(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0149228
(43) 공개일자 2021년12월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) *C07K 14/735* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *C07K 16/30* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/705 (2013.01)
C07K 14/70535 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7038936(분할)
(22) 출원일자(국제) 2015년09월17일
심사청구일자 2021년11월29일
(62) 원출원 특허 10-2017-7009915
원출원일자(국제) 2015년09월17일
심사청구일자 2020년09월16일
(85) 번역문제출일자 2021년11월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/050715
(87) 국제공개번호 WO 2016/044605
국제공개일자 2016년03월24일
(30) 우선권주장
PCT/CN2014/086694 2014년09월17일 중국(CN)
PCT/CN2014/090578 2014년11월07일 중국(CN)

(71) 출원인
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
더 트러스티스 오브 더 유니버시티 오브 펜실바니아
미국, 19104 펜실바니아주, 필라델피아, 9층, 씨빅 센터 불러바드 3600
(72) 발명자
비티, 그레고리
미국 19106 펜실베니아주 필라델피아 스프루스 스트리트 621
엥겔스, 보리스
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크.
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장덕순, 김영

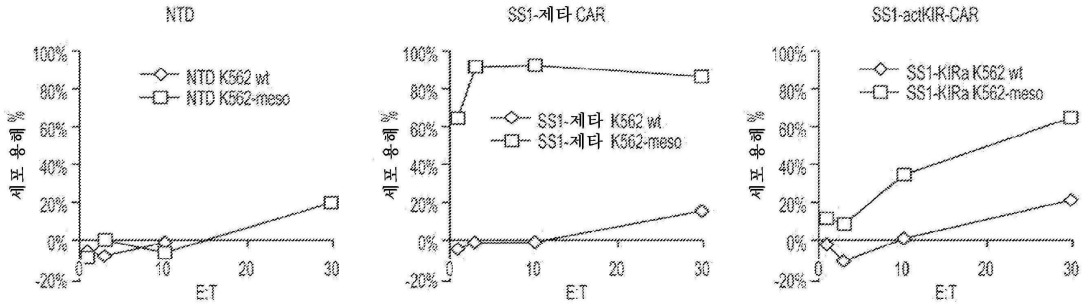
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **입양 면역요법을 위한 키메라 수용체에 의한 세포독성 세포의 표적화**

(57) 요 약

본 발명은 면역요법에 사용하기 위한 면역 이펙터 세포의 특이성 및 활성을 조절하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 자연 킬러 (NK) 세포 상에서 자연적으로 발견되는 수용체의 성분을 포함하는 CAR 설계인 "NKR-CAR"로 불리는 키메라 항원 수용체 (CAR)의 유형을 제공한다. 한 실시양태에서, NK 수용체는 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)로 공지된 NK 세포의 자연 발생 활성화 및 억제 수용체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C07K 16/28 (2013.01)
C07K 16/30 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/74 (2013.01)
C07K 2319/02 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)
C07K 2319/70 (2013.01)

(72) 발명자
이다마칸티, 니라자
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크.
준, 카를, 에이치.
미국 19066 펜실베니아주 메리온 스테이션 베어드 로드 409
뢰브, 안드레아스
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치, 인크.
밀론, 마이클, 씨.
미국 08002 뉴저지주 체리 힐 서리 로드 314
송, 후이주안
중국 201203 상하이 장지앙 하이-테크 파크 레인 898 할레이 로드 넘버8 빌딩 차이나 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치
왕, 엔시우
미국 19082 펜실베니아주 어퍼 다비 가레트 로드 1600
우, 치롱
중국 201203 상하이 장지앙 하이-테크 파크 레인 898 할레이 로드 넘버8 빌딩 차이나 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리서치

명 세 서

청구범위

청구항 1

활성화 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 키메라 항원 수용체 (actKIR-CAR)를 코딩하는 서열을 포함하는 핵산이며, 여기서 actKIR-CAR이

(i) 항체 분자 또는 비-항체 스캐폴드로부터의 세포외 항원 결합 도메인;

(ii) 활성화 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (actKIR) 막횡단 도메인; 및

(iii) 세포질 도메인

을 포함하는 것인 핵산.

청구항 2

제1항에 있어서, actKIR 막횡단 도메인이 DAP12 폴리펩티드의 막횡단 도메인과 상호작용할 수 있는 것인 핵산.

청구항 3

제1항에 있어서, actKIR 막횡단 도메인이 양으로 하전된 모이어티를 포함하는 것인 핵산.

청구항 4

제1항에 있어서, 세포질 도메인이 KIR-세포질 도메인인 핵산.

청구항 5

제1항에 있어서, 항원 결합 도메인이 메소텔린, CD19, CD123, EGFRvIII, CLL-1, BCMA, CD33, 클라우딘6 또는 WT1에 결합하는 항체를 포함하는 것인 핵산.

청구항 6

제5항에 있어서, 항원 결합 도메인이 메소텔린 또는 CD19에 결합하는 항체를 포함하는 것인 핵산.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 핵산에 의해 코딩되는 활성화 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 키메라 항원 수용체 (actKIR-CAR).

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 핵산 또는 상기 핵산에 의해 코딩되는 활성화 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 키메라 항원 수용체 (actKIR-CAR)를 포함하는 세포독성 세포.

청구항 9

제8항에 있어서, NK 세포 또는 T 세포인 세포독성 세포.

청구항 10

세포독성 세포 내로 제8항에 기재된 핵산을 도입하는 것을 포함하는, 제8항에 따른 세포독성 세포를 제조하는 방법.

청구항 11

제8항에 있어서, 케모카인 수용체 CCR2b 또는 CXCR2를 코딩하는 핵산을 추가로 포함하는 세포독성 세포.

