 1260

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1320

tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1380

tacatctggg cgcccttggc cgggacttgi ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc 1440

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 1500

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1560

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag 1620

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1680

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1740

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1800

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cagcatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1860

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1914

<210> 230

<211> 1944

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-2C4 CAR (nucleic acid)

<400> 230

atggccctgc cggtcacggc tctgtctgtg cccttggcgc tgcttttgca cgccgtcgc 60

cctcagatcc agttggtgga gagcggcggc ggctctgttc agccaggtgg ttccttcgcg 120

ctgagctgtg cggcctctgg ctttacgttc agcaactacc cgatgacctg gctccgtcaa 180

gccccggaa agggctctgga aagcgtctcc gacatcacct ctggcgggtga tcgacctat 240

tacgcgga gctgaaagg ccgcttcacc atttccggg acaacgcaa gaacatgctt 300

tacctggaga tgaacagct gaagaccgag gacacggcgg tgtactactg tgccacctgg 360

gacaggacac tcacaggta gggcaccag gttaccgtgt cgagcggagg cggagggtct 420

ggcggcggcg gctcgggcgg cgggggttcc ggaggcggcg gctcggaggt gcagctagtg 480

gagtcgggac ctggcttggg gaagccatcc cagaccttt cgctgacctg caccgtgtcc 540

ggtgcttcta tcacgaccgg cgagtcttat tggaattggg tccgccagcc gcctggttaag 600

ggcttggagt ggatgggcgc catcgcggt tcgggatcga ccactactc cccctccttc 660
 gtagtctcga ccagcatctc tagggacact tccgagaacc agttctacct ccagctgagc 720
 tcggtcactc cggaggatac tgccgtgtac tattgtgggc gttcctttgg tgtcgcggcc 780
 gtgacaactg gtcagaaccg cggccagggc acccaggtca ccgtgagctc cggcgggtggc 840
 ggctccggcg gcgggggctc aggtggcgga ggatctgggg ggggtggttag tcaggtgcag 900
 ctggtggaga gtgggggggg gtccgtgcag gccggcggtt ctctacggct ttcacggcg 960
 gcttccggca acattaactc ccgcaactgc atgggggtgt tcagacaggc tcccggcaag 1020

 gagcgcgagg gcgtggcggc aatcggacaa gtaactggtc gcagctacta cgtggactca 1080
 gtaaagggcc gttttacat ctctctggac aatgcaaaaa acacgctgta cctgcagatg 1140
 aataccctga agcctgaaga tactgccatg tattactgtg ctgcagcccc cgggtgcctg 1200
 ctgtcagctc tgcgtccgc ggactaccgc aactggggcc aggggaacca ggtcacctc 1260
 agtttacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 1320
 tcgcagcccc tgtccctcgc cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgac 1380
 acgagggggc tggacttcgc ctgtgatac tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt 1440

 ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1500
 ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1560
 ttagctgcc gatttcaga agaagaaga ggaggtgtg aactgagagt gaagttcagc 1620
 aggagcgag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1680
 ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1740
 gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1800
 aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1860

 cacgatggc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1920
 atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1944

 <210> 231
 <211> 1854
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> AIO-3C1 CAR (nucleic acid)
 <400> 231
 atggctctgc cggtagaccg getgtttctg cccctggcgc tctgtctaca cgtgccccg 60
 cctgagggtg agctggtaga gtccggccct ggctgtgtca agccaagtca gacctgtct 120
 ctgacctgca ctgtgagcgg tgcgtccatc acaactggcg agttctattg gaattggttc 180

agacagccgc ccggaagggt cctcgagtgg atgggcgcca tcgccgttc cggctccacg 240

acctacagcc cctcttttga gagccgcacc agcatcagcc gcgacacatc ggagaaccag 300

ttttacctgc agttgtcctc tgtcactccc gaagacaccg cgggtgacta ctgtggacgc 360

tccttcgggg tagcggccgt aaccacagga cagaaccgcg gccaaggac ccaggtcacg 420

gtgtcgtcgg gcggtggtgg ctgcaggtg cagctggtgg agtccggagg cggctccgtg 480

caggccggcg ggtccctcgc tctgtcatgc ggggcctctg gcaacattaa ctcccgaac 540

tgcattgggt ggttcgccca ggccctggc aaggagcgcg agggcgtggc tgccatcggc 600

caagtactg gccgtagcta ctacgtggat tctgtcaaag ggcgcttcac catctctttg 660

gataacgcca agaactctt ttacttcag atgaacacgc tcaagcctga agacaccgcc 720

atgtattact gtgccgtgc acccgggtgc ctgctgtccg ctctccgag cgcggactac 780

aggaactggg gccagggcac ccaggtcacc gtgtcagcg gcggtggtgg ttcacagatc 840

cagctagtgg agtccgtgg aggactggtg cagccaggcg gcagccttcg cctgtcatgt 900

gtgtcgtctg gtttcacgtt ctctaactac ccgatgacct ggctgcgcca ggccccgggc 960

aaaggcctgg agtccgtgtc cgacatcacc tctggagggg acaggcccta ttacgcggac 1020

agcgttaagg gtcggtttac cattagtcgt gacaacgcta agaatatgtt atacctggag 1080

atgaatagcc tgaagaccga ggacactgca gtttattact gtgccacctg ggatcgaact 1140

cttacccgac aggggaccca ggtcaccgtg agttccacta gtaccacgac gccagcgccg 1200

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctcgc cccagaggcg 1260

tgccggccag cggcgggggg cgagtgacac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320

tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tccgtgact ggttatcacc 1380

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa 1500

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1560

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740

atgaaaggcg agcggcgagg gggcaagggg cacgatggcc ttaccagggt tctcagtaca 1800

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 232

<211> 1884

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-3C2 CAR (nucleic acid)

<400> 232

atggctctgc cggtagccgc tctgcttctc ccctggcgt tgctgctgca cgccgcgcgc	60
cctgaggtgc agctggtgga gagcgccct ggcttggtga agccctctca aactctgtcc	120
ctcacctgca ctgtatcagg cgctccatc acaaccggcg agttctattg gaattggttc	180
cgccagccgc cggggaaggg ccttgagtgg atgggggcaa tcgccgcgtc tggatcgacc	240
acctactccc cgtccttcga atcccgacc agcatcagtc gggacacatc ggagaaccag	300
ttttacctcc agttgagctc agtgactccc gaggacactg ccgtgtacta ctgtggtagg	360
tctttcgggtg ttgcggccgt gacaactggt cagaaccgcg ggcagggtac ccagggtgact	420
gtctcttctg gtggcggggg ctcgggaggg ggcgggtccc aggtccagct ggtggagtc	480
ggaggcgga gcgtgcaggc cgccggatcc ctctgtctgt cttgcggtgc ttccggcaac	540
attaattccc gcaactgcat gggctgggtc agacaggccc ctgggaagga gcgcgagggc	600
gtggtgcca tcggtcaggt caccggtcga tctactacg tggactccgt aaaagccgc	660
ttcaccatct cgctggaca cgccaagaac actctttacc tgcagatgaa cacgctcaag	720
cctgaagata cggccatgta ttactgtgct gcagctccc gctgcttgct gtctgctctg	780
cgtagtgcgg actaccggaa ctggggccag ggcacccagg tcacagtgtc ctccggggga	840
ggcggtctg gggcgggcgg gagccaaatt cagctggtgg agagcggcgg cggactggtg	900
cagccaggcg gatccctgcg cctgtcatgt gccgttcgg gcttcacgtt ttctaactac	960
ccaatgacct ggctaccca ggccccggc aaaggtttgg agagcgttc ggacatcacc	1020
tcgggtgggg accgcccta ttacgcgat tctgtcaagg gcaggtttac catcagccgt	1080
gataacgga agaacatgct gtacctggag atgaatagtc tcaagaccga ggacaccgt	1140
gtctactact gtgccacctg ggaccgcacg ctgaccggac agggcaccca ggtcacctg	1200
agctccacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg	1260
tcgcagcccc tgiccttgcg ccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac	1320
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt	1380
ggggtcttc tctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc	1440
ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc	1500
tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc	1560

aggagcgag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1620

ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1680

gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1740

aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1800

cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1860

atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1884

<210> 233

<211> 1914

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-3C3 CAR (nucleic acid)

<400> 233

atggctctgc ctgttactgc tctacttctc ccctggcgcg tgttggtaca cgccgcccg 60

cccgaggtgc agctggtgga gtcggggccc ggcttggtga aaccgagtca gacgtgagt 120

ctgacctgca ccgtgtccgg agctagcatc actaccgggg agttctattg gaactggttc 180

cgacagccgc ctggtaaagg ccttgaatgg atgggcgcca tcgcgccctc cggtcgcacc 240

acctactccc cgtcttttga gageccgacg tctatctccc gggatactc cgagaaccag 300

ttctactccc agctttctgc ggtgactcct gaagacacgg ccgtctacta ctgtgggaga 360

tcttttggtg tggtgctgtg gaccaccggc cagaaccgcg gtcaaggcac ccaggtcacg 420

gtatcctctg gcggcggggg atccggtgga ggcggctccg gtgggggggg atcccaggtg 480

cagctggtgg agagcggcgg cggttctgtg caggcggggg gtcctctgcg cctctcgtgt 540

ggcgcaagcg gcaacatcaa ctcccgaac tgcattgggt ggttccgcca ggccccaggg 600

aaggagcggg agggcgctgc tgcaatcggc caggtcacag gccgctctta ctacgtggac 660

agcgtgaagg gccgttttac tatctctttg gataatgcta agaaccacct gtacctgcag 720

atgaatactc tgaagcctga ggacactgcc atgtattact gtgcagcggc tcccgggtgc 780

ctgctgagcg cgctccgctc agcggactac aggaactggg gccagggcac acaggttacc 840

gtgtccagtg gcggcgggtg ctccggcggc ggtggaagcg gcgggggagg gtctcaaatt 900

cagcttgctc aaagcggcgg tggcctggtg cagccggggc gttccctgcg cctgtcatgc 960

gccgcctccg gttcacgtt ttcaaattac ccaatgacct ggctacgcca ggcacccggt 1020

aagggtctgg agtcggtgct tgacatcacc agcggagggt ataggcccta ttacgcggac 1080

tccgtcaagg gccgcttcac cattagccgt gacaacgcca agaactgct gtacctcgag 1140

atgaactctc tgaagaccga ggacaccgcc gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacc 1200
ctcactggac agggcaccca ggtcacagta tcttcacta gtaccagac gccagcgccg 1260
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1320

tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1380
tacatctggg cgcccttggc ggggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1440
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1500
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttcaga agaagaaga 1560
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1620
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1680
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1740

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1800
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1860
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1914

<210> 234
<211> 1944
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> AIO-3C4 CAR (nucleic acid)
<400> 234

atggccctgc ccgtgactgc tctgtgttg ccctggcg tgcttctgca cgcagcgagg 60
cctgaggtgc agctggtgga gtccggacc gggctggtaa agccctctca gactctttcc 120
ctgacctgca ctgtctcagg cgcttccatc accacagggg agttctattg gaattggttc 180

cgccagccgc ctggcaaagg cttggaatgg atggcgcca tcgcggcttc tgggtcgacc 240
acctactccc cgtcctttga gagtaggact tctatcagcc gcgatactc cgagaaccag 300
ttctacttgc agctgtcatc cgtgactcct gaagacaccg ccgtctacta ctgcgggcgc 360
tcgtttgggtg tggccgccgt tacaaccggc cagaaccgc gccagggcac ccaggtcaca 420
gtgtcctccg gaggaggcgg atctggaggt ggtggttctg gtggcgcggt tcttgccggc 480
ggaggcagcc aggtgcaact ggtggagagt ggggggggct ccgtacaggc cggcggtctt 540
ctgcgcctgt cgtgtggagc atcgggcaac attactccc gcaactgcat ggggtggttc 600

agacaggccc ctggcaagga gcgggagggc gtggcggtta tcggtcaggt taccggccgc 660
agctactacg tggattctgt gaaggcgccg ttcacatct cactggacaa cgccaagaac 720

acgctctacc tgcagatgaa cacgctcaag ccagaggaca ctgccatgta ttactgtgcc 780
gctgtctccg ggtgcctgct gtccgccctg cgttccgcgg actaccggaa ttggggccag 840
ggcactcagg tcaccgtcag cagcgggtggg ggcggcagcg gaggaggtgg aagcgggtggc 900
ggcggctccg ggggtggggg ctctcaaatt cagttgggtgg agagtgggtgg cggcctcgtg 960
cagccagggg gtcctcttcg actgtcgtgt gctgcatccg gcttcacgtt tagcaactat 1020

ccgatgacct ggctacgcca ggctcccggg aagggtcttg agagcgtgag tgacatcacc 1080
tctggcggtg atcgcccta ttacgcggac agcgtaagg gccgttcac catctctcgc 1140
gacaacgcga aaaacatgct ttacctcgag atgaactccc tgaagaccga ggacacggcc 1200
gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacg ctaccggcc agggcaccca ggtcacctg 1260
tcgtccacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 1320
tcgcagcccc tgtcctcgcg ccagaggcg tgcggccag cggcggggg cgagtgac 1380
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatac tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt 1440

ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1500
ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1560
tgtagctgcc gatttcaga agaagaaga ggaggtgtg aactgagagt gaagttcagc 1620
aggagcgag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1680
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1740
gggggaaagc cgagaagaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1800
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcggcgag gggcaagggg 1860

cacgatggcc ttiaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1920
atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1944

<210> 235

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-4C1 CAR (nucleic acid)

<400> 235

atggcgctac cggtagacggc actgtgtctg ccctggcgcg tgctgttgca cgccgtcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtccggggccc ggtctggtta agcctagcca gaccctgtcc 120
ttaacctgca ctgtatctgg cgcattccatc actaccggcg agttctattg gaactggttc 180
agacagccac ccggcaaagg cctcgaatgg atggcgctta tcgcggcctc tggctcgacc 240

acctactccc catcctttga gtcccgacc tctatttcac gggacaccag cgagaaccag 300

ttttatctgc agctctctc tgtgactcct gaggatactg cgggtgacta ctgcgggcga 360

tccttcggag tggccgctgt cacaaccggt cagaaccgcg gacaggggac ccaggtcacc 420

gtgtcgtccg gaggtggggg ttcgcaaatc cagctcgtgg agagtggcgg aggcctgggtg 480

cagccgggag gatcccttcg cctgtcttgt gccgccagcg gctttacatt cagcaactac 540

cccatgacct ggtccgtca ggccccgggc aagggcctgg agtccgtgtc cgacatcacc 600

agcggagggg acaggcccta ttacgcggac tccgtgaagg gccgcttcac catctcgcgc 660

gacaatgcca agaacatgct ttacctggag atgaactccc tgaagacgga agataccgcc 720

gtgtactact gtgccacttg ggatcgtaacc ctaccggcc aaggcactca ggttacgctc 780

tcctctgggt gcggcggtag tcaggtccag ttggttgaga gcgggggcgg ttcagtgcag 840

gcaggtggct cctgcgtct tagctgtggt gcttcggca acattaacag ccgcaactgc 900

atgggctggt tccgccagcg ccctgggaag gagcgggagg gcgtggctgc catcgggcag 960

gtcaccgggc gcagctacta cgtggacagt gtaaaaggcc gattcaccat ctctctggac 1020

aacgcgaaga acactctgta cttgcagatg aacacgctga agcccagga cacggccatg 1080

tattactgtg ctgcggctcc ggggtgccctg ctgtctgccc tgcgctcggc cgactacagg 1140

aattggggcc agggcaccca ggtgacagtc tctagcacta gtaccagac gccagcgccg 1200

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260

tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320

tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1380

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttcaga agaagaaga 1500

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1560

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagta 1800

gccaccaagg acacctagc cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 236

<211> 1884

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-4C2 CAR (nucleic acid)

<400> 236

atggccctcc cagtgcacggc ccttctgctg cctttggctc tgctgttgca cgccgcccgc	60
cctgagggtgc agttgggtgga atctgggccc ggittagtca agccgagcca aactctgagc	120
ctcacctgca cagtttagtgg cgcttccatc accaccggag agttctattg gaattggttt	180
cgccagccac cgggcaaagg cctggagtgg atgggcgcta tcgcggcttc cgggtccacg	240
acctactcgc cctccttcga gtcacgaacc agcatctctc gggacacatc cgagaaccag	300
ttctacctgc agctgtcctc cgtgaccctt gaagatactg cggcttacta ctgtgggcgc	360
tcctttggcg tggcagccgt gactaccggc cagaaccgcg gacagggcac ccaggtcacc	420
gtgtcctctg gcggaggagg ctacgggggc ggtggctcgc agatccagct ggtggagtcg	480
ggaggcgggc tggtagacgc cggcggtctc ctgcgcctgt cctgtgcagc ttcgggcttc	540
acgttcagca actaccgat gacctggctc cgtcaggccc ccggcaaggg tctggagagc	600
gtcagcgaca tcacctccgg gggtagaccg ccctattacg cggattcagt aaagggtcgt	660
tttacaatct cccgcgacaa tgccaagaac atgctgtacc tggagatgaa ctccctcaag	720
accgaggaca ccgcggtcta ctactgtgc acctgggaca ggactctgac cggacagggc	780
acccaggtga ccgttagctc cggcggcggg ggatcggggg gtggtggctc acaggtgcag	840
ctggtggaga gggcggcgg tagcgtgcag gctggcggat cccttagact gtcttcgggg	900
gcctctggca acattaaact tcgcaactgc atgggctggg tccgtcaggc tcccgttaag	960
gagcgggagg gcgtcgtgc tatcggtcag gtgaccgggc gcagctatta cgtggattct	1020
gtgaagggac gcttcacgat ttccctcgac aacgcaaaa acacgcttta cctacagatg	1080
aacaccctaa agcccaggga cactgcgatg tattactgtg ccgcggctcc tgggtgcctg	1140
ctcagtgcct tgaggctgc agactaccga aactggggcc aaggctacta ggtcactgtg	1200
agttcgacta gtaccagac gccagcgccg cgaccacca caccggcgcc caccatcgcg	1260
tcgcagcccc tgtcctctgc ccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac	1320
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt	1380
ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc	1440
ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc	1500
tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc	1560
aggagcgag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat	1620
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg	1680
gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat	1740

aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1800
cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1860
atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1884
<210> 237
<211> 1914
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> AIO-4C3 CAR (nucleic acid)
<400> 237
atggcgctgc ccgtcactgc tctctgctt ccctggccc tgttgctaca cgccgctcgt 60

cccagagtgc agcttgtgga gtcgggaccc ggctcgtaa agccctctca aactttgagc 120
ctgacctgta ctgtctctgg cgctagcatt accacaggcg agttctattg gaactggttc 180
agacagccac cggggaaagg cctagagtgg atgggcgcca tcgcggcttc cgggtccacg 240
acctactcgc cctctttcga gagtcgaacc tctatcagcc gtgacacatc cgagaaccag 300
ttttacctgc agctgagttc cgtgactccg gaggacaccg cagtctacta ctgtgggcgc 360
tccttcggcg tggcagcggc caccaccggc cagaaccgag gccaggggac ccaggtcact 420
gtgagttccg ggggcggagg ctcgggcggc ggcggttccg gcggcggagg ctcccagatc 480

cagctggtgg aaagcggcgg tgggctggtg cagccgggtg gctccttgcg cctgtcatgc 540
gccgcttctg gcttcacctt ttcaaattac ccaatgacct ggctccgcca ggccccgggc 600
aaaggtcttg aatctgtatc tgacatcacc agcggagggg acaggcctta ttacgcggac 660
tccgttaagg gccgcttcac catctcccgg gacaacgcca agaataatgct ctacctggag 720
atgaactccc tgaagactga ggatacggcc gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacc 780
ctgacgggac agggcaccca ggttaccgtg agctctggtg gtggaggttc cggcgggggt 840
ggctccggag gaggcggtag ccaagtgcag ctggtggaga gcggtggcgg ttctgtgcag 900

gccggcggca gcctgcgcct gtcatgcggg gcctcgggca acattaactc ccgcaactgc 960
atggggtggt tccgccaggc tcctggcaag gagcgcgagg gcgtggccgc tatcgccag 1020
gtcaccggcc gaagctacta cgtggattct gtgaagggcc ggtttaccat ctctctggac 1080
aacgcgaaga acactctgta cttgcagatg aacacgtca agcctgaaga caccgccatg 1140
tattactgtg ctgcggcccc tgggtgcctg ctgagcgcgc ttcgtagcgc agattacagg 1200
aactggggcc agggtaccca ggtcacagtg tcctccacta gtaccacgac gccagcgcgc 1260
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg 1320

tgccggccag cggcgggggg cgagtgac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc	1380
tacatctggg cgcccttggc ggggacttgt ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc	1440
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga	1500
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa	1560
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag	1620
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg	1680
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag	1740
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg	1800
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca	1860
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa	1914
<210> 238	
<211> 1944	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AIO-4C4 CAR (nucleic acid)	
<400> 238	
atggccctgc ctgtcacggc cctcctctg cccctggcgc tgttctcca cgccctcgt	60
cccagggtgc agctggtgga gagtgggcca gggttggtga agccctctca gacgcttagt	120
ctgacctgca ctgtatctgg cgcttctatc actaccggcg agttctattg gaattggttc	180
agacagcccc cgggaaaggg tctggaatgg atgggggcta tcgcggcttc cgggtcgacc	240
acctactccc catcctttga gagccgcacc agcatctctc gcgacacctc ggagaaccag	300
ttttacctgc agctgtcttc cgtgaccctt gaagacaccg ccgtgtacta ctgtggacgc	360
tccttcggcg ttgcggcggg gaccacaggc cagaaccgcg gacagggcac tcaggctact	420
gtgagctctg gaggaggagg ctctggcgga ggcggcagcg gtggcggcgg gtctggaggc	480
ggcggtctcc aaattcagct ggtggagtcg ggcggcggcc tggtcagcc gggcggtagt	540
ctacgcctgt catgtgccgc ctcgggcttt acgttcagca actaccctat gacctggctc	600
cgccaggccc ctggcaaagg gctggagagt gtttccgaca tcaccagcgg tggatagagg	660
ccctattacg cggacagcgt caagggccgc ttcacgatct cgcgggacaa cgcaaaaac	720
atgctgtacc tggagatgaa ctcccttaag accgaggata ctgccgtgta ctactgtgcc	780
acctgggaca ggactctcac cggccaggga acccaggtca ccgtgtcgtc cgggtgggggt	840
ggttctggcg gtggcggtc cgcggggggc ggctccgggg gggcgggctc acaggtgcag	900
cttgtggaga gcggcggagg ctccgtgcag gcaggtggct ccttacgatt gtcatgcggg	960

gcctcaggca acattaactc ccgcaactgc atgggctggt tccgccaggc cccgggcaag 1020

gagcgcgagg gcgtggctgc catcggtcag gtcacaggtc gtagctacta cgtggattct 1080

gttaagggcc gcttcacat ctccttggac aatgccaaga acactcttta cctccagatg 1140

aacacgctga agccggagga cactgccatg tattactgtg ctgctgcacc cgggtgcctg 1200

ctgtccgcc tgcgcagcgc ggactaccgg aactggggcc aaggcaccca ggtcacctgc 1260

tcctccacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 1320

tgcgagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg gcagtgacac 1380

acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt 1440

ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1500

ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1560

tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 1620

aggagcgag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1680

ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1740

gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1800

aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1860

cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1920

atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1944

<210> 239

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-5C1 CAR (nucleic acid)

<400> 239

atggctctgc ccgtcacggc tttactgttg cccttgccgc tgctgtgca cgccgcacgg 60

ccacaaattc agctggtaga gagtggaggc ggctctgtgc agccgggcgg ctgctgcgc 120

ctttctgtg ctgcttcgg cttcacattt tcaaattacc cgatgacctg gctacggcag 180

gccccgggaa agggcttgga gagcgtgtcc gacatcacct ctggaggtga ccgtccctat 240

tacgcggaca gcgtgaaggg ccgcttcacc atctctctgt acaacgcgaa aaacatgctg 300

tacctggaga tgaactccct gaagaccgag gacactgccg tctactactg tgcgacctgg 360

gaccgcactc tcaactggta gggcacccag gtcacagttt cttctggggg gggaggctcc 420

caggtccaac tgggtggagag cgggtggtggc tccgtgcagg ccggcggatc tcttcgtctg 480

tcatgcgggg cticcggcaa catcaactcc cgcaactgca tgggctgggt cagacaggcc 540
cccggcaagg agcgcgaggg cgtggcggca atcggtcagg tgaccggtcg cagctactac 600
gtggattctg tgaaggttag gtttaccatt agcttggata acgccaagaa cacgctttac 660

ctgcagatga acacgctcaa gcctgaggac accgcatgt attactgtgc ggctgcaccc 720
gggtgcctgc tctcggccct acggagtgcg gactacagga attggggcca gggcaccag 780
gtcacggtat cctctggcgg gggcgggttcg gaggtgcagt tggaggagag cggccctggc 840
ctggtgaagc cctctcagac tctgtctctg acctgcaccg tgtccggtcg ttccatcacc 900
acaggcgagt tctattggaa ctggttccgc cagccacctg ggaagggtt agaatggatg 960
ggcgccatcg cggcctccgg ctccacgacc tactccccgt ccttcgaatc ccgaactagc 1020
atctcgcgcg acaccagcga gaaccagttt tacttgcagc tgagcagtg tactcctgaa 1080

gataccgccg tgtactactg tgggcgctcc ttcggcgtgg ctgccgttac caccggccag 1140
aaccgcggac agggcaccca ggtgaccgtc agctcgacta gtaccagac gccagcgccg 1200
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260
tgccggccag cggcgggggg cgagtgacac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320
tacatctggg cgccttggc cgggacttgi ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1380
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 1440
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttcaga agaagaagaa 1500

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag 1560
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1680
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740
atgaaaggcg agcgcgggag gggcaagggg cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca 1800
gccaccaagg acacctagc cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 240

<211> 1884

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-5C2 CAR (nucleic acid)

<400> 240

atggccctgc ctgttactgc gctcctactg cccttggtc tgcgtttgca cgccgccgt 60
cctcagatcc agctagtgga gtctggcggg ggtctggtgc agccagggg cagccttcgc 120

ttgtcctgtg ctgcttctgg ctttacgttc agcaactacc cgatgacctg gctccgcca	180
gctccccgca aaggactgga gagcgtgtcc gacatcactt cgggggggga caggccctat	240
tacgcggaca gcgtgaaggg ccgcttcacc atttctcgtg acaacgcaa gaacatgctg	300
tacctggaga tgaactcctt aaagaccgag gatacggccg tctactactg tgccacctgg	360
gaccgcactc tgaccggcca aggcacccag gtcaccgtgt cctctggcgg cgggtgttct	420
ggaggaggcg gttcacaggt gcagctcgtg gagagcgggt gtgggtccgt acaggccggc	480
ggctccctgc gactgtcatg cggggcatct ggcaacatta actccgcaa ctgcatgggc	540
tggttcagac agggccctgg caaggagcgg gagggcgttg ctgctatcgg tcaggtcaca	600
ggacgcagct actacgtgga ttctgtaaag ggccgcttca ccatctcgtc cgataacgcg	660
aaaaacactc ttactttgca gatgaacacg ctgaagcctg aagacactgc catgtattac	720
tgtgctgcag cccccgggtg cctgctgagt gcgctgcgct cggcggaacta ccgcaattgg	780
ggccagggga cccaggtcac cgtgtcgtcc ggtgggtggcg gcagtgagg cggcgggtcc	840
gaggtgcagc tcgtggagtc ggggtcccgc cttgtcaagc ccagtcagac tctttctctc	900
acctgcactg tgagcggcgc atctatcaca acgggcgagt tctactgga ttggttcgc	960
cagccgccgg gcaagggcct ggaatggatg ggcccatcg cggcctccgg ctgaccacc	1020
tactcccat ctttgagag ccgcaccagc atctcccgcg acacgtccga gaaccagttc	1080
tacctgcagc tgagctccgt gaccccgag gacaccgccg tgtactactg tgggcggtec	1140
ttcggcgtgg cggctgtgac cacaggacag aacaggggac agggcaccca ggtcacctc	1200
tcttcgacta gtaccagcag gccagcgccg cgaccaccaa caccgggcc caccatcgcg	1260
tcgcagcccc tgicccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgac	1320
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt	1380
ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc	1440
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc	1500
tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc	1560
aggagcgag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat	1620
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg	1680
gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat	1740
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcggcgag gggcaagggg	1800
cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac	1860
atgcaggccc tgccccctcg ctaa	1884

<210> 241

<211> 1914

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-5C3 CAR (nucleic acid)

<400> 241

atggctctgc ccgtgactgc tctgtctgctt cccctggccc tgctgtgtgca cgccgctagg	60
cctcagatcc agctcgttga gagcggcgga gggctgggtcc agccaggggg ctcgtctcgt	120
ctgtcctgtg ccgcctccgg ctttacgttc agtaactacc ctatgacctg gctccgccag	180
gccccgggca aaggccttga aagcgtgtcc gacatcactt caggtgggtga tcggccctat	240
tacgcggaca gcgtgaaggg acgcttcacc atctcccgcg acaacgcaa gaacatgctt	300
tacctggaga tgaactccct aaagaccgag gacaccgcg tctactactg tgccacctgg	360
gaccgcactt taaccgttca aggcacccaa gtgaccgtat ctagtggcgg cggcgggtcc	420
gggggcggtg ggtcgggcgg cggaggcagc caggtgcagc tggtagagag cggaggaggg	480
tccgtgcagg ccggcgggtc tcttcgcctg tctgcgggg cttccggtaa cattaattcc	540
cgcaactgca tggggtggtt cagacaggct cccggcaagg agcgcgaggg cgtggcggcg	600
attggccagg tcacgggccc aagctactac gtggattctg ttaagggccg ttttaccatc	660
tcgttggaca acgcgaaaaa cactctgtac ctgcagatga acacgttgaa gcctgaggac	720
acagctatgt attactgtgc agccgcaccc ggggtgcctgc tgtctgcact gcgtcggcg	780
gactacagga attggggcca gggcacccag gtcaccgtgt cgtccggtgg cggaggttcc	840
ggtggagggtg gtagtggggg cggcggcagc gaggtgcagc tggtggagag cggccctggc	900
ttggtgaagc cctctcagac gctcagccta acctgcactg tctctggtgc ttccatcacc	960
acaggcgagt tctattggaa ctggttccgc cagccgccag gcaagggcct ggagtggatg	1020
ggcgccatcg cggcttctgg ttccaccact tactccccgt ccttcgagag tcgtaccagc	1080
atctcccgga acacctccga gaaccagttt tacctccagc tctcttcggt aactccggaa	1140
gataccgagg tgtactattg tggccgcagc ttccggcgtg ctgccgtcac cacaggacag	1200
aaccgaggac agggtaacca ggtcaccgtg tctccacta gtaccacgac gccagcgccg	1260
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg	1320
tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc	1380
tacatctggg cgcccttggc cgggacttgi ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc	1440
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga	1500
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa	1560

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgagc acgccccgc gtaccagcag 1620
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1680
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1740

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1800
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1860
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1914

<210> 242
<211> 1944
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> AIO-5C4 CAR (nucleic acid)
<400> 242

atggccctgc ccgtgaccgc cctcttctc cccttggtt tgctactgca cgccgtcgc 60
cctcagatcc agttggtgga gtccggcggc ggcttggtgc agccaggggg cagtcttcgc 120
ctgtcttgtg ctgcatctgg cttcacgttc tctaactacc cgatgacctg gctccgccag 180

gctccgggca agggcttga gagcgtgtcc gacattacca gcggcgggtga tcgtccctat 240
tacgcggaca gtgtcaaagg ccggtttact atctcgcgcg acaacgcgaa aaacatgctt 300
tacctggaga tgaactccct gaagactgag gataccgcgg tctactactg tgccacctgg 360
gacaggacct tgaccggcca aggaaccag gtgacctga gcagtgggtg cggcggttcg 420
ggcgggtggc gctccggcgg gggcggttcc ggccggcgag gctcccaggt gcagctgggtg 480
gaatctgggg ggggctcgtt gcagctggc ggttctctcc gtctgtcctg cggcgctca 540
ggcaacatta actcgcgcaa ctgcatggga tggttcagac aggtctctgg taaggagcga 600

gagggcgtgg cggcgatcgg ccaggtcacc ggtaggagct actacgtgga ttctgttaag 660
ggccgttca ccatctctct ggacaatgct aagaacacgc tgtacttgca gatgaacaca 720
ctcaagcctg aagacactgc catgtattac tgtgcagccg ccccgggtg cctgctgtcc 780
gctctgcgt ccgcggacta ccgcaactgg ggccaaggca ccaggtcac tgtatcctcc 840
ggaggtggcg gatctggggg aggtggttcg ggccgggggg gcagcggtg cgagggtcc 900
gaggtgcagc tggtagagag cggcccaggc ctggtgaagc cctcgagac gctgtctctt 960
acctgactg tctccggggc atctatcacc accggcgagt tctattgaa ttggttcgc 1020

cagccgctg ggaagggact ggagtggatg ggggcatcg ccgctccgg tagtacgacg 1080
tactcacct cctttgagtc tcggactagc atcagccggg acacctcgga gaaccagttt 1140

tacctgcagt taagctccgt gactccggag gacactgccg tgtactactg tggccgttcc	1200
ttcgggtgttg ccgccgtgac cacaggacag aaccgcggcc agggcaccca ggtcacagtc	1260
agctctacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg	1320
tcgcagcccc tgcctctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgac	1380
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatac tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt	1440
ggggtccttc tectgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc	1500
ctgtatatac tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc	1560
tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc	1620
aggagcgag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat	1680
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg	1740
gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat	1800
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcggcgag gggcaagggg	1860
cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac	1920
atgcaggccc tgccccctcg ctaa	1944
<210> 243	
<211> 1875	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> AIO-6C1 CAR (nucleic acid)	
<400> 243	
atggccctgc ccgtcactgc actgtctctt ccctggctc tctcctgca cgcgctcgc	60
cctgaagtgc agttggtgga gtctgggggc ggcttagtgc aggtcggcg ttctctccgc	120
ctgtctgtgt ccgcgtccgg acgcaccttc tccagctaca acatgggctg gtttcgccag	180
gccccaggta aggagaggga gtctgtcgcg gtggtggatt ggtctggagg gtcgccctat	240
tacgcagact ccgtgaaggg ccgcttcacc atctctctgt acaatggcaa gaataccgta	300
tacctacaga tgaactccct taaacctgaa gatactgccg tgtactactg tgctggccgc	360
gttcaatacg gctcaagttg gtctgggtgat tattggggcc agggcaccca ggtgactgtg	420
agcagcgcg gagcggaag ccaggctcag ctggtggaga gcgggggggg ctcggttcag	480
gccggaggaa gtctgaggtt gtcatcggc gcgtctggca acattaaact ccgcaactgc	540
atgggctggt tccgccagc cccgggcaag gagcgcgagg gcgtcgcagc tatcggtcag	600
gtcacggcc ggcttacta cgtggacagt gtgaaaggcc gttttacaat ctccctggac	660

aacgcgaaga acactctgta cttgcagatg aacacgctga agccggaaga cactgccatg 720
 tattactgtg ccgctgtccc ggggtgcctg ctgtccgccc tgcgcagcgc ggactaccgg 780
 aactggggcc aaggcaccca ggttaccgtg tcttcaggtg gtggtgggag cgaggtgcag 840
 ctggtggaga gcggaccggg cctggtgaag cctctcaga cgcttagtct gacctgcacc 900
 gtgtccggcg catccatcac cacaggtgag ttctattgga actggttccg tcagccgcca 960
 ggtaagggac tggagtggat gggcgccatc gcggcctccg gctccaccac ctactccct 1020
 tcgtttgagt cgcgaccag catttccgg gacacctccg agaaccagtt ctacctgcag 1080

 ctctcctccg tcacgccga ggacaccgcc gtctactact gtgggcgctc cttcggcgtg 1140
 gcggccgtaa caaccggtca gaaccgcggt caggggaccc aggtcaccgt atctagcact 1200
 agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260
 ctgtccctgc gccagagggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cagagggggg 1320
 ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380
 ctctgtcac tggttatcac cttttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440
 ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500

 cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560
 gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620
 agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680
 ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740
 gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800
 ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860
 ctgccccctc gctaa 1875