청구항 12

유전자 조작된 T 세포이며, 여기서 상기 T 세포 내의 내인성 T 세포 수용체 (TCR)가 불활성화 또는 비활성이고, 상기 T 세포는 오픈 리딩 프레임을 포함하고, 상기 오픈 리딩 프레임은 제7항에 따른 actKIR-CAR을 코딩하고 상기 actKIR-CAR에 의해 조절되며, actKIR-CAR이 항원에 결합할 때, 오픈 리딩 프레임의 발현이 개시될 수 있는 것인, 유전자 조작된 T 세포.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2014년 9월 17일에 출원된 PCT 출원 번호 PCT/CN2014/086694, 및 2014년 11월 7일에 출원된 PCT 출원 번호 PCT/CN2014/090578에 대한 우선권을 주장한다. 각각의 이들 출원의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0003] 유전자 전달 기술의 사용에 의해, T 세포는 주요 조직적합성 복합체 (MHC)에 의해 부과된 제약과 독립적인 특이성을 T 세포에게 부여하는 항체 결합 도메인을 그의 표면 상에서 안정적으로 발현하도록 유전자 변형될 수 있다. 키메라 항원 수용체 (CAR)는 항체의 항원 인식 단편 (예를 들어, scFv 또는 단일쇄 가변 영역 단편)이 CD3-제타 쇄의 세포내 도메인과 융합된 T-세포 (CART 세포) 상에서 발현된 합성 단백질을 나타낸다. scFv의 동족 항원을 발현하는 표적 세포와의 상호작용시, T 세포 상에서 발현된 CAR은 T-세포 활성화를 촉발하고, 이는 표적 세포 사멸 (표적 세포 용해로도 지칭됨)로 이어질 수 있다. 추가의 공동자극 신호, 예컨대 CD137 또는 CD28의 세포내 도메인과 조합될 경우, 이들 수용체는 또한 증식을 생성할 수 있다. 그러나, 이러한 증식 중 일부는 통상의 T 세포 수용체 (TCR) 반응과 달리 항원-비의존성인 것으로 보인다 (Milone et al., 2009, Mol Ther 17(8):1453-64). 인공 수용체는 MHC 분자와 복합체화된 항원 펩티드에 결합한 천연 TCR에 의해 생산되는 세포내 신호 전달을 완전히 재현하지 않는다 (Brocker, 2000, Blood 96(5):1999-2001). 신호전달 결함은 입양 전달 시 IL-2와 같은 시토카인의 높은 수준의 부재 하에 CART 세포의 장기 생존을 제한할 수 있다 (Lo et al., 2010, Clin Cancer Res 16(10):2769-80). 이는 또한 일부 항암 적용에 유익할 수 있는 변경된 조절을 갖지만 (Loskog et al., 2006, Leukemia 20(10):1819-28), 이들 조절 결함은 또한 심지어 극도로 낮은 수준에서도 항원을 또한 발현하는 정상 조직에 대한 그의 "오프-타겟" 활성을 제어하는데 잠재적인 도전과제를 발생시킨다. 이들 "오프-타겟" 효과는 CAR-기반 치료에 대한 심각한 제한이며, CAR-변형된 T 세포의 초기 I상 평가 동안 유의한 사망을 발생시킨 바 있다 (Morgan et al., 2010, Mol Ther 18(4):843-51).

[0004] 따라서, 관련 기술분야에서는 현행 CAR-기반 치료에 대한 제한을 극복하는 CAR을 구축하기 위한 대안적 접근법에 대한 필요가 존재한다. 본 발명은 이러한 관련 기술분야의 미충족 필요를 다룬다.

발명의 내용

[0005] 제1 측면에서, 본 발명은 세포외 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 예를 들어 NKR 막횡단 도메인, 및 세포질 도메인, 예를 들어 NKR 세포질 도메인 중 1, 2개 또는 모두를 포함하는 정제된 또는 비-자연 발생 자연 킬러 세포 면역 기능 수용체-키메라 항원 수용체 (NKR-CAR) 폴리펩티드를 특색으로 한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드는 세포외 항원 결합 도메인, 및 하기: 막횡단 도메인, 예를 들어 NKR 막횡단 도메인; 또는 세포질 도메인, 예를 들어 NKR 세포질 도메인 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 NKR-CAR 폴리펩티드는 세포외 항원 결합 도메인; 막횡단 도메인 및 NKR 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드는 세포외 항원 결합 도메인, NKR 막횡단 도메인 및 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드는 세포외 항원 결합 도메인, NKR 막횡단 도메인 및 세포질 도메인을 포함한다.

[0006] 한 실시양태에서, 상기 NKR-CAR 폴리펩티드는 KIR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR 또는 inhKIR-CAR, NCR-CAR, 예를 들어 actNCR-CAR, SLAMF-CAR, 예를 들어 inhSLAMF-CAR, FcR-CAR, 예를 들어 CD16-CAR, 예를 들어 actCD16-CAR, 또는 CD64-CAR, 예를 들어 actCD64-CAR, 또는 Ly49-CAR, 예를 들어 actLy49-CAR 또는 inhLy49-CAR을 포함한다.

[0007] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드는 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)로부터의 막횡단 도메인 (KIR 막횡단 도메인) 또는 KIR로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 (KIR 세포질 도메인)

중 하나 또는 둘 다를 포함하는 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 키메라 항원 수용체 (KIR-CAR)를 포함한다. 한 실시양태에서, KIR 막횡단 도메인은 KIR2DS2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1, KIR3DS1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR2DP1 및 KIR3DP1로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, KIR 세포질 도메인은 KIR2DS2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1, KIR3DS1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR2DP1 및 KIR3DP1로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, KIR-CAR은 KIR D0 도메인, KIR D1 도메인, 및/또는 KIR D2 도메인 중 1개 이상을 추가로 포함한다.

[0008] 한 실시양태에서, NKR CAR 폴리펩티드는 천연 세포독성 수용체 (NCR)로부터의 막횡단 도메인 (NCR 막횡단 도메인) 또는 NCR로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 (NCR 세포질 도메인) 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 천연 세포독성 수용체 키메라 항원 수용체 (NCR-CAR)를 포함한다. 한 실시양태에서, NCR 막횡단 도메인은 NKp46, NKp30, 및 NKp44로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, NCR 세포질 도메인은 NKp46, NKp30, 및 NKp44로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다.

[0009] 한 실시양태에서, NKR CAR 폴리펩티드는 신호전달 림프구 활성화 분자 패밀리 (SLAMF)로부터의 막횡단 도메인 (SLAMF 막횡단 도메인) 또는 SLAMF로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 (SLAMF 세포질 도메인) 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 신호전달 림프구 활성화 분자 패밀리 키메라 항원 수용체 (SLAMF-CAR)를 포함한다. 한 실시양태에서, SLAMF 막횡단 도메인은 SLAM, CD48, CD229, 2B4, CD84, NTB-A, CRACC, BLAME, 및 CD2F-10으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, SLAMF 세포질 도메인은 SLAM, CD48, CD229, 2B4, CD84, NTB-A, CRACC, BLAME, 및 CD2F-10으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다.

[0010] 한 실시양태에서, NKR CAR 폴리펩티드는 CD16 또는 CD64로부터 선택된 Fc 수용체 (FcR)로부터의 막횡단 도메인, 또는 CD16 또는 CD64로부터 선택된 FcR로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 Fc 수용체 키메라 항원 수용체 (FcR-CAR)를 포함한다.

[0011] 한 실시양태에서, NKR CAR 폴리펩티드는 Ly49로부터의 막횡단 도메인 (Ly49 막횡단 도메인) 또는 Ly49로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 (Ly49 세포질 도메인) 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 Ly49 수용체 키메라 항원 수용체 (Ly49-CAR)를 포함한다. 한 실시양태에서, Ly49 막횡단 도메인은 Ly49A, Ly49C, Ly49H, 및 Ly49D로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, Ly49 세포질 도메인은 Ly49A, Ly49C, Ly49H, 및 Ly49D로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다.

[0012] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 막횡단 도메인은 NKR 막횡단 도메인이며, 여기서 NKR 막횡단 도메인은 KIR2DS2, KIR2DL3, NKp46, KIR, NCR, SLAMF, FcR, 및 Ly49로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은: i) 서열식별번호: 357, 358, 또는 359의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 357, 358, 또는 359의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 5개 이하의 변형을 포함하는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 357, 358, 또는 359에 대해 95-99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0013] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 코딩된 막횡단 도메인은 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"로도 공지됨), FcεRI, CD66d, DAP10, DAP12, T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8 (CD8 알파 또는 CD8 베타), CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162),

LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드, 또는 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함하는 막횡단 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 TCAR의 막횡단 도메인이다.