<210> 244

<211> 1905

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A10-6C2 CAR (nucleic acid)

<400> 244

atggcgctgc cggtagctgc tctctgtctg cccttgccc tgcgtctcca cgccgtcgt 60
 cctgaagttc agctggtaga gagcggcggg ggctctgtgc aggcggcggt cttcttctgt 120
 ctttcatcgc ccgctccgg gcgcaccttc tccagctaca acatggggtg gttccgccag 180
 gccccaggta aggagaggga gttcgtcgcc gtggtggact ggtctggtgg tagtccctat 240
 tacgcggaca gcgtcaaagg cagattcacc atttcacgtg acaacggcaa aaacaccgtg 300

tacctgcaga tgaactccct caagcccagac gacacggcag tgtactactg tgctgggcgt 360

gtgcagtagc gctccagttg gtctggggac tattggggcc agggcaccca ggtcaccgtg 420

tcctccgggg gtggtggctc ggggggcggc ggatctcagg tccagttagt ggagagcggg 480

ggaggctccg tgcaggccgg aggcctctctg cgctgtcat gtggggcgctc cggcaacatt 540

aattcccga actgcatggc ctggttccgc caggcccccg gcaaggagcg cgaggcgctt 600

gcagctatcg gtcaggtagc tggccgcagc tactacgtgg attctgtgaa gggacgcttc 660

accatctcgt tggataacgc caagaacacg ctttacttgc agatgaatac cctgaagccg 720

gaagacaccg ccatgtatta ctgtgccgcc gctcccgggt gcctgttgag cgcattgcgg 780

tccgcggact accgcaactg gggccagggc acccaggtca ccgtctcgctc tggaggtgga 840

ggatcgggcg gtggcggtc ggaggtgcag ctggtagaga gcggggcccg cctcgtcaag 900

ccttcccaga ctctgagcct gacctgcact gtatctggcg cttccatcac caccggcgag 960

ttctattgga attggtttcg acagccgcct ggaaagggcc tggagtggat gggcgccatc 1020

gcggcttctg gctcaacgac ctactccca tctttgaga gccgcaccag catctctcgc 1080

gacacctccg agaaccagtt ttacctgcaa ctaagctccg tgacgcctga agatacagct 1140

gtctactact gtgggcgctc cttcggcgtg gcggcagtgca caacaggaca gaaccgcggc 1200

caaggtacc aggtcaccgt gagctcgact agtaccagca cgccagcgcc gcgaccacca 1260

acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca 1320

gcggcggggg gcgcagtga cagagggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 1380

gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt ctctgtcac tggttatcac cttttactgc 1440

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1500

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1560

gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgccccg cgtaccagca gggccagaac 1620

cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1680

cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1740

tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1800

gagcgccgga ggggcaaggc gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtag agccaccaag 1860

gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gctaa 1905

<210> 245

<211> 1935

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-6C3 CAR (nucleic acid)

<400> 245

atggccctcc cggtagctgc gctgctgctg cccctggccc tactgttca cgccgctagg	60
cccagaggtgc agctgggtgga gagtggaggc gggctggtgc aggctggcgg ttcgcttcgt	120
ttatcatgcg cagctagtgg acggaccttt tcatcctaca acatgggctg gttccgccag	180
gcccccgga aggagcgga gttcgtcgcg gtgggtggact ggtctggcgg gtccccctat	240
tacgcggaca gcgtgaaggc ccgtttcacc atctcccgcg acaacggtaa gaacacggtc	300
tacctgcaga tgaactccct caagcctgaa gatacgcccg tgtactactg tgctgggcga	360
gtgcagtacg gccttagttg gtctggggac tattggggcc agggtaacaca ggttaccgtc	420
tcgagtggcg gaggcggctc tggggcgccg ggctccggtg gcggcggctc ccaggtgcag	480
ctggtggaat ccggcgccgg ctccgtgcag gccggcggct cctgcgcct gtcctgcggg	540
gccagcggga acattaatc tcgcaactgc atgggatggt ttagacaggc tcctggaaaa	600
gagagggagg gcgtggctgc taccggtcaa gtaaccggtc gcagctacta cgtggactcc	660
gttaagggtc gtttcacat cagcttggac aacgcgaaga aactctgta cctccagatg	720
aacacgtca agccagagga caccgcatg tattactgtg ccgcagcccc tgggtgcctg	780
ttgagcgcg ttcgttccgc ggactaccgg aattggggcc agggcaccca ggtaacagtg	840
agctccggtg gcggcggctc cggtagcggc gggtctgggg gtgggggctc ggaggtgcag	900
ttggtggaga gcgggcccgg gcttgtcaag ccctctcaga ctctgtccct gacctgtacc	960
gtgtccggtg ctacatcac caccggcgag ttctattgga actggttccg ccagccaccg	1020
ggcaaaggtc tggagtggat gggcgccatc gcggcctcgg gttctacaac ctactccct	1080
tcgtttgaga gccgcacctc tatttccgc gataccagcg agaaccagtt ctacctgcaa	1140
ctgagctccg taactccgga ggatactgcc gtgtactact gtggccgctc ctccggcgtt	1200
gcagctgtca cgaccgtga gaaccgcgga cagggaacc aggtcacctg ctctcgact	1260
agtaccagca cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcg ccaccatcgc gtgcagccc	1320
ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcgggg gcgcagtga cacgaggggg	1380
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttg cgggacttg tgggtcctt	1440
ctctgtcac tggttatcac ctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata	1500
ttcaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtactgc	1560
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca	1620
gacgccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga	1680

agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1740

ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1800

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaagg gcacgatggc 1860

ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1920

ctgccccctc gctaa 1935

<210> 246

<211> 1965

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-6C4 CAR (nucleic acid)

<400> 246

atggctttgc cggtagaccgc cctgtctctg cccctggcgc tgcttctgca cggcgtcgt 60

cctgaagtgc agctggtgga gtctgggggg ggctctgtgc aggtctgagg tagcttgcgt 120

ctgagctgtg ctgcctccgg ccgcacgttc tcgtcctaca acatggggtg gttccgccag 180

gccccaggta aggagaggga gtctgttgcc gtggtcgatt ggtctggggg gtccccctat 240

tacgtgact ccgtcaaagg caggtttacc atctcccgcg acaacggcaa gaacacggta 300

taccttcaga tgaactccct gaagccggag gacaccgccg tgtactactg tgcaggacga 360

gtgcagtacg gtccagttg gtctggggac tattggggcc agggcaccca ggtgaccgtg 420

tcctctggcg ggggaggctc cgggtggtggc ggatccggcg gcggcggctc cggcggcggg 480

ggctccaag tacagctggt ggagtctggc ggcggaagcg tccaggccgg aggtcactt 540

cgctgtcat gtggcgctag cggcaacatt aacagccgca actgcatggg ctggttccgc 600

caggcgccgg gcaaggagcg cgagggcgtg gccgccatcg gtcaggtaac tggtcgcagc 660

tactactgtg attctgttaa aggacgttc accatcagtt tggacaacgc caagaatacc 720

ctgtacctgc agatgaatac cctcaagccc gaggacactg ccatgtatta ctgtgcggcg 780

gccccagggt gctgtctgtc agcctgtgcg tccgcggact accggaactg gggccaaggt 840

accagggtca ccgttagctc cggaggcggg ggatcggcg gcggcggcag cgggtgtggg 900

ggttcaggcg gtgggggggtc cgaggtgcag ctggtggaga gtggcctgg tttagtgaag 960

ccctctcaga ccctgtccct gacctgact gtctccgggg caagcatcac cactggcgag 1020

ttctattgga attggttcag acagcccccc gggaagggcc tagagtggat gggcgccatc 1080

gcagcttccg gctcgaccac ctacagtcc tctttcgaga gccggaccag catttctcgg 1140

gacacgtcgg agaaccagtt ttacctccag ctgtcgagcg tgacacctga agatactgcg 1200

gtgtactact gcgggcgtag ttttggcgtc gctgccgtga cgaccggcca gaaccgcgga 1260
cagggtaccc aggtcacagt ctcttctact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 1320
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 1380

gcggcggggg gcgcagtga caccaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 1440
gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt ctctgtcac tggttatcac cttttactgc 1500
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1560
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1620
gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac 1680
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1740
cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1800

tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1860
gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1920
gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gctaa 1965

<210> 247
<211> 1854
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> AIO-7C1 CAR (nucleic acid)
<400> 247

atggccctgc ccgtcactgc gctgctgctg cccttgccc tgctcctgca cgccgtcgt 60
cctcaggtcc agttggtgga gagcggaggc ggcagcgtgc agccggcgcc atcccttcgc 120
ctgagctgtg gtgcatctgg caacattaac tcccgaact gcatgggctg gttcagacaa 180

gcgccgggga aggagcgga gggcgtggcg gcaatcggtc aggtgaccgg ccgcagctac 240
tacgtggatt ctgtgaaggg gcgtttcacc atcagtttgg ataacgcaa gaacacgctt 300
tacctgcaga tgaacactct gaagcccgaa gatactgcca tgtattactg tgctgcagct 360
ccgggctgcc tgctgagcgc gctgcgaagc gcggactacc ggaactgggg ccagggtacc 420
caggttactg tctcctctgg cggcggaggc tcccaaattc agcttgtgga gagtggggga 480
gggttagtgc agccaggcgg ctccctgcgc ctgtcatgcg ccgcctccgg cttcaccttt 540
tcaaattacc caatgacctg gctccgtcag gccccggca aaggcctgga gtccgtgtcc 600

gacatcactt cgggtgggga caggccctat tacgcggaca gcgtaaaggg tcgttttacc 660
atctcagggg acaacgcgaa aaacatgctg tacctggaga tgaatagtct caagaccgag 720

gacacggcgg tgiactactg tgccacctgg gaccgcacac ttaccggtca ggggacccag 780
 gtcacctgt cgtcgggcgg cggcggttct gaggtgcagc tggtagagag tggctctggt 840
 ctagtcaagc cttcacagac gctatccctg acctgcaccg tgtccggtgc ttctatcacc 900
 accggcgagt tctattggaa ttgggtccgc cagccgccgg gaaagggcct cgagtggatg 960
 ggggctatcg cagcttccgg ctgcactacc tactctcct cttttgagtc gcgcacaagc 1020

atctcccgga acacctcga gaaccagttc tacttgacgc tctcctccgt tacgcctgaa 1080
 gacactgccg tgiactactg tggacgctcc ttccggtggt ctgccgtcac gacaggccag 1140
 aaccgcggac agggcaccca ggtcaccgtg agctccacta gtaccacgac gccagcgccg 1200
 cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260
 tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320
 tacatctggg cgccttggc ggggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1380
 ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1500
 ggaggtgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1560
 ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620
 gacaagagac gtggccggga cctgagatg gggggaaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680
 gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740
 atgaaaggcg agcggcgag gggcaagggg cagcatggcc ttaccagggt tctcagtaca 1800
 gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 248

<211> 1884

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-7C2 CAR (nucleic acid)

<400> 248

atggccctgc cggtagctgc tctactctg ccctggcgc tgctgctcca cgccgccgc 60
 cctcaggtgc agctggtgga gagcgagga ggttctgtgc agccggcggt ttctctgcgc 120
 ctgagttgtg gtgcatcggg caacattaac agccggaact gcatgggatg gttcagacag 180
 gccccggca aggagcgca gggcgtggct gctatcggtc aggtcaccgg tcgcagctac 240
 tacttgaca gcgtcaaagg tcgttcacc atctctttgg ataacgcaa gaacacgctt 300
 tacctccaga tgaatactct gaagcctgaa gatacgcca tgtattactg tgctgcagcc 360

cccgggtgcc tgctgagcgc gcttcgatcc gcggactacc gcaactgggg ccagggcacc 420
 caggttaccg tgagctccgg cgggggcggt tctggtggcg gaggtccca aattcagttg 480
 gtggagtcgg gcggaggttt ggtgcagccg ggcggttctt tgcgtctgtc atgcgtcgcg 540
 tctggcttca ccttttcaaa ttatccgatg acctggctcc gccaggcccc tggcaaaggc 600
 ctggagagcg tgtccgacat cactagcggc ggggacaggc cctattacgc ggactccgtg 660
 aagggcaggt ttactatctc gcgggacaac gctaagaata tgctgtacct ggagatgaac 720
 tccctcaaga ccgaggatac cgccgtctac tactgtgcta cctgggaccg cacgctgacg 780

 ggccaaggaa cgcaggtcac cgtcagttcc ggtgggggcg gctccggggg cggcggcagc 840
 gaggtgcagc tgggtgagag tgggccaggc cttgtaaagc cctctcagac tctatctctg 900
 acctgcactg tctccggcgc ttctatcacc acaggcgagt tctattgaa ctggttccgc 960
 cagccacccg ggaagggtct cgaatggatg ggcccatcg cgccctctgg gtcgaccacc 1020
 tactccccgt cctttgagag ccgtactagc atctcccgcg acacctccga gaaccagttc 1080
 tacctgcagc tgtcctccgt aacacctgag gacaccgccg tgtactactg tgggcgttcc 1140
 ttcggcgtgg cggcagttac aaccggacag aaccgcggac agggcaccca ggtcacctg 1200

 tcctccacta gtaccagcag gccagcgcg cgaccacca caccggcgcc caccatcgcg 1260
 tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 1320
 acgagggggc tggacttcgc ctgtgatac tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt 1380
 ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1440
 ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1500
 tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa ggagatgtg aactgagagt gaagttcagc 1560
 aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1620

 ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1680
 gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1740
 aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcggcggag gggcaagggg 1800
 cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1860
 atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1884

 <210> 249
 <211> 1914
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> AIO-7C3 CAR (nucleic acid)
 <400> 249

atggcgctcc cggtgaccgc ttgtgtgtg cccctggcgc tgctgcttca cgccgctcgc 60

cctcaggtgc agttggtgga gagcgggtggc ggctccgtgc aggccggcgg ctcccttacgt 120

ctgtcatgcg gggcctcggg caacattaac agccgcaact gcatgggggtg gttccgccag 180

gccccctggca aggagcgcga ggggggtggct gccatcggtc aggtcaccgg ccgctcctac 240

tacgtggaca gcgtcaaggg tcgcttcacc atctcacttg ataacgcga aaacactctt 300

tacctgcaga tgaatacgt caagcccag gacacggcca tgtattactg tgccgctgct 360

ccgggggtgcc tgctctccgc cctgcgctcc gccgactaca ggaactgggg ccagggcacc 420

caggtcacag tctcttctgg tgggtggcggg tccggcggcg ggggttcggg cggcgggtggc 480

tctcaaattc agctagtaga gtctggcggc gggctggtgc agccgggcgg cagcctgcgc 540

ctgtcctgtg ctgcttcggg cttcacattt tcaaattacc ccatgacctg gctccgccag 600

gcgccccgga agggattgga atcggtgtcc gacatcactt ccggtggtga taggccctat 660

tacgaggaca gcgtgaaggg ccgttttacc atctctcggg acaacgcaa gaacatgcta 720

tacctggaga tgaactccct gaagacggag gacaccgccg tctactactg tgccacctgg 780

gaccgcaccc tgactggaca aggcacccag gttaccgtgt ccagcggggg tggaggaagc 840

ggtggtggcg gtagcggcgg cggcggctcg gaggtgcagc tgggtggagtc tggccctgga 900

ctcgttaaac cgtcccagac gctttctctg acctgcaactg tatctggagc atctatcacc 960

acaggcgagt tciattggaa ttggttcaga cagccccag ggaaggcct ggagtggatg 1020

ggcgccatcg cagcttctg ctcaccacc tactcccat cctttgagag tcgaaccagc 1080

atctcccgcg acaccagcga gaaccagttc tacttgcagc tgagttccgt gactcctgaa 1140

gatactgccg tgiactactg tggacgggtc ttcgggggtgg cggccgtgac gaccggtcag 1200

aaccgcggtc aggggaccca ggtcaccgtc tcattcacta gtaccagac gccagcgccg 1260

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg 1320

tgccggccag cggcgggggg cgcatgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1380

tacatctggg cggccttggc ggggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1440

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1500

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1560

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1620

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1680

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1740

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1800
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1860
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1914
<210> 250
<211> 1944
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> AIO-7C4 CAR (nucleic acid)
<400> 250
atggccctgc cggtagcggc cctacttctg cccctggcgc tgcigtgca cgccgccagg 60
cctcaggtec aactggtgga gagcggcggc ggttccgtgc aggcggcgg ctcgttgcgt 120
ctgagctgtg gggcttccgg caacattaac tcccgaact gcatggggtg gttccgccag 180

gctcccgga aggagcgca gggcgtcga gctatcggtc aggtcactgg tcggagctac 240
tactggact ccgtaaaagg ccgttttacc atctcttgg acaacgcaa gaacacgtg 300
tacctgcaga tgaacactct caagcctgag gataccgca tgtattactg tgccgcggcg 360
cccgggtgcc tgcgtccgc tctgcgtcg gccgattacc ggaattgggg ccagggcacc 420
caggtcaccg tgagctcggg tggcggaggc tccgggggtg gaggtccgg cggagggggc 480
tctggggcg gtgatctca aattcagttg gtggagagcg gcggtgggt ggtgcagcca 540
gggggtagcc tgcgcttgc ttgcgccgcg tctggcttca catittcaa ctacccatg 600

acctggttac gacaggcccc tggcaagggc ctcgagagcg tgtccgacat cacgagcgg 660
ggggacaggc cctattacg ggactctgtg aaggccgct tcaccatctc tcgtgacaat 720
gctaaaaaca tgctttacct ggagatgaac tccttgaaga ccgaggacac cgccgtgtac 780
tactgtgcta cctgggaccg caccctcacc ggccagggca ccaggtgac tgtatcctcc 840
ggcgttggcg gcagcggagg cggggcgagt ggcggtggtg gctccggtgg aggaggtcgc 900
gaggtgcagc tgggtgaaag tggccgggc cttgttaagc cctctcagac tcttagcctc 960
acctgcactg tcagcgggtg tagcatcacc acaggcgagt tctattgaa ctggttcaga 1020

cagccgccag gaaagggtct ggagtggatg ggccgcatcg cgcatctgg ctgaccacc 1080
tactccccgt catttgagtc tcgcacctcc atctcgcgcg acacctccga gaaccagttc 1140
tacctccagc tgcctccgt gacacctgaa gataccgcg tgtactactg tggccgtcc 1200
ttcggcgtgg cgctgtcac gaccggtcag aaccgcgac aggggactca ggttacggtc 1260
tcttccacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 1320
tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 1380

acgagggggc tggacttcgc ctgtgataac tacatctggg cgccttggc cgggacttgt 1440

ggggtccttc tctgtcact gggtatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1500

ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1560

tgtagctgcc gatttcaga agaagaaga ggaggtgtg aactgagagt gaagttcagc 1620

aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1680

ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1740

gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1800

aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgcggag gggcaagggg 1860

cacgatggcc ttiaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgccttcac 1920

atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1944

<210> 251

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-8C1 CAR (nucleic acid)

<400> 251

atggcgctgc ccgtcactgc tttgtacttg ccctggccc tgctgttaca cgcgcccgt 60

cctcaggtgc agttggtgga gagcgggggt ggctccgtgc aggcgggtgg atctttgaga 120

ctctcttgtg gcgcctcggg caacattaac tcccgtact gcatgggtg gtccgccag 180

gccccgggca aggagcgcga gggcgtggct gccatcggtc aggtcaccgg tcgcagctac 240

tacgtcgatt ctgtaaaggg ccgttcacc atctctctgg acaacgctaa gaacacgctt 300

tacctgcaga tgaacactct gaagcctgaa gacacggcca tgtattactg tgccgtgct 360

cccgggtgcc tgctgtccgc gctccgtcgc gcggactacc gcaactgggg ccagggtacc 420

caggtcacag tctcttctgg gggaggcggg tcggaggtgc agctggctga gagcgggccg 480

ggccttgtga agcgtctca gactctgtca cttacctgca ctgtgagcgg cgcattccatc 540

actaccggcg agttctattg gaactgggtc cgccagccac ccggcaaagg tctggagtgg 600

atgggcgcta tcgcggcttc cggtctgacc acctactccc cctccttcga gtcgcgtacc 660

tctatctccc gggacacctc cgagaaccag ttctacctcc agctgagctc cgtgactccg 720

gaagatacgg cagtatacta ctgcgggcga tccttcgggtg tggcggcagt tacaacggga 780

cagaaccgcg gccagggcac ccaggtcacc gtgagctctg gaggaggagg ctcccaaatt 840

cagctggtgg agagcggcgg cggccttgtg caacctggcg gctccctgcg cctgtcctgt 900

gctgctagcg gcttcacatt ttcaaattac cccatgacct ggctacgtca ggcccctggt 960
 aaaggcttgg aaagcgtag tgacatcacc agcggggggg acaggcccta ttacgcggac 1020
 agtggttaagg gtaggtttac tatctcccgg gataacgcca agaataatgct gtacctggag 1080

atgaactccc tcaagaccga ggacaccgcc gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacg 1140
 ctgaccggcc agggcaccca ggtgacctg tcgtcgacta gtaccacgac gccagcgccg 1200
 cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260
 tgccggccag cggcgggggg cgcatgtcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320
 tacatctggg cgcccttggc ggggacttgt ggggtccttc tectgtcact ggttatcacc 1380
 ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440
 ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaaga 1500

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgagc acgccccgc gtaccagcag 1560
 ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620
 gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680
 gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740
 atgaaaggcg agcggccggg gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800
 gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 252

<211> 1884

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-8C2 CAR (nucleic acid)

<400> 252

atggctctcc ccgtgactgc tctctctctg ccctggcct tactgctgca cgccgcccgg 60
 cctcaggtgc agttggtgga gtccggcggc gggtccgtac aagcaggggg atctttgcgt 120
 ctgtcttgtg gcgccagcgg caacattaac tcgcgcaact gcatggggtg gttcaggcag 180
 gccccgggca aggagcgaga gggcgtggct gccatcggtc aggtcaccgg tcgcagctac 240
 tacgtggatt ctgtcaaggg ccgctttacc atttctctgg ataacgcgaa gaacacgtg 300
 tacctccaga tgaacactct gaagcccag gacacggcca tgtattactg tgcagctgcg 360

cccgggtgcc tgctgtccgc cctgcgctcg gcagactacc gcaactgggg ccaaggcacc 420
 caggtgacgg tgagctccgg ccgtggcggc tcgggtggcg gaggatcgga ggtgcagctt 480
 gtggagagtg ggccgggctt ggtgaagcca tcacagacgc tgagcctgac ctgcactgtc 540

tccggggcct ccatcaccac cggcaggttc tattggaatt ggttcagaca gccgcctggc 600
aaaggccttg agtggatggg cgctatcgca gcttccggct cgaccaccta ctccccttcg 660
tttgagagcc gtacatccat cagccgcgac actagcgaga accagtctta cctgcagctg 720
tcctccgtaa cacctgaaga caccgcgggtg tactactgcg ggcgttcctt cggcgtggcg 780

gctgttacga ctggccagaa ccgcggccag ggaaccagg tcaccgtcag ttctggcgg 840
ggcgggttcg gtggaggagg ctcccagatc cagctggtgg agtctggtgg tggctctgtg 900
cagccaggcg gatcgctgcg cctgagttgt gcggcttctg gcttcacatt ttctaactac 960
cccatgacct ggctccgcca ggccccggga aagggtctgg agtccgttag tgacatcacc 1020
agcggcgggg acaggcccta ttacgcggac agcgtcaaag ggcgtttcac catctctcgg 1080
gacaacgcca agaatatgtt gtacctggag atgaatagcc ttaagaccga agataccgcc 1140
gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacc ctactggcc agggcaccca ggtcaccgtg 1200

tcctcaacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 1260
tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgac 1320
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatac tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt 1380
ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1440
ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1500
tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 1560
aggagcgag acgcccccg gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1620

ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1680
gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1740
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcggccgag gggcaagggg 1800
cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1860
atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1884

<210> 253
<211> 1914
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> AIO-8C3 CAR (nucleic acid)
<400> 253

atggctttgc cggtagctgc tttttttctg cccttgccgc tgctgctgca cgccgccgcg 60

cctcagggtgc agctgggtcga gagcgggtgga ggctcagtgc aggcaggcgg cagcttgcgt 120

ttgtcctgtg gcgcacatctgg caacattaac tcccgcgaact gcatgggatg gttcagacag 180
 gccccgggaa aggagcgcga gggcgctgcc gctatcggtc aagtcactgg ccgtagctac 240
 tacgtggatt ctgtgaaggg ccgcttcaca atctctcttg ataacgcga gaacacactg 300
 tacctgcaga tgaacacgct aaagcccgaa gacacggcca tgtattactg tgctgtgct 360
 cccgggtgcc tgctgtccgc cctgcgcagt gcggactacc ggaactgggg ccaggaacc 420
 caggttacag tctcctccgg ggggggtggt tctggagggg gcggttcggg tggcggcgg 480

 tccgaggtgc agttggtgga gtcaggacc ggcttggtaa aacctcaca gactctttcc 540
 ctacactgca ctgtgagcgg cgcctctatc accacaggcg agttctattg gaactggttc 600
 cgccagccgc ctggtaaagg cctggagtgg atgggcgcca tcgccgcctc tggatccacc 660
 acctacagcc cgtcgtttga gagccgaacc agcatctgc gggacacctc cgagaaccag 720
 ttttacctcc agctgtctag tgctactcct gaagataccg cagtgtatta ctgtgggcgc 780
 tccttcggtg tggcggctgt aacgaccggc cagaacaggg gccagggcac ccagtgacc 840
 gtgtcctctg gaggcggcgg atccgggggc ggggggagcg gtgtggcgg ctctcaaatt 900

 cagctagtgt agagtggcgg gggactcgtg cagccaggcg gctccctgcg cctgtcgtgt 960
 gcggcgagcg gctttacgtt cagcaactac ccaatgacct ggctacgcca gggccctggc 1020
 aagggtctcg agtccgtgtc cgacatcact tccggcgggg acaggcccta ttacgcggac 1080
 agcgtgaagg gccgtttcac catcagtcgt gacaatgcca agaatactgt ctacctggag 1140
 atgaactccc tgaagactga ggacaccgcc gtgtactact gcgccacctg ggaccgcacc 1200
 ctgaccggcc agggcaccca ggtcacctc tcgtctacta gtaccagac gccagcgccg 1260
 cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1320

 tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1380
 tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1440
 ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 1500
 ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1560
 ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgagc acgccccgc gtaccagcag 1620
 ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1680
 gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1740

 gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1800
 atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca 1860
 gccaccaagg acacctaga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1914

<210> 254

<211> 1944

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-8C4 CAR (nucleic acid)

<400> 254

atggccctgc cggtagaccgc gctactgctg cccctggcac tgttactcca cgccgctcgc	60
cctcaggtgc agttggtgga gagtggcggg ggctccgtgc aggcggcgagg tagcctgcgc	120
ctgtcttgcg gggcctcggg caacatcaac agccgcaact gcatgggggtg gttcagacag	180
gctcctggta aggagcgcga gggcgtcgca gctatcggtc aagtgaccgg gcgttcctac	240
tacgtggata gtgttaaagg ccgtttcacc atctcgtgg acaacgcgaa aaacacactg	300
tacctgcaga tgaatactct taagcccagag gacacagcca tgtattactg tgctgccgcc	360
cccgggtgcc tgctgtccgc cttgcggagc gcggactacc ggaattgggg ccaggggacc	420
caggtcacgg tttcctccgg cggcgggggc tccggcgggg ggggtagtgg cggcggcggc	480
tcgggcggcg gcggctcgga ggtgcagcta gtggagagtg ggccgggcct ggtgaagcca	540
tcacagactc tgagtctgac ctgcaactgt agcggcgctt ccatcactac tggcgagttc	600
tattggaatt ggttcgcga gccgcctggc aaggccctcg aatggatggg cgccatcgcg	660
gcctctggat cgaccaccta ctccccctct tttagatccc gcaattctat ctctcgggac	720
acctccgaga accagtttta cttgcagctc agctcagtga cacctgaaga tactgcagtg	780
tactactgtg gccgtcctt cggcgtagct gctgtcacca caggacagaa ccgcggccag	840
ggtacccagg taacggtgtc gtccggtgga ggcggatccg gagggggtgg ctctggcggg	900
ggcgggtccg gtggtggcgg atcccaaat cagctggtgg agagcgggtg cgggcttgtg	960
cagccaggtg gctctctccg actcagctgt gccgcgtctg gctttacgtt cagcaactac	1020
ccgatgacct ggctgcgcca ggccccggg aagggtttgg agagcgtgtc ggacatcacg	1080
tccggaggcg acaggcccta ttacgcggac agcgtcaagg gacgttcac catttctcgt	1140
gacaacgcca agaacatgct ttacctggag atgaactccc tgaagaccga ggataccgcg	1200
gtgtactact gtgctacgtg ggacaggacc ctgaccggcc agggcaccca ggtcacctgc	1260
tcctctacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg	1320
tcgcagcccc tgiccttcgc cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac	1380
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt	1440
ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc	1500
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc	1560

tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc	1620
aggagcgcag acgccccgcg gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat	1680
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg	1740
gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat	1800
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg	1860
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac	1920
atgcaggccc tgccccctcg ctaa	1944
<210> 255	
<211> 1875	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> A10-9C1 CAR (nucleic acid)	
<400> 255	
atggcccttc cagtgcacgc cctgtctgta cccctcgccc tgctgtttca cgccgctagg	60
cctgaagtgc agctggtaga gtcaggcggg ggtctgttcc aggcgggagg ctccctgcgc	120
ctgtcctgtg cgcttagcgg ccgcacgttc tctagctaca acatgggctg gttccgccag	180
gcgcccggaaggaggcgga gttcgtcgcc gtggttgatt ggtctggagg atccccctat	240
tacgcggact ccgtaaaggg ccgcttcact atctccggg ataacggcaa gaacacggtg	300
tacctgcaga tgaatagcct aaagcctgag gacactgccg tgtactactg tgctgggcgt	360
gtgcagtacg gcagcagttg gtctggcgat tattggggcc agggcaccca ggttacggtg	420
agttccgggt gcggaggctc ggaggtgcag ttggtggaga gcggtccagg tctcgtgaag	480
ccctctcaaa cctgtcgtc gacctgcacc gtgtccggcg ctagtatcac caccgcgag	540
ttttattgga actgggtcag acagccgcct ggaaaaggcc tggagtggat gggcgctatc	600
gccgcgagcg gctcgaccac ctactccctc tcgtttgaat ccaggacctc ttttcccg	660
gacacctccg agaaccagtt ctacttcag ttgtcctctg tgaccccgga ggacacagcg	720
gtgtactact gtgggcgac cttcggggtc gccgccgtga ccaactggcca gaaccgcggc	780
cagggtaccc aggtcacctg gtcacccggc ggtgggggat cccaggtgca gctggtggag	840
agcggcggcg gtctgtcca ggcagggggt tccttgcgt tatcgtgcgg ggcctcgggc	900
aacattaatt ctgcgaactg catggggtgg ttccgtcaag ctcccggcaa ggagcgcgag	960
ggcgtggcgg caatcggta ggtcacaggc cgtagctact acgtcgacag cgtcaagggc	1020
cgcttcacca tctctctgga caacgctaaa aacactctgt acctgcagat gaacacgctc	1080

aagccggaag acaccgcat gtattactgt gcagcggtc cgggtgcct gctctccgt 1140
ctccgcagt ccgactacc caattggggc cagggtaccc aggtgactgt ttcaagcact 1200
agtaccacga cggcagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260
ctgtccctgc gccagagggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cagaggggg 1320
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg cgggacttg tgggtcctt 1380
ctctgtcac tggttatcac ctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440
ttcaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500

cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaaga taagatggcg 1740
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaagg gcacgatggc 1800
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860
ctgccccctc gctaa 1875

<210> 256

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-10C1 CAR (nucleic acid)