[0014] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 세포질 도메인은 KIR2DS2, KIR2DL3, NKp46, KIR, NCR, SLAMF, FcR, 및 Ly49로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 1개 이상의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 NKR 세포질 도메인이다. 한 실시양태에서, 세포질 도메인은 i) 서열식별번호: 360, 361, 또는 362의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 360, 361, 또는 362의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 20, 10, 또는 5개 이하의 변형을 포함하는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 360, 361에 대해 95-99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0015] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 세포질 도메인은 세포내 신호전달 도메인 또는 어댑터 분자, 예를 들어 DAP12를 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 코딩된 세포질 도메인은 어댑터 분자, 예를 들어 DAP12 또는 FcεRγ를 포함한다. 한 실시양태에서, 세포질 도메인은 하기를 포함한다: i) 코딩된 어댑터 분자는 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10, 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR은 본원에 기재된 항원 결합 도메인, CD8 막횡단 도메인, 및 DAP12를 포함하는 세포질 도메인을 포함한다.

[0016] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 세포질 도메인은 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"로도 공지됨), FcεRI, CD66d, DAP10, DAP12, T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8 (CD8 알파 또는 CD8 베타), CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드, 또는 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 1개 이상의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 TCAR의 세포질 도메인이다.

[0017] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드는 예를 들어 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 리더 서열 또는 신호 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR은 막횡단 도메인 및 세포외 항원 결합 도메인을 포함하고, 상기 막횡단 도메인과 상기 세포외 항원 결합 도메인 사이에 배치된 힌지 도메인을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 힌지 도메인은 GS 힌지, CD8 힌지, IgG4 힌지, IgD 힌지, KIR2DS2 힌지, KIR 힌지, NCR 힌지, SLAMF 힌지, CD16 힌지, CD64 힌지, 및 LY49 힌지로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 힌지 도메인은 i) 서열식별번호: 5, 2, 3, 또는 4의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 5, 2, 3, 또는 4의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 5개 이하의 변형을 포함하는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 5, 2, 3, 또는 4의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0018] 한 실시양태에서, 막횡단 도메인 및 세포질 도메인은 집합적으로 i) 서열식별번호: 333의 아미노산 413-487 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 386-454, 또는 서열식별번호: 371의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 333의 아미노산 413-487 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 386-454, 또는 서열식별번호: 371에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 333의 아미노산 413-487 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 386-454, 또는 서열식별번호: 371에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0019] 임의의 상기 실시양태에서, NKR-CAR은 활성화 NKR-CAR이고, 세포외 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들

어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다. 임의의 상기 실시양태에서, 세포외 항원 결합 도메인은 메소텔린에 결합하는 비-뮤린 항원 결합 도메인이다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 세포외 비-뮤린 항원 결합 도메인은 메소텔린에 결합하는 인간 또는 인간화 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 인간 또는 인간화 항원 결합 도메인은 표 4에 제공된다.

[0020] 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 인간 항원 결합 도메인은 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 중쇄 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3); 및/또는 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 경쇄 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3)을 포함한다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 인간 항원 결합 도메인은 i) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열; ii) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는 i) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열; ii) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 인간 항원 결합 도메인은 i) 서열식별번호: 230-253 중 임의의 것의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 230-253 중 임의의 것에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 230-253 중 임의의 것에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 이러한 실시양태에서, NKR-CAR은 예를 들어 서열식별번호: 371의 아미노산 서열, 서열식별번호: 371에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 371에 대해 적어도 95-99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 집합적으로 포함하는 막횡단 및 세포질 도메인을 추가로 포함한다.

[0021] 제1 측면에서, 본 발명은 예를 들어 세포외 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 예를 들어 NKR 막횡단 도메인, 및 세포질 도메인, 예를 들어 NKR 세포질 도메인 중 1, 2개 또는 모두를 포함하는 본원에 기재된 자연 킬러 세포 면역 기능 수용체-키메라 항원 수용체 (NKR-CAR) 폴리펩티드를 코딩하는 정제된 또는 비-자연 발생 핵산 분자를 특색으로 한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 세포외 항원 결합 도메인, 및 하기: 막횡단 도메인, 예를 들어 NKR 막횡단 도메인; 또는 세포질 도메인, 예를 들어 NKR 세포질 도메인 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 세포외 항원 결합 도메인; 막횡단 도메인 및 NKR 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 세포외 항원 결합 도메인, NKR 막횡단 도메인 및 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 세포외 항원 결합 도메인, NKR 막횡단 도메인 및 세포질 도메인을 포함한다.

[0022] 한 실시양태에서, 핵산 분자는 KIR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR 또는 inhKIR-CAR, NCR-CAR, 예를 들어 actNCR-CAR, SLAMF-CAR, 예를 들어 inhSLAMF-CAR, FcR-CAR, 예를 들어 CD16-CAR, 예를 들어 actCD16-CAR, 또는 CD64-CAR, 예를 들어 actCD64-CAR, 또는 Ly49-CAR, 예를 들어 actLy49-CAR 또는 inhLy49-CAR을 포함하는 NKR-CAR을 코딩한다.

[0023] 한 실시양태에서, 코딩된 KIR-CAR은 KIR로부터의 막횡단 도메인 (KIR 막횡단 도메인) 또는 KIR로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 (KIR 세포질 도메인) 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 한 실시양태에서, KIR 막횡단 도메인은 KIR2DS2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1, KIR3DS1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR2DP1 및 KIR3DP1로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, KIR 세포질 도메인은 KIR2DS2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1, KIR3DS1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR2DP1 및 KIR3DP1로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, KIR-CAR은 KIR D0 도메인, KIR D1 도메인, 및/또는 KIR D2 도메인 중 1개 이상을 추가로 포함한다.

[0024] 한 실시양태에서, 코딩된 NCR-CAR은 NCR로부터의 막횡단 도메인 (NCR 막횡단 도메인) 또는 NCR로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 (NCR 세포질 도메인) 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 한 실시양태에서, NCR 막횡단 도메인은 NKp46, NKp30, 및 NKp44로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, NCR 세포질 도메인은 NKp46, NKp30, 및 NKp44로 이루어진 군으로부터 선택된 단백

질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다.

[0025] 한 실시양태에서, 코딩된 SLAMF-CAR은 SLAMF로부터의 막횡단 도메인 (SLAMF 막횡단 도메인) 또는 SLAMF로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 (SLAMF 세포질 도메인) 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 한 실시양태에서, SLAMF 막횡단 도메인은 SLAM, CD48, CD229, 2B4, CD84, NTB-A, CRACC, BLAME, 및 CD2F-10으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, SLAMF 세포질 도메인은 SLAM, CD48, CD229, 2B4, CD84, NTB-A, CRACC, BLAME, 및 CD2F-10으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다.