<400> 256

atggctctgc cggtagctgc gctgttctg cccttgctc tactgctga cggcgcgcg 60
cctgaggtgc agcttgcga gagcgcccc ggcttagtta agccctctca gaccctgagc 120
ctgacctgca ctgtgagcgg tgcatccatc acaaccgggg agttctattg gaactggttc 180
cgccagcccc cgggtaaagg tctggagtgg atgggggcca tcgccgctc tggaagtacc 240
acttactccc cgtccttcga gagccgtacg tctatctccc gggacacctc cgagaaccag 300
ttttacttgc agttgagttc ggtgaccccc gaagatacag cagtctacta ctgtggcgca 360

tcctttggag tggccgctgt cagcaccggc cagaacaggg gacagggcac ccaggttacc 420
gtgtcgagcg gaggtggcgg ctcccagggt caactggtgg agagcggcgg aggatccgta 480
caggccggcg gctctctcag actgtcctgc ggcgctagcg gcaacattaa tagccgcaac 540
tgcatgggct ggttccggca agcgcttgg aaggagcgcg agggcggtgc ggctatcgga 600
caggtgaccg gtcgcageta ctacgtagac tctgtgaagg gtcgcttcac catctctctg 660
gacaacgcca agaacacgct gtacctgcag atgaatactc taaagcccga ggacaccgcc 720

atgtattact gtgccgcggc tccaggggtgc ctgctttccg ctttgcgctc ggccggactac 780

aggaactggg gacagggtac ccaggtcacc gtgtcctctg ggggcggcgg ctccaggtg 840

cagctcgtgg aatctggggg cggcctcgtc caggccggcg gctccctccg cctgtcatgt 900

gtgcctcgg gtgcacgtt ctctcctac aacatgggct ggttccggca ggctccaggc 960

aaggagcgtg agttcgtggc ggtggtcgat tggctcggcg gcagccctta ctacgcggac 1020

tccgtaaagg gccgttttac catttcccgc gataatggca aaaacaccgt gtacctgcag 1080

atgaactccc tgaagcctga agacactgcc gtgtattact gtgcaggtcg cgtgcagtac 1140

ggctcaagtt ggtctgggga ctattggggc caggggaccc aggtcacagt gagctcgact 1200

agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260

ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cagagggggg 1320

ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380

ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440

ttcaaacac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500

cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560

gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620

agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680

ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaagg gcacgatggc 1800

ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860

ctgccccctc gctaa 1875

<210> 257

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-11C1 CAR (nucleic acid)

<400> 257

atggccctcc cggtagaccg gcttctgctg cccctggcgc tgctgctgca cgccgctcgc 60

cctgaagtgc aactgggtga gaggtagcct ggtcttctga agccctcaca gacgctgagt 120

ttgacctgca ctgtatctgg tgcgtctatc accacgggcg agttctattg gaattggttc 180

cgccagccgc cggggaaagg cctggagtgg atgggcgcca tcgcggttc cggtagtaca 240

acctactccc catccttcga gagccgcacc agcatctcgc gggacacctc cgagaaccag 300

ttctacctac agctgagctc cgttactccg gaggacaccg ccgtgtacta ctgtggcaga 360

tcctttggcg ttgccgcggt cactaccgga cagaaccgcg gacaaggcac ccaggctact 420

gtctcttcgg gcggaggcgg ctccgaggtg cagttggtgg agagcgtgg tgggctagtg 480

caggcaggcg gtctctccg cctttcatgc gccgcctccg gccgcacctt ctctcttac 540

aacatggggt ggttccgcca ggcccccgcc aaggagaggg agttcgtcgc tgtggttgac 600

tggctcggcg gttcgcccta ttaccgggac agcgtcaagg gccgcttcac catctctcgc 660

gacaaccgca aaaacacagt ctacctgcag atgaactccc tgaagcccca ggacaccgca 720

gtgtactact gtgctggtcg cgtgcagtac ggctccagtt ggtctgggga ctattggggc 780

caggggaccc aggtcacctg gtcgtccggt ggccggggta gccaggtgca gctggtggag 840

agcggaggcg gctccgtgca ggccgggggc tcctgcgcc tgtcctgtgg ggcttctggc 900

aacattaact cccgtaactg catgggctgg ttccgacagg ctcccggcaa ggagcgcgag 960

ggcgtggcgg ccattggaca ggtcaccggc cgtagctact acgtggattc tgtaaagggc 1020

cgatttacca tctcgttga taatgccaa aacactctgt acctccagat gaacacgctc 1080

aagcctgaag atactgccat gtattactgt gccgcagctc cagggtgcct gctctccgcc 1140

ctgcgcagcg cggactacag gaactggggc cagggtaccc aggtgaccgt gtcgtccact 1200

agtaccagca cgcagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260

ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg 1320

ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380

ctctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440

ttcaaacac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500

cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560

gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620

agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680

ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800

ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860

ctgccccctc gctaa 1875

<210> 258

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-12C1 CAR (nucleic acid)

<400> 258

atggcgctgc cggtagacagc cctcctgctg cccctggcgc ttctgttaca cgccgctcgc	60
cctcaggctc agctggtgga gagcgggggc ggctccgtgc aggccggtgg ttctcttcgt	120
ctatcatgcg gggcgtcggg caacattaac agccgcaact gcatgggatg gttccgccag	180
gtcctgggaa aggagcgga gggcgtcgca gccatcggtc aggtcactgg gcgctcctac	240
tacgtggatt ctgtgaaggc ccgttttacc atttctctgg acaacgcga aaacaccctg	300
tacctccaga tgaacacgt caagcccgaa gataccgcca tgtattactg tgcggcagct	360
cccgggtgcc tgcctcgcg tttgcgcagc gcggactaca ggaattgggg ccaaggtacc	420
caggtcaccg tgctcatctg aggccggcggc tccgaagtgc aattagtga gagcggaggc	480
ggtttggtgc aggccggcgg tagtctgcgc ctgagctgtg ctgcctccgg tcgtacgttc	540
agcagctaca acatgggctg gtttcgccag gccccgggca aggagcggga gttcgtcgcc	600
gtggtcgact ggtctggcgg atccccctat tacgcggaca gcgtcaaggc ccgcttcacc	660
atctctcggg acaacggtaa gaacacggtg tacctgcaga tgaactccct gaagcctgaa	720
gacactgccg tgiactactg tgccggccgc gtgcagtacg gctccagtgt gctctgtgat	780
tattggggcc agggcaccca ggtgaccgta tcctctgggg ggggcggctc ggaggttcag	840
ctggtggaga gggccctgg ccttgtaaag ccaccacaga cctgtccct gacctgact	900
gtttcagggg ctcccatcac cacaggagag ttctattgga attggttcag acagccacc	960
ggcaaaggcc tggagtggat gggcgtatc gcagccagcg gctcgaccac ctactcccc	1020
tcttttgaga gtgaaccag catcagccgc gacacttctg agaaccagtt ctacctgcag	1080
ctctcgtccg tgaactccga ggacaccgcc gtctactact gtgggaggtc cttcgggggtg	1140
gcggccgtga cgaccggcca gaaccgaggc cagggtaccc aggtaacctg gtcctccact	1200
agtaccaga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcg gtcgcagccc	1260
ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cacgaggggg	1320
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt	1380
ctcctgtcac tggttatcac ctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata	1440
ttcaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc	1500
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca	1560
gacgccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga	1620
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag	1680
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg	1740

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860

ctgccccctc gctaa 1875

<210> 259

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AIO-13C1 CAR (nucleic acid)

<400> 259

atggcgcttc ctgtgacggc gctgctgctg cccttgccgc tcttgcttca cgctgcccga 60
cctcaggtgc aattagtga atcggggggg ggttccgtgc aggcaggtgg cagcctccgc 120
ctctcttgtg gtgcttccgg taacattaat tcgcgcaact gcatgggctg gttccgccag 180
gcgccgggca aggagaggga gggcgtggcc gccatcggcc aggtgaccgg acgcagctac 240
tacgtggatt ctgtgaaagg caggtttaca atttctttgg ataacgcgaa aaacacgctg 300

tacctgcaga tgaacactct gaagccagag gacaccgcca tgtattattg tgccgccgca 360
cccgggtgcc tgcgtgccgc tctccgctcg gccgactaca gaaattgggg ccagggaact 420
caggtcaccg tcagctctgg tggcgggtggc tccgaggtgc agctggtaga gtccggtccg 480
ggcctggtga agcctagtca gacactatct ctgacctgca ctgtctctgg cgcgtcaatc 540
acaaccggcg agttctactg gaactggttc cgccagcccc caggcaaggg cctggagtgg 600
atgggggcta tcgcagctag cggtctact acctacagcc ctagctttga gagccggacc 660
tccatctcgc gtgacacgtc cgagaaccag ttctacctgc agctgtcctc ggtcaccccg 720

gaagacaccg ccgtgtacta ctgtgggcgg tccttcggcg ttgccgcggt gaccactggg 780
cagaaccgtg gacagggcac ccaggtgacc gtgtcgtccg gaggcggcgg ctctgaagtg 840
cagcttgtgg agagcgggtg aggcctggtg caggccggcg gatcactgcg cctgtcatgc 900
gccgccagcg ggcgcacctt tagtagctac aacatgggct ggttcagaca ggctcccggg 960
aaggagcgcg agttcgtcgc cgtggtcgac tggtcggggg ggtcccccta ttacgcagac 1020
tcggttaagg gacgcttac catctccgc gacaacggta agaacacggt ctatctccag 1080
atgaactcct tgaagccga ggacacggcc gtgtactact gtgtggccg tgtacagtac 1140

ggcagtagtt ggtctggcga ttactggggt caaggcacc aggttactgt ctccagcact 1200
agtaccaga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcg ccaccatcgc gtcgcagccc 1260
ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cacgaggggg 1320

ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440
ttcaaacac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500
cgatttcag aagaagaaggaggatgt gaactgagag tgaagttag caggagcgca 1560

gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860
ctgccccctc gctaa 1875

<210> 260

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-100 CAR (nucleic acid)

<400> 260

atggctctgc ccgtcactgc cctgtctctc ccctggcgcg tctgtctaca cgccgtctgc 60
cctcaggctgc agctgggtgga gtccggcgcg gggctggtgc agccaggggg ctccctccgc 120
ctgtcatgcg cggttccgg caacattaac tcccgcaact gcatgggctg gttcagacag 180
gtcccgcgca aaggcaggga gggcgtggcg gcaatcggtc aggtcacagg acgcagctac 240
tacgtggaca gcgtaaaggc ccgcttcacc atctccttgg ataactcaa gaacacgctg 300
tacttgaga tgaactccct ccgagccgaa gatacagcag tgtactactg tctgcccgc 360

cccgggtgcc tgctttcggc gctccgctcc gccgattaca ggaactgggg ccagggcact 420
ctggtcacgg tatctagtgg gggcggaggc tcccaggtcc agctacagga gagcggaccc 480
ggcctcgtca agcccagcca gacctgtcc ctgacctgca ctgtgagcgg cgccagcatc 540
acgaccggcg agttctattg gaattgggtc cgccagccgc ctggcaaggg tctggagtgg 600
atgggggcta tcggcgctc cggtccacc acctactccc cgtcctttga gagccgact 660
tctatctctc gagatactc caaaaaccag ttttactga agctgtcttc cgtaactgcg 720
gcggacaccg ccgtgtacta ctgcggcgcg tccttcggtg tggctgcggt gaccaccggt 780

cagaaccgcg gccagggcac cctggtaacg gtctcttctg ggggtggcgg ttctcaaatt 840
cagctgctgg agagtggcgg cggcctggtg cagccgggag gatctctgcg cctgtcatgc 900

gccgcttctg gcttcacgtt ctctaactac ccgatgacct ggatccgcca gggcccgggg 960

aagggttttg aatccgtgtc cgacatcacc agcggagggg acaggcccta ttacgcggac 1020

tccgtgaagg gccgtttcac catctcacgg gacaacgcca agaataatgct ttacctgcag 1080

atgaacagcc tgcgcgccga ggacaccgcc gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacc 1140

ctttggggcc aaggggacat ggtgaccgtg tcgtccacta gtaccacgac gccagcgccg 1200

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg 1260

tgccggccag cggcgggggg cgcatgtcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320

tacatctggg cgcccttgcc ggggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1380

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1500

ggaggtatgt aactgagagt gaagttcagc aggagcgagc acgccccgc gtaccagcag 1560

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1680

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740

atgaaaggcg agcggccgag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 261

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-133 CAR (nucleic acid)

<400> 261

atggcgctgc cgggtgacggc gctgctgctg cccttgcccc ttcttctcca cgccgccagg 60

cctcaggtgc agctggtgga gacgggaggc gggctggttc agccaggggg ctccctccgc 120

ctgtcatgcg ccgtttctgg caacattaat tcccgaact gcatggggtg gttccgccag 180

gccccctggca aaggcaggga gggcgtggcg gcaatcggtc aggtcactgg ccgcagctat 240

tacgtggaca gcgtgaaggg ccgtttcacc atctccttgg ataactcaa gaacacgctt 300

tacctgcaga tgaactccct acgcgcggaa gacaccgagc tgtactactg tgctgcagcc 360

cccgggtgcc tgctgtccgc cctgcgctcg gcggactacc ggaactgggg ccagggaaca 420

ttggtcaccg tctccagtgg gggcggcgga agccaagtgc agctacagga gagcgggccc 480

ggactggtga agccgtccca gacctgtca ttaacctgca ctgtgagcgg tgcttccatc 540

actaccggcg agttctattg gaactgggtc agacagccgc ccggcaaggg tctggagtgg 600
atgggcgcca tcgcggttc cggtccacg acctactccc cctcttttga gagccgcacc 660
tctatcagcc gtgacacctc caaaaaccag ttctctctga agctgtctc cgtgactgct 720
gcggacacgg ccgtctacta ctgcgggcgc tccttcggtg tggctgctgt caccaccggc 780
cagaaccgcg gccagggcac cctggtgacc gtctcctctg gaggaggcgg ctcccaaatt 840
cagctggtag aatccggtgg gggtttgggtg cagccaggcg gcagcctgcg tctatcctgt 900
gcggcgctcag gcttcacgtt cagcaactac cccatgacct ggctccgcca ggctcccga 960

aagggcctcg agtccgtgtc cgacatcacc tcgggcggtg atcgcccta ttacgtgat 1020
tctgtaaagg gacgcttcac catctctcgg gacaacgcca agaatatgct gtacctccag 1080
atgaactcgc tcgcgccga ggacaccgcc gtgtactatt gtgccacctg ggaccgcact 1140
ctgaccggtc aggttactat ggtgacctg tcgtccacta gtaccagac gccagcgccg 1200
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260
tgccggccag cggcgggggg cgcatgtcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320
tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1380

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1500
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1560
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgeccctcg ctaa 1854

<210> 262

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-167 CAR (nucleic acid)

<400> 262

atggcgcttc cggtgaccgc gctgctgctg ccctggccc tgcttctgca cgccgccgt 60
cctcaggtgc agcttgtgga gtctggaggc ggtctggtgc agccaggggg ttctctgcgt 120
ctgtcatgcg ccgcctctgg caacattaac agccggaact gcatgggctg gttcagacag 180
gccccgggca agggcaggga gggcgtcgcc gccatcggtc aggtcactgg acgcagctac 240

tacgtggaca gtgtcaaggg ccgtttcacc atctcgctgg acaactccaa gaacacgctg 300

tacctccaga tgaactccct gcgcgccgag gacaccgccg tgtactactg tgcggcagcg 360

ccggggtgcc tgcctcagcg gctccgggtca gcggactacc gcaactgggg ccagggcacc 420

ctggtgaccg tatcttctgg tggtagcgcc tcccaggtcc agctgcagga gaggggccg 480

ggtctcgtga agcctagcca gacgttatct ctgacctgca ccgtgtccgg tgccttctatc 540

accacaggcg agttctattg gaattgggtc cgccagccac ccgggaaggg gctggagtgg 600

atgggcgcta tcgccgctag cggctccacg acctactccc catccttcga gtcccgacc 660

agcatcagcc gcgacacctc taaaaaccag ttcagcctga agctgagttc cgtgactgct 720

gcggacactg cgggtgtacta ctgcggggcg tcgtttggcg tggcggctgt caccaccggc 780

cagaaccgcg gacaggggtac tctggttacc gtgtcgtccg gaggcggcgg ctcccaaatt 840

cagctggtgg agagcggcgg gggccttgtt caacctggtg gctccttgcg cctgagctgt 900

gctgcttccg gcttcacgtt cagcaactac cccatgacct ggctccgcca ggcccctggc 960

aaaggcctcg agtcagtgtc ggacatcacc tccggtgggg acaggcccta ttacgcggac 1020

agcgtgaaag gccgcttcac catctctcgt gacaacgcca agaataatgt gtacctgcag 1080

atgaactccc tccgcgctga agatactgcc gtgtattact gtgccacctg ggatcgaacc 1140

cttaccggac agggcacctt ggtcacgctc tcgtctacta gtaccagac gccagcgccg 1200

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg 1260

tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320

tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1380

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttcaga agaagaagaa 1500

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1560

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800

gccaccaagg acacctagca cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 263

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-180 CAR (nucleic acid)