[0026] 한 실시양태에서, 코딩된 FcR-CAR은 CD16 또는 CD64로부터 선택된 FcR로부터의 막횡단 도메인, 또는 CD16 또는 CD64로부터 선택된 FcR로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 중 하나 또는 둘 다를 포함한다.

[0027] 한 실시양태에서, 코딩된 Ly49-CAR은 Ly49로부터의 막횡단 도메인 (Ly49 막횡단 도메인) 또는 Ly49로부터의 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 도메인 (Ly49 세포질 도메인) 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 한 실시양태에서, Ly49 막횡단 도메인은 Ly49A, Ly49C, Ly49H, 및 Ly49D로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, Ly49 세포질 도메인은 Ly49A, Ly49C, Ly49H, 및 Ly49D로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 기능적 신호전달 도메인을 포함한다.

[0028] 한 실시양태에서, NKR-CAR의 코딩된 막횡단 도메인은 NKR 막횡단 도메인이며, 여기서 NKR 막횡단 도메인은 KIR2DS2, KIR2DL3, NKp46, KIR, NCR, SLAMF, FcR, 및 Ly49로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR의 코딩된 막횡단 도메인은 서열식별번호: 357, 358, 또는 359의 아미노산 서열; 서열식별번호: 357, 358, 또는 359의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 5개 이하의 변형을 포함하는 아미노산 서열; 또는 서열식별번호: 357, 358, 또는 359에 대해 95-99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 막횡단 도메인을 코딩하는 서열식별번호: 347의 뉴클레오티드 803-875를 포함하는 핵산 서열, 또는 그와 95-99% 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0029] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 코딩된 막횡단 도메인은 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"로도 공지됨), FcεRI, CD66d, DAP10, DAP12, T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8 (CD8 알파 또는 CD8 베타), CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드, 또는 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 막횡단 도메인을 포함하는, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 TCAR의 막횡단 도메인이다.

[0030] 한 실시양태에서, NKR-CAR의 코딩된 세포질 도메인은 NKR 세포질 도메인이며, 여기서 NKR 세포질 도메인은 KIR2DS2, KIR2DL3, NKp46, KIR, NCR, SLAMF, FcR, 및 Ly49로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 1개 이상 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 세포질 도메인은 i) 서열식별번호: 360, 361, 또는 362의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 360, 361, 또는 362의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 20, 10, 또는 5개 이하의 변형을 포함하는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 360, 361에 대해 95-99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 세포질 도메인을 코딩하는 서열식별번호: 343의 뉴클레오티드 831-947, 서열식별번호: 345의 뉴클레오티드 833-1060, 또는 서열식별번호: 347의 뉴클레오티드 876-949를 포함하는 핵산 서열, 또는 그와 95-99% 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0031] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 코딩된 세포질 도메인은 세포내 신호전달 도메인 또는 어댑터 분자, 예

를 들어 DAP12를 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 코딩된 세포질 도메인은 어댑터 분자, 예를 들어 DAP12 또는 FcεRγ를 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 세포질 도메인은 하기를 포함한다: i) 코딩된 어댑터 분자는 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10, 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 어댑터 분자를 코딩하는 서열식별번호: 332의 뉴클레오티드 1-339 또는 서열식별번호: 334의 뉴클레오티드 1-258을 포함하는 핵산 서열, 또는 그에 대해 95-99% 동일성을 포함하는 핵산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR은 본원에 기재된 항원 결합 도메인, CD8 막횡단 도메인, 및 DAP12를 포함하는 세포질 도메인을 포함한다.

[0032] 한 실시양태에서, NKR-CAR 폴리펩티드의 코딩된 세포질 도메인은 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"로도 공지됨), FcεRI, CD66d, DAP10, DAP12, T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8 (CD8 알파 또는 CD8 베타), CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드, 또는 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질의 1개 이상 기능적 신호전달 도메인을 포함하는, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 TCAR의 세포질 도메인이다.

[0033] 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 코딩하는 리더 서열 또는 신호 서열을 추가로 포함한다.

[0034] 한 실시양태에서, 코딩된 NKR-CAR은 힌지 도메인에 의해 막횡단 도메인에 연결된 세포외 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 힌지 도메인은 GS 힌지, CD8 힌지, IgG4 힌지, IgD 힌지, KIR2DS2 힌지, KIR 힌지, NCR 힌지, SLAMF 힌지, CD16 힌지, CD64 힌지, 및 LY49 힌지로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 코딩된 힌지 도메인은 i) 서열식별번호: 5, 2, 3, 또는 4의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 5, 2, 3, 또는 4의 아미노산 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 포함하지만 5개 이하의 변형을 포함하는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 5, 2, 3, 또는 4의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 힌지 도메인을 코딩하는 서열식별번호: 356, 16, 13, 14, 또는 15의 핵산 서열, 또는 그와 95-99% 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 핵산 서열을 포함한다.

[0035] 한 실시양태에서, 코딩된 막횡단 도메인 및 코딩된 세포질 도메인은 집합적으로 i) 서열식별번호: 333의 아미노산 413-487 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 386-454, 또는 서열식별번호: 371의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 333의 아미노산 413-487 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 386-454, 또는 서열식별번호: 371에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 333의 아미노산 413-487 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 386-454, 또는 서열식별번호: 371에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 막횡단 및 세포질 도메인을 집합적으로 코딩하는 서열식별번호: 332의 뉴클레오티드 1237-1464 또는 서열식별번호: 334의 뉴클레오티드 1156-1365, 또는 그와 95-99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산 서열을 포함한다.

[0036] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산 분자, 예를 들어 정제된 또는 비-자연 발생 핵산, 예를 들어 DNA 또는 RNA 서열, 예를 들어 mRNA를 포함하는 핵산을 특색으로 한다.

[0037] 한 실시양태에서, 핵산 분자는 상기 NKR-CAR과 상호작용하는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 어댑터 분자는 DAP12 또는 FcεRγ의 기능적 신

호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 어댑터 분자는 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86의 아미노산 서열; 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 20, 10, 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 서열식별번호: 333의 아미노산 1-113 또는 서열식별번호: 335의 아미노산 1-86에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 어댑터 분자를 코딩하는 서열식별번호: 332의 뉴클레오티드 1-339 또는 서열식별번호: 334의 뉴클레오티드 1-258을 포함하는 핵산 서열, 또는 그와 95-99% 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0038] 한 실시양태에서, 핵산 분자는 TCAR 또는 제2 NKR-CAR을 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 코딩된 TCAR 또는 코딩된 제2 NKR-CAR은 메소텔린이 아닌 표적 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0039] 한 실시양태에서, NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 T2A, P2A, E2A, 및 F2A로 이루어진 군으로부터 선택된 펩티드 절단 부위를 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함하며, 여기서 펩티드 절단 부위를 코딩하는 핵산은 NKR-CAR을 코딩하는 핵산 서열을 제2 핵산 서열, 예를 들어 어댑터 분자를 코딩하는 핵산 서열에 연결한다. 한 실시양태에서, 펩티드 절단 부위를 코딩하는 핵산 서열은 서열식별번호: 57, 58, 59, 또는 60의 아미노산 서열; 또는 그에 대해 95-99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 코딩한다.

[0040] 한 실시양태에서, 핵산은 활성화 NKR-CAR을 코딩하고, 코딩된 세포외 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다. 임의의 상기 실시양태에서, 코딩된 세포외 항원 결합 도메인은 메소텔린에 결합하는 비-뮤린 항원 결합 도메인이다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 코딩된 세포외 비-뮤린 항원 결합 도메인은 메소텔린에 결합하는 인간 또는 인간화 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 인간 또는 인간화 항원 결합 도메인은 표 4에 제공된다.

[0041] 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 코딩된 인간 항원 결합 도메인은 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 중쇄 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1 (HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2 (HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3 (HC CDR3); 및/또는 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 경쇄 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1 (LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2 (LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3 (LC CDR3)을 포함한다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 코딩된 인간 항원 결합 도메인은 i) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열; ii) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역; 및/또는 i) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열; ii) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 표 4에 열거된 임의의 인간 항-메소텔린 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 코딩된 인간 항원 결합 도메인은 i) 서열식별번호: 230-253 중 임의의 것의 아미노산 서열; ii) 서열식별번호: 230-253 중 임의의 것에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 30, 20 또는 10개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열; 또는 iii) 서열식별번호: 230-253 중 임의의 것에 대해 95-99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 이러한 실시양태에서, NKR-CAR은 예를 들어 서열식별번호: 371의 아미노산 서열, 서열식별번호: 371에 대해 적어도 1, 2 또는 3개의 변형을 갖지만 10 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 371에 대해 적어도 95-99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 집합적으로 포함하는 막횡단 및 세포질 도메인을 추가로 포함한다.

[0042] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 벡터는 DNA 벡터 또는 RNA 벡터이다. 한 실시양태에서, 벡터는 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 및 레트로바이러스 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 벡터는 본원에 기재된 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 벡터는 예를 들어 서열식별번호: 11의 서열을 포함하는 본원에 기재된 프로모터, 예를 들어 EF-1 프로모터를 추가로 포함한다.

[0043] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 NKR-CAR, 본원에 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자, 본원에 기재된 벡터, 또는 본원에 기재된 NKR-CAR 복합체를 포함하는 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 세포

독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주를 특색으로 한다.

[0044] 한 실시양태에서, 세포독성 세포는 상기 NKR-CAR과 상호작용하는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 도메인을 추가로 포함한다.

[0045] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포독성 세포 내로 본원에 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산, 예를 들어 mRNA를 도입하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 NKR-CAR을 포함하는 본원에 기재된 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 세포독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주를 제조하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 방법은 세포독성 세포에서 본원에 기재된 NKR-CAR을 제조하는 것을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 본원에 기재된 NKR-CAR을 포함하는 본원에 기재된 세포의 집단, 예를 들어 면역 이펙터 세포의 집단을 제조하는 것을 포함한다.

[0046] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 본원에 기재된 NKR-CAR을 포함하는 본원에 기재된 세포 또는 본원에 기재된 세포의 집단, 예를 들어 세포독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법, 예를 들어 포유동물에서 항종양 면역을 제공하는 방법을 특색으로 한다.

[0047] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 항원, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원의 발현과 연관된 질환 (예를 들어, 종양 항원의 발현과 연관된 증식성 질환, 전암성 상태, 및 비-암 관련 적응증)을 갖는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 NKR-CAR을 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체를 치료하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR은 활성화 NKR-CAR이고, 세포외 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다. 한 실시양태에서, 방법은 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 TCAR을 포함하는 세포를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0048] 한 실시양태에서, 종양 항원의 발현과 연관된 질환은 암, 예를 들어 본원에 기재된 암이다. 한 실시양태에서, 암은 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양이다.

[0049] 한 실시양태에서, 메소텔린의 발현과 연관된 질환 또는 장애는, 예를 들어 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종), 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 또는 대세포 폐암), 췌장암 (예를 들어, 췌장관 선암종), 난소암, 결장직장암 및 방광암, 또는 그의 임의의 조합이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법으로 진행된 바 있는 대상체에서의 췌장암, 예를 들어 전이성 췌장관 선암종 (PDA)이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법으로 진행된 바 있는 대상체에서의 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종)이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법 후에 진행된 바 있는 대상체에서의 난소암, 예를 들어 장액성 상피 난소암이다.

[0050] 상기 조성물 및 방법의 추가의 특색 및 실시양태는 하기 중 1개 이상을 포함한다:

[0051] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포외 항원 결합 도메인 및 막횡단 도메인, 예를 들어 KIR 막횡단 도메인, 또는 세포질 도메인, 예를 들어 ITIM-함유 세포질 도메인, 또는 KIR-세포질 도메인을 포함하는 정제된 또는 비-자연 발생 KIR-CAR을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, KIR-CAR은 세포외 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 ITIM-함유 세포질 도메인, 또는 KIR-세포질 도메인을 포함한다.

[0052] 한 실시양태에서, 상기 막횡단 도메인은 DAP12의 막횡단 도메인과 상호작용, 예를 들어 결합할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 막횡단 도메인은 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 막횡단 도메인은 KIR-막횡단 도메인을 포함한다.

[0053] 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR은 활성화 KIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR은 KIR-막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR은 억제 KIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR은 KIR-세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR은 세포외 항원 결합 도메인, 및 막횡단 도메인, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함하는 막횡단 도메인, 또는 KIR-막횡단 도메인을 포함한다.

[0054] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 KIR-CAR은 scFv를 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인, 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브

로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항원 결합 도메인은 나노바디를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 항원 결합 도메인은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0055] 한 실시양태에서, KIR-CAR은 활성화 KIR-CAR이고, 세포외 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다.

[0056] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 KIR-CAR은 세포외 힌지 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포외 힌지 도메인은 KIR 힌지 도메인 이외의, 예를 들어 KIR2DS2 힌지 도메인 이외의 것이다. 한 실시양태에서, 세포외 힌지 도메인은 천연 분자로부터 유래된다. 한 실시양태에서, 세포외 힌지 도메인은 KIR 이외의 천연 분자로부터 유래된다. 한 실시양태에서, 세포외 힌지 도메인은 비-자연 발생 폴리펩티드 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포외 힌지 도메인은 인간 CD8-알파로부터의 세포외 힌지를 포함한다. 한 실시양태에서, 세포외 힌지 도메인은 합성 세포외 힌지를 포함한다. 한 실시양태에서, 세포외 힌지 도메인은 50, 20, 또는 10개 미만의 아미노산 길이이다. 한 실시양태에서, 세포외 힌지 도메인은 KIR2DS2 힌지 도메인보다 더 적은 아미노산을 갖는다.

[0057] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 KIR-CAR은 actKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함하는 막횡단 도메인 또는 actKIR 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 ITAM-함유 폴리펩티드 또는 어댑터 분자와 상호작용하여 그로부터의 신호전달을 촉진할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 DAP12 폴리펩티드와 상호작용하여 그로부터의 신호전달을 촉진할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 KIR D 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 KIR D1 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 KIR D2 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 KIR D 도메인을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 KIR2DS2 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 KIR2DS2 세포질 도메인을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 KIR D 도메인을 포함하지 않는다.