<400> 263

atggccctgc cagtgactgc tctgtctgtg cccctggcgc tgctgtcca cgccgccgc	60
cctcaggtcc agcttgtgga gagtgggggc gggctgggtc agccgggggg ctccctgcgc	120
ctgtcctgtg ccgttcttgg caacattaac tcccgcaact gcatgggctg gttcagacag	180
gccccgggca agggaaggga gggcgtggct gccatcggtc aggtcaccgg tcgctcgtac	240
tacgtggaca gtgtcaaggc ccgtttcaca atttctctgg acaactcaa aaacacgtg	300
tacctgcaga tgaactcctt gcgtgccgag gacaccgtg tatattactg tgcggcagct	360
cccgggtgcc tgctttcggc gctccgctcc gccgactaca ggaattgggg ccaaggcacc	420
cttgtcaccg tgcctcttgg tgggggcggc tcccaggtgc agttgcagga gagcggaccc	480
ggcctgggtga agccctctca aacctcagc ctgacctgca ccgtgtccgg cgccagcatc	540
accacaggcg agttctattg gaattgggtc cgccagccgc ctggcaaagg cctggagtgg	600
atgggcgcta tcgtgtcttc cggttccacc acctactccc cctcgtttga gagccgcacc	660
tccatctccc gcgacaccag caagaaccag ttttactga agctgagctc cgtgacagcg	720
gcggacacgg ccgtgtacta ctgcgggcgc tccttcgggtg tggcggccgt cacgaccggc	780
cagaaccgcg gacagggcac cctggtgacc gtgtctcttg ggggcggagg ttccgaggtg	840
cagctggtgg agagcggcgg tggactggtg cagccaggtg gctcgtgcg cctgtcatgc	900
gccgcatcgg gccgcacctt ctcaagctac aacatggggt ggttccgaca ggcggggga	960
aagggcctcg agtgggtcgc cgcggtggac tggctctggcg gctcccccta ttacgcggac	1020
tctgtgaagg gacgcttcac catctcgcgg gacaactcca agaacacggt ctacctcag	1080
atgaactccc tcgcgcgtga agataccgcc gtgtactact gtgtggccg cgtgcagtac	1140
ggctccagtt ggtctggtga ttattggggc caggggaccc tggttaccgt gtcctccact	1200
agtaccaga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc	1260
ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg	1320
ctggacttcg ccgtgatata ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt	1380
ctcctgtcac tggttatcac ctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata	1440
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc	1500
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttag caggagcgca	1560
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga	1620
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag	1680

ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800

ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccctca catgcaggcc 1860

ctgccccctc gctaa 1875

<210> 264

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-203 CAR (nucleic acid)

<400> 264

atggcgctgc cagtactgc tctgtctgtg cccctggccc tgctgtcca cgccgctagg 60

cctcaggtag aattgggtga gagcggcggg gtctctgtgc agccaggggg tagcctgcgt 120

ctatcctgtg ctgcttcgg caacattaat tcccgaact gcatgggctg gttccgccag 180

gccccggca aaggtaggga gggcgtggct gccattggac aggtcaccgg tcgcagctac 240

tacgtggatt ctgttaaggg ccgcttcacc atctctttgg ataactcaa gaatactctt 300

tacctccaga tgaactcctt acgcgccgaa gataccgccg tgtactactg tgccgcagcc 360

ccgggggtgcc tgctgagtgc tctgcgggtc ggggactacc gcaactgggg ccagggcacc 420

ctcgtgaccg tgctcatcggg gggaggcggc tcacaggtgc agttgcagga gagtgggccc 480

ggcttggtaa agccttccca gactctgtcc ctgacctgca ctgtgagcgg cgctagcatc 540

accaccggcg agttctattg gaactgggtc agacagccgc ctggcaaggg tctggagtgg 600

atgggcgcca tcgcggcctc cgggtccacg acctactccc cgtccttcga gagccgcacc 660

tccatctctc gggacacttc caagaaccag ttttactga agctgagctc cgtgacggcg 720

gcggacaccg ccgtgtatta ctgcgggcgc tcgtttgggg tggcggctgt caccacagga 780

cagaaccgcg gtcaggggac ccttgtcacc gtgtcgtcgg gcggcggggg ctccgaggtg 840

cagctggtag aatccggtgg cggctctgtg cagccggggc gttcactgcg cctgtcatgc 900

gccgcaagtg gccgtacgtt ctccagttac aacatggggg ggttcagaca ggcccccgga 960

aagggcctcg agttcgtcgc ggtggtcgac tggcttgggc gctcgcccta ttacgcggac 1020

agcgtgaagg gaaggtttac catctcgcgc gacaacagca aaaacacggt ctacctgcag 1080

atgtcttctc tccgcgcgga ggacacagcc gtgtactact gtgccggccg agtgcagtac 1140

ggctccagtt ggtctgggga ctattggggc cagggcaccc tggtgaccgt ctccagcact 1200

agtaccagca cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260

ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cagaggggg 1320

ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380

ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440

ttcaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500

cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560

gacgccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620

agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680

ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800

ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860

ctgccccctc gctaa 1875

<210> 265

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-213 CAR (nucleic acid)

<400> 265

atggcgtgc ctgtgactgc tctgttctg cccttgccc tactgtgca cggccagg 60

cctcaggtec agctggtgga gactggcggg ggggtggtgc agccaggtcg ctctctgcgc 120

ctgtcatcgc ccgttccgg caacattaat tccgcaact gcatgggctg gttccgccag 180

gccccggca agggccgca gggcgtggcg gctatcggtc aggtcaccgg tcgcagctat 240

tacgtggact ccgtgaaggg acgttcacc atctcgttgg ataactcaa aaacacgtg 300

tacctcaga tgaacagcct acgggccgaa gacaccgccg tgtactactg tgctgcagct 360

ccagggtgcc tgctcagcgc gctccgctcg gcggactaca ggaactgggg ccaggggacc 420

ctggtgaccg tgctctctgg aggcggtggc tctcaagtgc agttgcagga gagcgggccc 480

gggctggtaa agccctctca gactctttcg ctgacctga ctgtctctgg cgccagcatc 540

accaccggcg agttctattg gaactggttc cgccagccgc ctggcaaagg cctcgaatgg 600

atgggggcca tcgcggcctc gggctccacg acctactccc cgtccttcga gagccgcacc 660

tccatctctc gcgacaccag caagaaccag ttttactga agctgtctc ggttactgcg 720

gcggacactg ccgtctacta ctgcgggcgt tcttttggtg tggtgtgtgt cacaaccgga 780

cagaaccgcg gacagggcac cctggtcacc gtcagctccg gtggtggcgg ctccgaggtg 840

cagctggtgg agagcggagg aggtttggtg caaccgggcg gtcacctacg gtcagttgt 900
gcagctagcg gtcgtacgtt ctccagctac aacatgggct ggttcagaca ggcggcggt 960
aagggcctgg agtgggtcgc agccgtggat tggctctggg gttcccccta ttacgcggac 1020
agcgtcaagg gaaggtttac gatttctcgt gacaactcca agaatacagt gtacctgcag 1080
atgaactcct tgcgcgccga ggacaccgcg gtgtactact gtgccggccg agtgcagtac 1140

ggctccagtt ggtctggtga ttattggggc cagggcaccc ttgtgacggt gtcgtcgact 1200
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcg ccaccatcgc gtcgcagccc 1260
ctgtccctgc gccagagcg gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cagagggggg 1320
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440
ttcaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500
cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttag caggagcgca 1560

gagcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaagg gcacgatggc 1800
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860
ctgccccctc gctaa 1875

<210> 266

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-217 CAR (nucleic acid)

<400> 266

atggctctgc ctgttaccgc cctaactgtg ccctggcg tgctgtcca cgccgtcgc 60
cctcaggtgc agcttgtgga gagcgcggt ggtgtggtgc agcctggcg ctcgtgcgg 120
ctgtcatcgc ccgcctcggg caacattaac tccgcaact gcattgggtg gttccgccag 180
gccccggga aggaaggga gggcgtggcg gctatcggtc aggtcaccgg ccgcagctat 240
tacgtggaca gcgttaaagg ccgtttcacc atctctctgg acaattcaa gaatacctg 300
tacctccaga tgaacagcct tcgtgccgag gacacggcg tctactactg tgcggccgt 360

cccgggtgcc tgctgtccgc cctgcgctcg gcggactacc ggaactgggg ccagggcacc 420

ctggtgaccg tgcctccgg tggcgggtgc tcccagggtcc agctgcagga gagtgggccg 480

ggcctcgtaa agccctctca gactctttct ctgacctgca ctgtcagcgg tgcctctatc 540

accacaggcg agttctattg gaactgggtc agacagccac ccggcaaggg cttggaatgg 600

atgggcgcca tcgcgcttc cggtccacg acctactccc cgtccttcga gagccgcacc 660

agcatctccc gggacacctc caaaaaccag ttttactga agctgtctc cgtgactgct 720

gcggacactg cggatatacta ctgcgggaga tcttttggcg tggctgcggt gaccaccggt 780

cagaaccgcg gccaaaggcac tctggttacc gtgtccagtg ggggaggcgg ctccgaggtg 840

cagctggtgg agtctggggg tggctcctg cagccagggg gctcgtgcg cctgagctgt 900

gccgcctccg gacgtacgtt ctgagctac aacatgggct ggttccgcca ggccccggc 960

aaaggtctgg agttcgtcgc tgtggtcgat tggctcggag gatctcccta ttacgcggac 1020

agtgtgaagg gccgcttcac catttctcgc gacaaactca agaacacggt gtacctgcag 1080

atgtcttctt tgcgcgccga agataccgca gtgtactact gtgtggccg cgtgcaatac 1140

ggctccagtt ggtctggtga ttattggggc caggggacct tggtgaccgt gagctccact 1200

agtaccagga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260

ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgc cagagggggg 1320

ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380

ctcctgtcac tggttatcac cttttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440

ttcaaaacac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500

cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560

gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620

agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg acctgagat ggggggaaag 1680

ccgagaagga agaacctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800

ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860

ctgccccctc gctaa 1875

<210> 267

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-227 CAR (nucleic acid)

<400> 267

atggcgctgc cggtagactgc tctgctgctg cccctggccc tgctcctaca cgccgcccgc 60

cctcaggtgc agttgcagga gagcggccct ggtctcgtaa agccctcaca gacgctttcg 120

ctgacctgca ctgtcagcgg cgccctccatc accacagggg agttctattg gaattgggtc 180

agacagccac ccggttaagg cctcgaatgg atgggggcca tcgcggcttc tggttcgacc 240

acctactccc cctcttttga gagccgcacc agcatctcgc gcgacacctc caaaaaccag 300

ttctctctga agctgtcctc cgtgaccgct gcggacaccg ccgtgtacta ctgcgggcgc 360

tccttcgggtg tggcggccgt cagcaccggc cagaaccgcg gacagggcac ccttgtaacc 420

gtatcttctg gaggaggcgg ctcccaggtt caactggtgg agagtggagg cggtttggtg 480

cagccaggag gcagtctgcg cctttcatgc gccgcatccg gcaacattaa ctcccgaac 540

tgcattgggt ggttcgccca ggccccggc aagggcaggg agggcgtggc tgccatcggc 600

caggtcaccg tcgctcgtga ctacgtggac agcgtgaagg gaaggtttac catctctctg 660

gacaattcca agaacactct gtacctgcag atgaatagcc tcggggccga ggacaccgcc 720

gtgtactact gtccgcagc tcctgggtgc ctgctgagcg cacttcgcag cgcggactac 780

cggaaactggg gccaggggac cctcgtcaca gtgagctcgg gcggaggtgg ctccgaggtg 840

cagctggtgg agagcgggtg cggcctggtg cagccggggg gctctctccg cctgtcttgt 900

gctgcttccg gacgtacgtt ctgagctac aacatgggct ggttcgccca ggccccggc 960

aaaggtctgg agtgggtcgc cgcggtcgat tggctggcg gctcgcccta ttacgcggac 1020

agcgttaaag gccgcttcac catttctcgg gacaactcca agaacacggt gtacctccag 1080

atgaacagcc ttcgcccca agatacggcc gtctactact gtgccggccg ggtccaatac 1140

ggctccagtt ggctcgggga ttattggggc caaggcacc tggtagaccgt gtcgtccact 1200

agtaccagca cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260

ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg 1320

ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380

ctctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440

ttcaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500

cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560

gacgccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620

agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680

ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860
ctgccccctc gctaa 1875

<210> 268
<211> 1875
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> huA10-230 CAR (nucleic acid)
<400> 268

atggcgctgc cagtgaccgc cctgctgctg cccttgccgc tgcctgcca cgccgctcgc 60
cctcaggctc agctgcagga gaggggacc gccttggtta agccctctca gactctgtct 120
ctgacctgca ccgtgtccgg tgcctccatc accaccggcg agttctattg gaactgggtc 180

agacagccgc ctggcaaggg cctcgagtgg atggcgcca ttgctgcctc cggaagtaca 240
acctactccc cgtcctttga gagccgcacc agcatcagcc gggacacctc caagaaccag 300
ttcagcctga agctgtcctc tgtgacggcc gctgacaccg ccgtctacta ctgcgggct 360
tccttcggcg tggtgctggt gacgaccgga cagaaccgcg gccagggcac cctggtgacc 420
gtatcttccg gcggaggggg ctcccagggt cagctcgtgg agtctggcgg cgggctggtg 480
cagccgggcg gctccctccg tctgtcatgc gctgcttctg gcaacattaa tccccgaac 540
tgcatggggt ggttccgcca gggcctggg aagggtaggg agggcgctgc ggccatcggt 600

caggtcaccg gtcgcagcta ctacgtggac tccgtgaagg gacgtttcac catctcgttg 660
gataacagca aaaacacgct gtacctgcag atgaactccc tgcgtgcgga ggacacagcc 720
gtgtactact gtgcagccgc gccggggtgc ctgctgtccg ccctgcgctc ggccgactac 780
cgcaactggg gccaaaggcac tcttgtcact gtcagctctg gaggcgggtg ctccgaggtg 840
cagctgggtg agagcggcgg agggctggtt cagccaggag gctccttgcg cctgagttgt 900
gccgctccg ggccgacgtt cagttcctac aacatgggct ggttccgcca ggccccgggc 960
aagggcctgg agttcgctgc cgtggtcgac tggctgggg gctcccccta ttacgcggac 1020

agcgtcaagg gcaggtttac tatctctcgc gacaactcca agaataccgt gtacttgag 1080
atgtcttctc ttccgcgcca agatactgcc gtatattact gtgtggccg agtgagctac 1140
ggctccagtt ggtctggtga ttattggggc cagggcaccc tggtagcgt gagctccact 1200
agtaccagca cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatgc gtcgcagccc 1260
ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cacgaggggg 1320
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380

ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440

ttcaaacac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500

cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560

gacgccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620

agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680

ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740

gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800

ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860

ctgccccctc gctaa 1875

<210> 269

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huAIO-240 CAR (nucleic acid)

<400> 269

atggccctgc cggtagccgc tctgtctctg cccctggcgc tgetgttca cgcgccagg 60

cctcaggtec aattgcagga gaggtagacc ggcctcgtta agccctctca gacgtttct 120

ctgacctgca ccgtgtccgg tcttccatc accacaggcg agttctattg gaattggttc 180

agacagccgc ctggcaaagg cctagaatgg atgggggcca tcgcggcttc cggttcgacc 240

acctactccc catccttcga gagccgcacc agcatctccc gtgacacctc caaaaaccag 300

ttctctctga agctgtcaag tgtcactgcc gcggacaccg cgggttatta ctgcgggcgc 360

tcgtttgggt tggcgccggt gacgaccggc cagaaccgcg gacagggtac cctggtagacc 420

gtctcttctg gtgggggtgg ctacaggtg cagctggtgg agagcggagg cgggggtggtg 480

cagccaggcc gctctcttcg gctcagctgt gctgcctctg gcaacattaa ctcccgaac 540

tgcatgggct ggttccgcca ggctcccggg aaggcccgcg agggcgtggc tgctatcgg 600

caggtcacag ggcgagcta ctactggat tctgtgaagg gccgttcac catttctttg 660

gataactcca agaacacgt gtacctgcag atgaacagcc tgcgcgccga agacacggcc 720

gtgtactact gcgccgcagc ccccggtgct ctgctgtccg ccttgcgctc ggccgactac 780

aggaactggg gccagggaac tctggtgact gtcagctccg gcggcggcgg ctccgaggtg 840

cagctggtgg agtcgggcgg aggcctggtg cagccaggcg gctccctccg cctgtcctgt 900

gcggcttctg gccgtacgtt ctctctttac aacatgggct ggttccgcca ggccccgggc 960

aaggggctgg agtgggtcgc cgctgtcgac tggcttgggtg gcagccccta ttacgcggac 1020
agcgtcaagg gtcgcttcac catctctcgc gacaactcca agaataccgt gtacctccag 1080
atgaactccc tccgggccga ggacaccgcc gtctactact gtgccggccg agtgcagtac 1140

ggctccagtt ggcttgggtg ttattggggc cagggcaccc tggtaaccgt gtcctcaact 1200
agtaccagca cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260
ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgc cagagggggg 1320
ctggacttcg ccgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttag caggagcgca 1560

gacgccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1860
ctgccccctc gctaa 1875