[0058] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 KIR-CAR의 항원 결합 도메인은 표적 세포, 예를 들어 암 세포 상에 존재하는 항원에 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항원 결합 도메인은 비-표적 세포, 예를 들어 비-암성 세포, 예를 들어 표적 세포와 동일한 유형의 비 암성 세포보다 표적 세포, 예를 들어 암 세포 상에서 더 고도로 발현되는 항원에 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항원 결합 도메인은 본원에 기재된 항원, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원에 결합한다. 한 실시양태에서, 종양 항원은 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종), 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 또는 대세포 폐암), 췌장암 (예를 들어, 췌장관 선암종), 난소암, 결장직장암 및 방광암 또는 그의 임의의 조합 상에서 발현된다.

[0059] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 KIR-CAR은 inhKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 inhKIR 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 ITIM-함유 세포질 도메인, 예를 들어 inhKIR 세포질 도메인, 예를 들어 KIR2DL 또는 KIR3DL 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR 막횡단 이외의 막횡단, 예를 들어 수용체의 ILT (CD85), Siglec, LMIR (CD300) 및/또는 SLAM 유전자 패밀리로부터의 PD-1, CTLA4 또는 ITIM-함유 수용체로부터의 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR 이외의 억제 수용체로부터의, 예를 들어 수용체의 ILT (CD85), Siglec, LMIR (CD300) 및/또는 SLAM 유전자 패밀리로부터의 PD-1, CTLA4 또는 ITIM-함유 수용체로부터의 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR 이외의 억제 수용체로부터의 막횡단 및 세포질 도메인, 예를 들어, 예를 들어 수용체의 ILT (CD85), Siglec, LMIR (CD300) 및/또는 SLAM 유전자 패밀리로부터의 PD-1, CTLA4 또는 ITIM-함유 수용체로부터의 막횡단 및 세포질 도메인을 독립적으로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 세포질 도메인은 ITIM을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR D 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR D0 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR D1 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR D2 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR D 도메인을 포함하지 않는다.

[0060] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 inhKIR-CAR의 항원 결합 도메인은 표적 세포, 예를 들어 암 세포 상에 존재하지 않는 항원에 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항원 결합 도메인은 표적 세포, 예를 들어 암성 세포, 예를 들어 표적 세포와 동일한 유형의 암성 세포보다 비-표적 세포, 예를 들어 비-암 세포 상에서 더 고도로 발현되는 항원에 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 항원 결합 도메인은 데스모글레인1/3 (DSG1/3)에 결합한다. 한 실시양태에서, inhCAR, 예를 들어 inhTCAR 또는 inhNKR-CAR, 예를 들어 inhKIR-CAR, 및 actCAR, 예를 들어 actTCAR 또는 actNKR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR이 제공되며, 여기서 inhCAR은 데스모글레인1/3 (DSG1/3)을 표

적화하는 항원 결합 도메인을 포함하고, actCAR은 DSG1/3 이외의 항원, 예를 들어 EGFR을 표적화하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 이러한 쌍은 EGFR 발현 암, 예를 들어 폐 또는 결장의 선암종을 치료하는데 사용된다. 한 실시양태에서 암 세포는 비-암 세포보다 DSG1/3을 덜 발현한다. 한 실시양태에서 이러한 조합은 피부 세포 또는 GI 관 (즉 구강 점막)의 편평 세포의 CAR-매개 공격을 최소화할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 항원 결합 도메인은 에프린 수용체 또는 클라우딘에 결합한다.

[0061] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) KIR-CAR, 예를 들어 본원에 기재된 제1 KIR-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산, 예를 들어 정제된 또는 비-자연 발생 핵산, 예를 들어 DNA 또는 RNA 서열, 예를 들어 mRNA을 포함하는 핵산을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR, 예를 들어 상기 제1 KIR-CAR은 actKIR-CAR, 예를 들어 본원에 기재된 actKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 핵산은 actKIR-CAR을 코딩하고, 코딩된 세포외 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR, 예를 들어 상기 제1 KIR-CAR은 inhKIR-CAR, 예를 들어 본원에 기재된 inhKIR-CAR이다.

[0062] 한 실시양태에서, 상기 핵산은 DNA 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 핵산은 RNA 서열, 예를 들어 mRNA 서열을 포함한다.

[0063] 한 실시양태에서, 상기 핵산은 KIR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR을 코딩하는 서열, 및 inhKIR 세포질 도메인; 막횡단 도메인, 예를 들어 KIR 막횡단 도메인; 및 억제제 세포질 도메인, 예를 들어 ITIM 도메인, 예를 들어 inhKIR ITIM 도메인을 포함하는 억제 분자를 코딩하는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 분자는 자연 발생 inhKIR, 또는 자연 발생 inhKIR과 적어도 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 공유하거나 그와 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 또는 20개 이하의 잔기만큼 상이한 서열이다.

[0064] 한 실시양태에서, 상기 핵산은 KIR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR을 코딩하는 서열, 및 SLAM 패밀리 세포질 도메인; 막횡단 도메인, 예를 들어 SLAM 패밀리 막횡단 도메인; 및 억제제 세포질 도메인, 예를 들어 SLAM 패밀리 도메인, 예를 들어 SLAM 패밀리 ITIM 도메인을 포함하는 억제 분자를 코딩하는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 분자는 자연 발생 SLAM 패밀리 구성원, 또는 자연 발생 SLAM 패밀리 구성원과 적어도 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 공유하거나 그와 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 또는 20개 이하의 잔기만큼 상이한 서열이다.

[0065] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 상기 핵산은 (b) 본원에 기재된 제2 KIR-CAR, 예를 들어 상기 제1 KIR-CAR과 상이한 제2 KIR-CAR을 코딩하는 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, (a) 및 (b)는 동일한 핵산 분자, 예를 들어 동일한 벡터, 예를 들어 동일한 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 배치된다. 한 실시양태에서, (a) 및 (b) 중 하나는 제1 핵산 분자, 예를 들어 제1 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 배치되고, 다른 것은 제2 핵산 분자, 예를 들어 제2 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 배치된다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR은 actKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 어느 하나의 act KIR-CAR 단독의 연관은 실질적인 수준의 활성화를 촉발하는데 불충분하다. 한 실시양태에서, 둘 다의 제1 및 제2 actKIR-CAR의 연관은 첨가적 또는 상승작용적 수준의 활성화를 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR은 inhKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나는 actKIR-CAR이고, 다른 것은 inhKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 본원에 기재된 actKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 inhKIR-CAR은 본원에 기재된 inhKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 핵산은 본원에 기재된 actKIR-CAR 및 본원에 기재된 inhKIR-CAR을 포함한다.

[0066] 한 실시양태에서 핵산은 (c) 활성화 신호를 생성할 수 있는 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 어댑터 분자를 코딩하는 서열을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 세포내 신호전달 도메인은 ITAM 모티프를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 서열은 DAP 12 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 DAP 12 폴리펩티드를 코딩한다. 한 실시양태에서, 상기 DAP 12 폴리펩티드는 막횡단 도메인을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 DAP 12 폴리펩티드는 세포외 도메인을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 각각의 (a), (b), 및 (c)는 동일한 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 존재한다. 한 실시양태에서, (a), (b), 및 (c) 중 하나는 제1 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 코딩되고, (a), (b), 및 (c) 중 제2 및 제3은 제2 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 코딩된다. 한 실시양태에서 (a)는 제1 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 존재하고, (b) 및 (c)는 제2 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 존재한다. 또 다른 실시

양태에서, (b)는 제1 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 존재하고, (a) 및 (c)는 제2 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 존재한다. 한 실시양태에서, (c)는 제1 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 존재하고, (b) 및 (a)는 제2 핵산 분자, 예를 들어 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 존재한다. 한 실시양태에서, 각각의 (a), (b), 및 (c)는 상이한 핵산 분자, 예를 들어 상이한 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티-바이러스 벡터 상에 존재한다.

[0067] 한 실시양태에서, (i) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않거나, (ii) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv 이외의 것이거나, (iii) 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR의 항원 결합 도메인은 서로, 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 덜 회합하거나, (iv) 여기서 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 KIR-CAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않거나, (v) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인, 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함하거나, (vi) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함하거나, (vii) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 나노바디를 포함하거나, (viii) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0068] 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv 이외의 것이다. 한 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR의 항원 결합 도메인은 서로, 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 덜 회합한다. 한 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 KIR-CAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않는다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 나노바디를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0069] 한 실시양태에서, 핵산은 TCAR을 코딩하는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 TCAR은 CD3, 예를 들어 CD3 제타 쇄, CD3 엡실론 쇄, CD3 감마 쇄, CD3 델타 쇄와의 T 세포 수용체 복합체로부터의 항원 결합 도메인 및 활성화 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 TCAR은 공동자극 수용체, 예를 들어 CD28, CD137, CD27, ICOS 또는 OX40로부터의 공동자극 도메인을 포함한다.

[0070] 한 실시양태에서 (i) 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않거나, (ii) 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv 이외의 것이거나, (iii) 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR의 항원 결합 도메인은 서로, 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 덜 회합하거나, (iv) 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 TCAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않거나, (v) 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함하거나, (vi) 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또

는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함하거나, (vii) 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 나노바디를 포함하거나, (viii) 여기서 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않는다.

[0071] 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원-결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv 이외의 것이다. 한 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR의 항원 결합 도메인은 서로, 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 덜 회합한다. 한 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 TCAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않는다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 나노바디를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0072] 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR 및 상기 TCAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 메소텔린에 결합하고, 다른 것은 상이한 항원 결합 도메인, 예를 들어 동일한 표적 (메소텔린) 또는 상이한 표적 (예를 들어, 기질 세포 상의 메소텔린 이외의 표적, 예를 들어 FAP; 전립선암 세포 상의 메소텔린 이외의 표적, 예를 들어 안드로겐 수용체, OR51E2, PSMA, PSCA, PDGRF-β, TARP, GloboH, MAD-CT-1, 또는 MAD-CT-2; 난소암 세포 상의 메소텔린 이외의 표적, 예를 들어 Tn, PRSS21, CD171, 루이스 Y, 폴레이트 수용체 α, 클라우딘6, GloboH, 또는 정자 단백질 17)에 결합한다.

[0073] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) 본원에 기재된 제1 KIR-CAR을 포함하는 세포독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주, 예를 들어 NK92의 세포를 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 상기 세포독성 세포는 T 세포이다. 한 실시양태에서, 상기 세포독성 세포는 NK 세포이다. 한 실시양태에서, 상기 세포독성 세포는 NK 세포주로부터의 것, 예를 들어 NK92 세포이다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR은 본원에 기재된 actKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR은 본원에 기재된 inhKIR-CAR이다.

[0074] 한 실시양태에서, 상기 세포독성 세포는 KIR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR, 및 inhKIR 세포질 도메인; 막횡단 도메인, 예를 들어 KIR 막횡단 도메인; 및 억제제 세포질 도메인, 예를 들어 ITIM 도메인, 예를 들어 inhKIR ITIM 도메인을 포함하는 억제 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 분자는 자연 발생 inhKIR, 또는 자연 발생 inhKIR과 적어도 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 공유하거나 그와 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 또는 20개 이하의 잔기만큼 상이한 서열이다.

[0075] 한 실시양태에서, 상기 세포독성 세포는 KIR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR, 및 SLAM 패밀리 세포질 도메인; 막횡단 도메인, 예를 들어 SLAM 패밀리 막횡단 도메인; 및 억제제 세포질 도메인, 예를 들어 SLAM 패밀리 도메인, 예를 들어 SLAM 패밀리 ITIM 도메인을 포함하는 억제 분자를 포함한다. 한 실시양태에서 억제 분자는 자연 발생 SLAM 패밀리 구성원, 또는 자연 발생 SLAM 패밀리 구성원과 적어도 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 공유하거나 그와 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 또는 20개 이하의 잔기만큼 상이한 서열이다.

[0076] 한 실시양태에서, 세포독성 세포는 (b) 본원에 기재된 제2 KIR-CAR, 예를 들어 상기 제1 KIR-CAR과 상이한 제2 KIR-CAR을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나는 actKIR-CAR이고, 다른 것은 inhKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 actKIR-CAR은 본원에 기재된 actKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 inhKIR-CAR 중 하나는 본원에 기재된 inhKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 세포독성 세포는 본원에 기재된 actKIR-CAR 및 본원에 기재된 inhKIR-CAR을 포함한다.

[0077] 한 실시양태에서, 세포독성 세포는, 예를 들어 활성화 신호를 생성할 수 있는 상기 세포에 대해 외인성인 활성화 신호를 생성할 수 있는 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 어댑터 분자를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 세포내 신호전달 도메인은 ITAM 모티프를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 세포내 신호전달 도메인

은 DAP 12 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 DAP 12 폴리펩티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 DAP 12 폴리펩티드는 막횡단 도메인을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 DAP 12 폴리펩티드는 세포외 도메인을 추가로 포함한다.

[0078] 한 실시양태에서 세포독성 세포는 본원에 기재된 제1 및 제2 KIR-CAR을 포함하며, 여기서 (i) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않거나, (ii) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv 이외의 것이거나, (iii) 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR의 항원 결합 도메인은 서로, 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 덜 회합하거나, (iv) 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 KIR-CAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않거나, (v) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인, 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함하거나, (vi) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함하거나, (vii) 여기서 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 나노바디를 포함하거나, (viii) 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0079] 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원-결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv 이외의 것이다. 한 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR의 항원 결합 도메인은 서로, 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 덜 회합한다. 한 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 KIR-CAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않는다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원-결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 나노바디를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0080] 한 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 및 상기 제2 KIR-CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 메소텔린에 결합하고, 다른 것은 상이한 항원 결합 도메인, 예를 들어 동일한 표적 (메소텔린) 또는 상이한 표적 (예를 들어, 기질 세포 상의 메소텔린 이외의 표적, 예를 들어 FAP; 전립선암 세포 상의 메소텔린 이외의 표적, 예를 들어 안드로겐 수용체, OR51E2, PSMA, PSCA, PDGRF-β, TARP, GloboH, MAD-CT-1, 또는 MAD-CT-2; 난소암 세포 상의 메소텔린 이외의 표적, 예를 들어 Tn, PRSS21, CD171, 루이스 Y, 폴레이트 수용체 α, 클라우딘6, GloboH, 또는 정자 단백질 17)에 결합한다.