<210> 270

<211> 1875

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-243 CAR (nucleic acid)

<400> 270

atggcgctcc cggtagacgc tctgtttctg ccctggccc tgcgtctcca cgccgccagg 60
cctcaggtgc agcttcagga gagcggccct ggtctggtaa agccctctca gacgttttcg 120
ctgacctgca ctgtatctgg ggcttccatc accaccggcg agttctattg gaattggttc 180
cgccagccac ccggcaaagg cctcgagtgg atgggcgcta tcgcggccag cggctccact 240
acctactccc cgtcttttga gagccgcacc agcatctcgc gggacacctc caaaaaccag 300
ttcagttcga agctgagctc agtgactgct gcggacacgg ccgtatatta ctgcgggcgc 360

tccttcggag tggtgtctgt caccacagga cagaaccgcg gacagggcac actggtgacc 420
gtctctccg gcggcggagg ctcccaagtg cagctggtgg agagtggcgg cggggtggtc 480
cagccgggcc gtcgctccg cctgtcatgc gccgtttctg gcaacattaa ttcccgaac 540

tgcattgggct gggtccgcca ggccccgggg aagggcaggg agggcgtggc ggccatcggg 600
 caggctcaccg gtcgtagcta ctacgtggac agcgtcaagg gacgcttcac catttctttg 660
 gataactcca agaatactct gtacctgcag atgaacagct tgagagctga agacaccgcg 720
 gtctactact gtgctgcggc gcccgggtgc ctgctgtccg cgctgcgctc cgccggactac 780

 cggaactggg gccagggcac cctggttacc gtgtcctctg gaggcggggg ttccgaggtg 840
 cagctgggtg agagcggcgg cggactggtg cagccagggg gttccttgcg tcttagctgt 900
 gccgcttccg gtcgcacctt ctcatcttac aacatggggg ggttcagaca ggcccctggc 960
 aagggcctgg agttcgtcgc cgtggtggat tggctgtgtg gctcccccta ttacgcggac 1020
 tccgtgaagg gccgtttcac catctctcgc gacaactcca agaacacggg gtacttgagc 1080
 atgtcttctc tgcgcgccga ggacaccgcc gtgtactact gtgccggccg agtgcagtac 1140
 ggctccagtt ggtctggtga ttattggggc caggggaccc ttgtcacctg gtcgtccact 1200

 agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1260
 ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cagagggggg 1320
 ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1380
 ctctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1440
 ttcaaacac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1500
 cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1560
 gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1620

 agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1680
 ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1740
 gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1800
 ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggec 1860
 ctgccccctc gctaa 1875

 <210> 271
 <211> 1854
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> huA10-267 CAR (nucleic acid)
 <400> 271
 atggcgctgc cggtagacagc tcttctgtg cccctggccc tgctgtcca cgccgccgc 60

 cctcaggtgc agctgggtga gagtgggtgc ggggtggtgc agccaggccg ctgctacgg 120

ctgtcatgcg ccgtttctgg caacattaat tcccgcaact gcatggggtg gttcagacag 180
gctcccggca agggaaggga gggcgtggct gctatcggtc aggtaacgg tcgtctttat 240
tacgtggatt ctgtgaaggg caggtttact atcagcctgg acaactccaa gaacacgctg 300
tacctgcaga tgaactccct ccgcgccgaa gataccgccg tgtactactg tgctgcggcc 360
cccgggtgcc tgctctccgc cctgcgctcc gcagattaca ggaactgggg ccagggtact 420
cttgtcaccg tgttttctgg tggaggcggc tcccaggtcc aattgcagga gagtggccct 480

ggcctcgtca agccctcaca gactctgtct ctgacctgca ctgtatctgg tgcttctatc 540
actaccggcg agttctattg gaactgggtc cgccagccgc ccggaaggg gctggagtgg 600
atgggcgcca tcgcggcttc cggttcgacc acctactccc cctctttcga gagccgcact 660
agcatctcgc gcgacacctc caaaaaccag ttttactga agctgagctc cgtcactgcc 720
gcggacaccg ctgtctacta ctgcgggcca tccttcggtg tggcggccgt caccacagga 780
cagaaccgcg gcaggggcac cctggtgacc gtgagctcgg ggggcggtgg ctcccaaatt 840
cagctgctgg agagcggcgg cggcctggtg cagccggggg gctccctgcg cctgtcatgc 900

gtgcctccg gcttcacgtt cagcaactac cctatgacct ggatccgcca ggccctggt 960
aaaggcctcg agtccgtgtc cgacatcacc agcggagggg acaggcccta ttacgcggac 1020
agcgttaagg gccgcttcac catctctcgt gacaacgcca agaatagtt gtacctccag 1080
atgaactccc tgcgtgccga ggacactgcc gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacc 1140
ctttggggcc agggcaccat ggtgaccgtg tcgtccacta gtaccagac gccagcgccg 1200
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260
tgccggccag cggcgggggg cgcagtgac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320

tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc 1380
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaaga 1500
ggaggatgtg aactgagagt gaagtgcagc aggagcgagc acgccccgc gtaccagcag 1560
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740

atgaaaggcg agcggcgag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 272

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-300 CAR (nucleic acid)

<400> 272

atggcgctgc ccgtcacagc tctattgctt cccctggcgc tcctcttgca cgccgctcgc	60
cctcaggatgc agctgggtgga gagcgggtggt ggtgtggtgc agccggggcgc ctccctgcgg	120
ctttcatgcg ccgcttccgg caacattaat tcccgaact gcatgggggtg gttcagacag	180
gccccaggta agggccgcga gggcgctgcc gccatcggtc aggtcaccgg ccgcagctat	240
tacgtggatt ctgtgaaggg acgcttcacc atctcgctgg acaactccaa aaacacgctt	300
tacctccaga tgaactccct gcgcgccgag gacaccgccg tgtactactg tgcggcggct	360
cctgggtgcc tgcgtgccgc cctgcgctcc gcggactaca ggaactgggg ccagggcacc	420
ctcgtcaccg tgcgtccgg tgggtggcgt tctcaagtgc agttgcagga gagtggccct	480
ggtctcgta agccatcaca gactctcagc ctgacctgca ctgtatctgg cgcctctatc	540
actaccggcg agttctatg gaactgggtc cgcagccac ccggcaaagg tctggaatgg	600
atgggcgcta tcgcggcctc tggctcgacc acctactccc cctcttttga gagtgaacc	660
agcatctcgc gggacacctc caagaaccag ttttactga agctgtctc cgtgacagca	720
gcggacactg ccgtgtacta ctgcgggcgc tccttcggcg tggctgcgtg gaccacaggc	780
cagaaccgcg gacagggtag tctggtcacc gtgagctccg gaggaggggg ctcccaaatt	840
cagctggtgg agagcggcgg cgggctggtg cagccggggg gctccttgcg cctgtcttgt	900
gtgcttccg gcttcacgtt cagcaactac cccatgacct ggctccgcca ggccccgggc	960
aagggcctgg agagcgtgc gcacatcacc tctgggggtg ataggcccta ttacgcggac	1020
agcgtcaagg gccgcttcac catctctcgc gacaatgcca agaataatgt gtacctgcag	1080
atgaactccc tgcgcgccga agatactgct gtctactact gtgccacctg ggaccgcacc	1140
ctgacgggac agggcaccat ggtgacctc tccagtacta gtaccagac gccagcgccg	1200
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg	1260
tgcggccag cggcgggggg cgcagtgac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc	1320
tacatctggg cgccttggc cgggacttgt ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc	1380
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga	1440
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa	1500
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag	1560
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg	1620

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1680
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 273

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huAI0-333 CAR (nucleic acid)

<400> 273

atggccctgc cggtagctgc tctgtctgtg cccttggcgc tgtgtctaca cgccgctaga 60
cctcaggtagc agctggtaga gtctgggggc ggggtggtgc agccgggccc aagccttcgc 120
ctgtcatgcg ccgttccgg caacattaat tcccgaact gcatggggtg gttcagacag 180
gccccggca aaggcaggga gggcgtggct gccatcggtc aggtcaccgg ccgcagctac 240
tacgtggatt ctgtgaaggg ccgttcacc atctctttgg acaactcaa gaacacgctg 300
tacttgaga tgaactccct tcgagccgag gacaccgccg tgtactactg tgctgcagct 360

ccccgggtgcc tgtgagcgc gctgcggagc gcggactacc ggaactgggg ccagggtact 420
ctggtgacag tatcttctgg cggtagcggc tcccagggtc agtccagga gtagggccc 480
gggctggtta agccctctca gacctgagc ctacactgca ctgtctctgg tcttctatc 540
accacaggcg agttctattg gaactgggtc cgccagcccc cgggaaaggg cttgaaatgg 600
atgggcgcca tcgcgcatc gggctccacc acctactccc catcttctga gagccgacc 660
agcatctcgc gcgacaccag caagaaccag ttctctctga agctgtctc cgtaacggcc 720
gcggacaccg ccgtgtatta ctgcgggcgc tcgtttggtg tggcggccgt cacgaccggc 780

cagaaccgcg gacagggcac cctggtgacc gtcagctcgg gggcggtgg ttctcaaatt 840
cagctggtgg agagcggcgg cggattggtg cagccaggag gctccctcgg tctttcgtgt 900
gcggcttccg gcttcacgtt cagcaactac cctatgacct ggctccgcca ggcccccggc 960
aagggtctgg agtccgtgtc cgacatcacc tccggcgtg ataggcccta ttacgcggac 1020
agcgtcaagg gaaggtttac catttctcgt gacaatgcca aaaacatgct ctacctgcag 1080
atgaactccc tcgcgccga agatactgca gtgtactact gtgccacctg ggaccgcact 1140
ctgaccggtc aaggcacctt tgtcaccgtg tcgtccacta gtaccagac gccagcgccg 1200

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcg 1260

tgccggccag cggcgggggg cgagtgac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320
 tacatctggg cgcccttggc ggggacttgi ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc 1380
 ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatata tcaaacaacc atttatgaga 1440
 ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1500
 ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag 1560
 ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680
 gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740
 atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800
 gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 274

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huAI0-433 CAR (nucleic acid)

<400> 274

atggcgctcc cagtgcaccg cctgtttctg cccttgccc tgctgtgca cgccggccgc 60
 cctcaggtgc agctgcagga gtctggacc ggctctgtca agccctctca gactctgtcc 120

ctgacctgca ctgtatccgg cgcgagcatc accacaggcg agttctattg gaattggttc 180
 cgccagccac ccggcaaggg cttagagtgg atggcgcca tcgcggttc tggctccacg 240
 acctactccc cgtccttcga gagccgacc tccatctccc gcgataccag caagaaccag 300
 ttcagcctga agctgagctc cgtcactgct gcggacaccg cgggtgatta ctgcgggcgt 360
 tcctttgggg tggctgccgt caccaccggt cagaaccgcg gacagggcac cctggtaacg 420
 gtgtcctcgg gtggtggagg ctcccagtg cagttggtgg agagtggcgg tggcctggtg 480
 cagcctggag gtcacctacg gctttcatgc gctgcttcg gcaacatcaa ctcccgaac 540

tgcattgggt gggtcagaca ggcccttggc aaaggcaggg agggcgtggc ggccattgga 600
 caggtcaccg gccgcagcta ctactggat tctgtgaagg gcaggtttac catttcgttg 660
 gataactcca agaacacgct ttacctccag atgaacagcc ttcgggccga agacaccgca 720
 gtgtactact gtgctgcagc tcctgggtgc ctgctctccg cgctgcgctc ggccgactac 780
 aggaactggg gccagggtac cctggtgacc gtctcttcgg gcgggggcgg ttcccaaatt 840
 cagctgctgg agagcggggg aggactggtg cagccgggtg gatctctgcg cctgtcatgc 900

gccgcctctg gcttcacgtt cagcaactac ccgatgacct ggatccgcca ggcccccggg 960

aagggtcttg agagcgtcag tgacatcact tctggtgggg acaggcccta ttacgcggac 1020

tccgtgaaag ggcgcttcac catctctcgc gacaacgcca agaatatgct gtacctgcag 1080

atgaactccc tgcgcgccga ggacaccgcc gtgtactact gtgccacctg ggaccgcact 1140

ctttggggcc agggcaccat ggtgaccgtg tcaagcacta gtaccacgac gccagcgccg 1200

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260

tgccggccag cggcgggggg cgcagtgac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320

tacatctggg cgccttggc cgggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc 1380

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttcaga agaagaagaa 1500

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1560

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800

gccaccaagg acacctacga cgccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 275

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-467 CAR (nucleic acid)

<400> 275

atggcgcttc cggtagctgc gctgctgctg cccttgccc tccttctcca cgccgtcgc 60

cctcaggtgc agctacagga gagcgccct ggtttggtga agccctctca gacgtgtct 120

ctcacctgca ccgtgtccgg tgcttccatc accaccggcg agttctattg gaattggttc 180

agacagccac ccggcaaggg actggagtgg atggcgcca tcgcggcatc cggtccacg 240

acctactccc cgtccttcga gagccgaacc agcatctccc gcgacacctc caaaaaccag 300

ttcagcctga agctgtcttc tgtcacggcc gcggacactg ccgtgtacta ctgcgggcgc 360

tccttcggcg tcgcagccgt caccacagga cagaaccgcg gccaaggaaac tctggtgacc 420

gtctcttctg gcggaggcgg ctcccaagtg cagctggtgg agagcggtgg agggctagtt 480

cagcctggcg gticcctgcg tctatcatgc gccgccagcg gcaacattaa cagccgcaac 540

tgcatggggt ggttccgcca ggccccgggg aaggggaggg agggcgtggc tgccattgga	600
caggtcaccc gcagaagcta ctacgtggac agcgtcaagg gccgcttcac catctctctg	660
gacaactcca agaacacgct ttacctgcag atgaactcct tacgtgcgga agataccgcc	720
gtgtactact gtgcagcggc tccccgggtgc ctgctttctg ctctgcgctc cgccgattac	780
cgcaactggg gccagggcac cctggtcacg gtgagctctg gaggcggcgg gtcccagatc	840
cagctggtag agtcgggcgg tggcttgggt cagccgggcg gctcgcttcg cctgagctgt	900
gctgcttctg gcttcacgtt cagcaactac cccatgacct ggctccgcca ggcccctggc	960
aaaggcctcg agagtgttag tgacatcact tctggcgggtg atcgcccta ttacgcggac	1020
tccgtgaagg gccgcttcac catctcgcg gacaaccca agaatatgct gtacttgcag	1080
atgaactccc tgcgcgccga ggacaccgcc gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacc	1140
ctgaccggtc agggaaactat ggtgacctg tctccacta gtaccacgac gccagcgccg	1200
cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgcctctgcg ccagaggcg	1260
tgccggccag cggcgggggg cgcagtgac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc	1320
tacatctggg cgcccttggc ggggacttgt ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc	1380
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga	1440
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa	1500
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag	1560
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg	1620
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag	1680
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg	1740
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca	1800
gccaccaagg acacctaga cgcccttcac atgcaggccc tgeccctcg ctaa	1854
<210> 276	
<211> 1854	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> huAIO-500 CAR (nucleic acid)	
<400> 276	
atggccctgc cggtgactgc tctgtgctg ccctggccc tcctattaca cgccgctagg	60
cctcaggtec agcttcagga gagcggaccc ggccctcgta agccctctca gactctttct	120
ctgacctgca ctgtatctgg cgcttccatc accacaggcg agttctattg gaattggttc	180

agacagccgc ccggcaaagg ccttgaatgg atgggcgcca tcgcggttag cggctccacc 240
 acctactccc catcctttga gagccgcacc agcatctcgc gcgacacctc caaaaaccag 300
 ttcagcctga agctgagctc cgtgacggcc gcggacaccg cgggtgacta ctgcgggcgc 360
 tccttcggcg tggcggccgt gaccacaggc cagaaccgcg gacagggcac cctcgtcacc 420
 gtctcttccg gtggtggggg ctcccagggtg cagctggtgg agtcgggcgg cggattggtg 480

 cagccaggcg gtcctctccg cctgtcctgt gcagcttctg gcaacattaa ctcccgaac 540
 tgcattgggt gggtccgcca ggcccttggc aaggcccgcg agggcgctgc ggctatcgg 600
 caggctactg gaagaagcta ctacgtggat tctgtgaagg gccgtttcac catctcactg 660
 gacaactcca agaacacgct ttacctgcag atgaactccc tacgcgccga ggacaccgcc 720
 gtctattact gtgctgctgc tcccgggtgc ctgctgagtg cgctgcgctc cgcggactac 780
 aggaactggg gccagggcac cctggtgacc gtgtcctctg gaggaggcgg gtcccaaatt 840
 cagctggtgg agagtggggg tggcttgggtg cagccgggcg gtcctctgcg tctgtcatgc 900

 gccgcctcgg gcttcacgtt cagcaactac cctatgacct ggctccgaca ggccccgggg 960
 aaggggctgg agagcgtgtc cgacatcact tccggagggg acaggcccta ttacgcggac 1020
 agcgttaagg gacgcttcac catctctcgg gataacgcca agaacatgct gtacctccag 1080
 atgaacagcc ttcgagcaga agataccgca gtgtactact gtgccacctg ggaccgcact 1140
 ctgacgggac agggtagcct gggttaccgtg tcgtcgacta gtaccagac gccagcgccg 1200
 cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtcctctgcg ccagaggcg 1260
 tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320

 tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tccgtcact ggttatcacc 1380
 ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 1440
 ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1500
 ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag 1560
 ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620
 gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1680
 gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740

 atgaaaggcg agcgcgggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800
 gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

 <210> 277
 <211> 1854
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huA10-600 CAR (nucleic acid)

<400> 277

atggcgctgc ccgtgacggc cctcttgtaa ccctggccc tgcgtctgca cgccgccagg	60
cctcaggtgc agctgcagga gacggccct ggctctgca agccctctca gactctttcg	120
ctgacctgca ccgtgtccgg cgcgtctatc accacaggcg agttctattg gaattggttc	180
agacagccgc cgggtaaggg cttggaatgg atgggggcca tcgcggttc tggatcgacc	240
acctactccc cgtccttcga gagccgcacc tccatctctc gggacaccag caaaaaccag	300
ttttcactga agctgtcctc cgtgactgcc gcggacaccg ccgtgtacta ctgcgggcgc	360
tcgtttgggg tggcgccgt gacgaccggc cagaaccgcg gccagggaac tctggtgaca	420
gtgtcctctg gggcgagg ctcccaggtc caattggtgg agagcgcg cggtgtggtg	480
cagccaggcc gtctctcg cctgtctgt gctgcatccg gcaacattaa ctcccgaac	540
tgcattgggt ggttcgcc gggccgggc aaaggtcggg agggcgtggc tgcaatcggc	600
caggtcaccg gtcgcagcta ctacgtggac agtgtaaagg gccgttcac ctttctctg	660
gacaactcca agaacacgt gtacctccag atgaacagcc tccgcgccga ggacactgct	720
gtatattact gtgctgtgc tccgggtgc ctgctctccg cgctccgag tgcggactac	780
aggaactggg gacaggcac cctctcacc gtctctccg gaggggtg ctcccaaatt	840
cagctgtgg agagtgtgg tgggtgtg cagccaggcg gctcccttag actttcatgc	900
gccgtctccg gttcacgtt cagcaactac cccatgacct ggatccgcca gggccctggc	960
aagggtctgg agagctttc cgacatcact tccggcggg acaggcccta ttacgggat	1020
tctgtgaagg gccgttcac catctcgcg gacaacgcca agaactgct ttacctgcag	1080
atgaactccc tgcgcgaga agataccgca gtgtactact gtgccacctg ggatcgaacc	1140
ctttggggcc agggcactat ggtgacctg tcttctacta gtaccagac gccagcgccg	1200
cgaccaccaa caccggcgc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg	1260
tgcggccag cggcggggg cgagtgac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc	1320
tacatctggg cgccttggc cgggacttgi ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc	1380
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga	1440
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa	1500
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtaccagcag	1560
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg	1620
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag	1680

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 278

<211> 1854

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> huAI0-633 CAR (nucleic acid)

<400> 278

atggcgctgc cggtagctgc gctgctgctg cccttgccc tgctcctcca cgccgctcgc 60

cctcaggtgc agttgcagga gagtgggccc gggtgtgta agccctcaca gactctgagc 120

ctgacctgca ctgtttccgg tgctagcatc actacgggcg agttctattg gaactggttc 180

agacagccac ccggcaaggg tctcgagtgg atgggggcta tcgcggcttc cggtcgcacc 240

acatactccc cctctttcga gagccgcacc tctatctctc gcgataccag caaaaaccag 300

ttttcactga agctgtcctc cgtcactgct gctgacaccg cggtgtacta ctgcgggcgt 360

tccttcggcg tggcggtctg caccaccgga cagaaccgag gacagggcac cttgttacc 420

gtgtcgtcgg gaggaggcgg ctcccaggtc cagctggtgg agagcggggg tggggtggtg 480

cagccgggcc gttcacttcg cctgagttgt gctgcctctg gcaacatcaa ctcccgaac 540

tgcatgggct ggttcgccca ggccctggc aaaggccgag agggcgtggc tgccatcggt 600

caggtcaccg gccgcagcta ctacgtggat tctgtcaagg gtaggtttac catttctctg 660

gacaactcca agaacacgct gtacctccag atgaactcct tacgtgccga ggacaccgct 720

gtctactatt gtctgcagc cccggggtgc ctgctgtccg ctttaagaag cgcggactac 780

aggaactggg gccagggaac cctggtgact gtgagctccg gaggcggtgg atcccaaatt 840

cagctggtgg agtctggcgg cgcccttgtg cagcctggtg gctccctccg tctgtcatgc 900

gccgctcgg gcttcacgtt cagcaactac ccgatgacct ggctccgcca ggcccccggg 960

aagggcctgg agagcgtgtc cgacatcacc tccggcgggg acaggcccta ttacgcggac 1020

tccgtgaagg gacgcttcac catctcgcgg gacaatgcca agaataatgt ttacctgcag 1080

atgaactctc tgcgcgccga agatacggcc gtgtactact gtgccacctg ggaccgcacc 1140

ctcaccggcc agggcactat ggtgacagta tcttctacta gtaccacgac gccagcgccg 1200

cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260

tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320

tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc	1380
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga	1440
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa	1500
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgagc acgccccgc gtaccagcag	1560
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg	1620
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag	1680
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg	1740
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc ttaccagggt tctcagtaca	1800
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa	1854
<210> 279	
<211> 1854	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> huA10-667 CAR (nucleic acid)	
<400> 279	
atggccctgc ctgtgactgc gctcctgctg cccttgccc tgcttttgca cgccgctcgt	60
cctcaggtgc agttgcagga gagcgggccc gggttggtaa agcccagcca gactctgtcc	120
ttgacctgca ctgtatctgg tcttccatc acgaccggcg agttctattg gaactggttc	180
cgccagccac cggcaagggt ccttgaatgg atggcgcca tcgcggcttc tggtcgcacc	240
acctactccc cctcttttga gagccgcacc agcatctccc gggacacctc caaaaaccag	300
ttctcgtga agctgagttc cgtgacggcc gcggacactg ccgtgtacta ctgcgggcgc	360
tccttcggcg tcgcagccgt caccacagga cagaaccgcg gacagggaac tctggttacg	420
gtaagctcgg gaggcggtgg ctcccaggtc cagctggtgg agagcggagg tgggtggtg	480
cagccgggac gcagccttcg cctttcgtgt gctgcgtccg gcaacattaa ttcccgaac	540
tgcatgggct ggttcagaca ggccccagga aaaggcaggg agggcgtggc tgccatcgg	600
caggtcactg gccggagcta ctacgtggat tctgtgaagg gtagattcac catctctctg	660
gacaactcca agaacacgct ttacctgcag atgaactccc tgcgcgccga agataccgcc	720
gtgtactact gtgcggcggc ccctgggtgc ctgctctcgg cgctgcgctc tcgggactac	780
aggaactggg gccaggggac ccttgtcacc gtctcttctg gcggaggcgg ctcccaaatt	840
cagctggtgg agagtggggg cggcctagtg cagccgggcg gctccctgcg cctgtcatgc	900
gccgcttcgg gcttcacgtt ctgcaactac ccgatgacct ggctccgcca ggccccgggc	960

aaaggctctgg agtccgtgtc cgacatcacc agtgggggtg ataggcccta ttacgcggac 1020
 agtgtcaagg gccgcttcac catctcgcgc gacaacgcca agaataatgct gtacctccag 1080
 atgaactcct tacgggccga ggacacagcg gtgtactact gtgccacctg ggacaggacc 1140
 ctgaccggcc agggcacccct ggtgaccgtg agctccacta gtaccacgac gccagcgccg 1200
 cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 1260
 tgccggccag cggcgggggg cgagtgacac acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc 1320
 tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtccttc tccgtcact ggttatcacc 1380

ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 1440
 ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc thtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1500
 ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag 1560
 ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1620
 gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1680
 gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1740
 atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1800

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1854

<210> 280

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FMC63 scFv

<400> 280

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu

115 120 125
Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys

130 135 140
Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg

145 150 155 160
Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser

165 170 175
Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile

180 185 190
Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln

195 200 205
Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly

210 215 220
Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val

225 230 235 240
Ser Ser

<210> 281

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Leu16 scFv

<400> 281

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met

20 25 30

Asp Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr

35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser

115 120 125

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

130 135 140

Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asn Met His Trp Val Lys Gln

145 150 155 160

Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn

165 170 175

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

180 185 190

Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr

195 200 205

Ser Glu Asp Ser Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asn Tyr Tyr Gly

210 215 220

Ser Ser Tyr Trp Phe Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr

225 230 235 240

Val Ser Ser

<210> 282

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> m971 scFv

<400> 282

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

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

50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Val Thr Gly Asp Leu Glu Asp Ala Phe Asp

100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr

130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile

145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Trp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser

180 185 190

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr

195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala Thr

210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 283

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat) of VHH-623

<400> 283

Gly Arg Thr Phe Ser Asn Tyr Ala

1 5

<210> 284

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-623

<400> 284

Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ala Val Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 285

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (Kabat) of VHH-623

<400> 285

Gly Ile Tyr Tyr Gly Ser Asn Trp Ser Ser Glu Asn

1 5 10

<210> 286

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (IMGT) of VHH-623

<400> 286

Gly Arg Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Ala Gly

1 5 10

<210> 287

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-623

<400> 287

Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro

1 5

<210> 288

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (IMGT) of VHH-623

<400> 288

Ala Ala Gly Ile Tyr Tyr Gly Ser Asn Trp Ser Ser Glu Asn

1 5 10

<210> 289

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat) of VHH-640

<400> 289

Gly Tyr Thr Trp Gln Thr Tyr Cys Met Ala

1 5 10

<210> 290

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-640

<400> 290

Val Ala Thr Gly Ser Arg Thr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 291

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (Kabat) of VHH-640

<400> 291

Asp Pro Arg Arg Tyr Gly Ser Cys Pro Leu Ser Ala Ala Asn Phe Asn

1 5 10 15

Asn

<210> 292

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (IMGT) of VHH-640

<400> 292

Gly Tyr Thr Trp Gln Thr Tyr Cys

1 5

<210> 293

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-640

<400> 293

Val Ala Thr Gly Ser Arg Thr Thr

1 5

<210> 294

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (IMGT) of VHH-640

<400> 294

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

1 5 10 15

Phe Asn Asn

<210> 295

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat) of VHH-657

<400> 295

Ala Asn Ile Arg Val Phe Tyr Leu Met Gly

1 5 10

<210> 296

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (Kabat) of VHH-657

<400> 296

Arg Val Asn Ala Asp Gly Ile Thr Asn His Ala Ala Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 297

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (Kabat) of VHH-657

<400> 297

Gly Arg Thr Trp Asn Ser Gly Phe Glu Tyr

1 5 10

<210> 298

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (IMGT) of VHH-657

<400> 298

Ala Asn Ile Arg Val Phe Tyr Leu

1 5

<210> 299

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 (IMGT) of VHH-657

<400> 299

Val Asn Ala Asp Gly Ile Thr

1 5

<210> 300

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3 (IMGT) of VHH-657

<400> 300

Ala Thr Gly Arg Thr Trp Asn Ser Gly Phe Glu Tyr

1 5 10

<210> 301

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-623 (amino acid)

<400> 301

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Ala Ala Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Ala Asp Ala Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Ala Gly Ile Tyr Tyr Gly Ser Asn Trp Ser Ser Glu Asn Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 302

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-640 (amino acid)

<400> 302

Gln Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Trp Gln Thr Tyr
20 25 30

Cys Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ala Val Ala Thr Gly Ser Arg Thr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Tyr Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Asp Pro Arg Arg Tyr Gly Ser Cys Pro Leu Ser Ala Ala Asn Phe
100 105 110

Asn Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 303

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-657 (amino acid)

<400> 303

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ala Gly Gly

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

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

115

<210> 304

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-623 (nucleic acid)

<400> 304

caggtaaagc	tggaggagag	cggaggtggt	ctggtgcaag	ccggcggctc	cctccgtctt	60
tcatgcgccg	cttcgggacg	aacattttca	aattatgcgg	ctgggtggtt	ccgccaggcc	120
ccgggcaagg	agcgcgagtt	cgctcgagcc	attagctggt	ctggtggctc	cccctattac	180
gcggacgccg	tgcgcgggcg	cttcaccatc	tctcgggaca	acgcgaaaaa	cacggtgtac	240

ctgcagatga actccctgaa gccagaagat accgccgttt actactgtgc tgcaggcatc 300
tactacggca gcaactggtc ttcggagaac tggggccagg gcaccagggt caccgtgtcg 360
tcc 363

<210> 305

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-640 (nucleic acid)

<400> 305

caggtgaagc tggtagagag cggaggggggt tccgtgcagg ccggcggatc gctgcggttg 60
tcctgtgccg ctctggcta cactggcaa acgtactgca tggcttggtt ccgccaggct 120
cccgggaagg agagggaggg cgtagctgtg gcgactggtt cccgcaccac aagctacgcg 180
gacagtgtta aaggccgttt taccatctcc aaggactatg ccaagaatac tctgtacctg 240
cagatgtctt ctctggagcc tgaagatacc gccatgtatt actgtgctgc ggaccgcgcg 300
cgctacggct catgccact cagcgcagcc aacttcaaca actggggcca gggcacccag 360
gtcaccgtgt cctcg 375

<210> 306

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-657 (nucleic acid)

<400> 306

caggtgcagc tggtagagag cggagggggc tccgtcagg ccggaggctc gctgcgccta 60
tcatgccagg cctccgcaa cattcgagtg ttctacttga tgggttggtt ccgccaggcg 120
ccggggaagg agagggagga ggtggctcgc gtcaacgcgg acggcatcac caaccatgca 180
gcctccgtaa agggccgctt caccatctct gaggacagtc caaaaaacac tctttatctg 240
cagatggatt ctctgaagcc tgaagacacc gccgtgtact actgtgccac gggtcggacc 300
tggaactccg gttttgagta ctggggccag ggacccagg tcaactgtgag ctcg 354

<210> 307

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2 of VHH-131 (Kabat)

<400> 307

Gly Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 308

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-131 (amino acid)

<400> 308

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Asn Ile Asn Ser Arg Asn

20 25 30

Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Gly Ile Gly Gln Val Thr Gly Arg Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Ala Pro Gly Cys Leu Leu Ser Ala Leu Arg Ser Ala Asp Tyr

100 105 110

Arg Asn Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 309

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-131 (nucleic acid)

<400> 309

caggtgcagc tgggtggagag cggaggaggc tccgtgcagg ccggcggctc cctgcgcctg 60

tcatgcgggg cttccggcaa cattaactcc cgcaactgca tgggctggtt ccgccaggcc 120

cccggcaagg agcgcgaggg cgtggctggc atcggtcagg tcaccggccg cagctactac 180

gcggacacgc tgaagggccg cttcaccatc tctctggaca acgccaagaa catgctgtac 240

ctgcagatga acacgtgaa gcctgaagac accgccatgt attactgtgc cgcggctccc 300

gggtgcctgc tgagcgcgt ccgtagtgcg gactacagga attggggcca gggcacccag 360

gtcaccgtgt cgtcc 375

<210> 310

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat with 5aa) of VHH-273,VHH-283, huVHH-253, huVHH-256

<400> 310

Ser Tyr Asn Met Gly

1 5

<210> 311

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat with 5aa) of VHH-313 and huVHH-260

<400> 311

Ser Tyr Ser Met Gly

1 5

<210> 312

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat with 5aa) of VHH-440, VHH-653, VHH-466, huVHH-836,
huVHH-840, huVHH-843, huVHH-846 and VHH-657

<400> 312

Phe Tyr Leu Met Gly

1 5

<210> 313

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat with 5aa) of VHH-496, huVHH-746, and huVHH-750,
huVHH-753

<400> 313

Asn Tyr Pro Met Thr

1 5

<210> 314

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 (Kabat with 5aa) of VHH-623

<400> 314

Asn Tyr Ala Ala Gly

1 5

<210> 315

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> CDR1 (Kabat with 5aa) of VHH-640

<400> 315

Thr Tyr Cys Met Ala

1 5

<210> 316

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1 of VHH-083 & VHH-131 (Kabat with 5aa)

<400> 316

Arg Asn Cys Met Gly

1 5

<210> 317
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CDR1 of VHH-111 (Kabat with 5aa)
 <400> 317

Asn Lys Trp Met Gly

1 5

<210> 318

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-18 CDR1 (Kabat with 5aa)

<400> 318

Ser Val Ser Met Gly

1 5

<210> 319

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-66 CDR1 (Kabat with 31-35)

<400> 319

Thr Gly Glu Phe Tyr Trp Asn

1 5

<210> 320

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-87 CDR1 (Kabat with 5aa)

<400> 320

Thr Tyr Cys Met Gly

1 5

<210> 321

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-90 CDR1 (Kabat with 5aa)

<400> 321

Arg Tyr Cys Met Gly

1 5

<210> 322

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-102 CDR1 (Kabat with 5aa)

<400> 322

Gly Tyr Cys Leu Ala

1 5

<210> 323

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VHH-105 CDR1 (Kabat with 31-35)

<400> 323

Val Ser Ile Ala

1