[0081] 한 실시양태에서, 세포독성 세포는 본원에 기재된 바와 같은 KIR-CAR을 포함하고, TCAR을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 TCAR은 항원 결합 도메인 및 1차 자극 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 TCAR은 공동자극 도메인을 포함한다.

[0082] 한 실시양태에서, 세포독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주, 예를 들어 NK92 세포는 본원에 기재된 바와 같은 핵산; 또는 본원에 기재된 핵산에 의해 코딩된 KIR-CAR을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 세포독성 세포는 T 세포이다. 한 실시양태에서, 상기 세포독성 세포는 NK 세포이다. 한 실시양태에서, 상기 세포독성 세포는 NK 세포주로부터의 것, 예를 들어 NK92이다.

[0083] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포독성 세포 내로 본원에 기재된 핵산을 도입하는 것을 포함하는 본원에 기재된 세포를 제조하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 세포독성 세포에서 본원에 기재된 KIR-

CAR을 형성하는 것을 포함한다.

[0084] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 본원에 기재된 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체를 치료하는 방법, 예를 들어 포유동물에서 항종양 면역을 제공하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 상기 세포는 자가이다. 한 실시양태에서, 상기 세포는 동종이다. 한 실시양태에서, 세포는 T 세포, 예를 들어 자가 T 세포이다. 한 실시양태에서, 세포는 동종 T 세포이다. 한 실시양태에서, 세포는 NK 세포, 예를 들어 자가 NK 세포이다. 한 실시양태에서, 세포는 동종 NK 세포이다. 한 실시양태에서, 세포는 NK 세포주, 예를 들어 NK92로부터의 세포이다. 한 실시양태에서, 상기 포유동물은 인간이다. 한 실시양태에서, 방법은 상기 포유동물, 예를 들어 인간을 상기 치료의 부작용에 대해 평가하는 것을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 부작용은 급성 호흡 곤란 증후군, 열성 호중구감소증, 저혈압, 뇌병증, 간 트랜스아미니티스, 발작, 또는 대식세포 활성화 증후군을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 부작용을 갖는 상기 인간을 본원에 기재된 작용제, 예를 들어 항-시토카인 작용제, 예를 들어 종양 괴사 인자 길항제, 예를 들어 TNF-Ig 융합체, 예를 들어 에타네르셉트, IL-6 길항제, 예를 들어 IL-6 수용체 길항제, 예를 들어 항-IL6 수용체 항체, 예를 들어 토실리주맙, 또는 코르티코스테로이드로 치료하는 것을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 치료하는 것은 항-IL6 수용체 항체를 상기 인간에게 투여하는 것을 포함한다.

[0085] 한 실시양태에서, 종양 항원의 발현과 연관된 질환은 암, 예를 들어 본원에 기재된 암이다. 한 실시양태에서, 암은 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종), 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 또는 대세포 폐암), 췌장암 (예를 들어, 췌장관 선암종), 난소암, 결장직장암 및 방광암 또는 그의 임의의 조합이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법으로 진행된 바 있는 대상체에서의 췌장암, 예를 들어, 전이성 췌장관 선암종 (PDA)이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법으로 진행된 바 있는 대상체에서의 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종)이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법 후에 진행된 바 있는 대상체에서의 난소암, 예를 들어 장액성 상피 난소암이다.

[0086] 한 실시양태에서, 방법은 메소텔린 또는 CD19의 발현과 연관된 질환을 갖는 포유동물, 예를 들어 인간을 치료하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 원치 않는 세포 증식과 연관된 장애, 예를 들어 암을 갖는 포유동물, 예를 들어 인간을 치료하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 장애는 췌장 암종, 중피종, 폐 암종, 난소 암종, 백혈병 또는 림프종이다.

[0087] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포외 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함하는 막횡단 도메인 또는 NCR 막횡단 도메인, 및 세포질 도메인, 예를 들어 NCR 세포질 도메인을 포함하는 정제된 또는 비-자연 발생 NCR-CAR, 예를 들어 활성화 NCR-CAR을 특색으로 한다.

[0088] 한 실시양태에서, 상기 NCR-CAR은 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함하는 막횡단 도메인, 예를 들어 NCR 막횡단 도메인, 예를 들어 NKp30, NKp44, 또는 NKp46 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 NCR-CAR은 예를 들어 DAP12, FcRγ 또는 CD3 ζ 세포질 도메인을 포함하는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자와 상호작용할 수 있는 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 NCR-CAR, 예를 들어 NKp30-CAR은 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자, 예를 들어 DAP12와 상호작용할 수 있는 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 NCR-CAR은 NKp46-CAR을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 NKp46-CAR은 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함하는 막횡단 도메인, 또는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자와 상호작용할 수 있는 예를 들어 NCR 막횡단 도메인, 예를 들어 FcRγ 또는 CD3 ζ 세포질 도메인을 갖는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 상기 NCR-CAR은 상기 막횡단 도메인과 상기 세포외 항원 결합 도메인 사이에 배치된 힌지 도메인을 추가로 포함한다.

[0089] 한 실시양태에서, NCR-CAR은 활성화 NCR-CAR이고, 세포외 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다.

[0090] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 NCR-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산, 예를 들어 정제된 또는 비-자연 발생 핵산, 예를 들어 DNA 또는 RNA 서열, 예를 들어 mRNA를 포함하는 핵산을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 핵산은 NKp30-CAR 및 임의로 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자, 예를 들어 DAP12를 코딩하는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 NCR-CAR, 예를 들어 NKp46-CAR은 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함하는 막횡단 도메인,

또는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자, 예를 들어 FcRɣ 또는 CD3 ζ 분자와 상호작용할 수 있는 NCR 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 핵산은 예를 들어 DAP12, FcRɣ 또는 CD3 ζ를 포함하는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자를 코딩하는 서열을 추가로 포함한다.

[0091] 한 실시양태에서, 핵산은 actNCR-CAR을 코딩하고, 코딩된 세포외 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다.

[0092] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 NCR-CAR을 포함하는 세포독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주를 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 세포독성 세포는 예를 들어 DAP12, FcRɣ 또는 CD3 ζ 세포질 도메인을 포함하는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 세포독성 세포는 NKp30-CAR 및 임의로 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자, 예를 들어 DAP12를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 NKp46-CAR은 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자, 예를 들어 FcRɣ 또는 CD3 ζ 분자와 상호작용할 수 있는 막횡단 도메인을 포함한다.

[0093] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포독성 세포 내로 본원에 기재된 NCR-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산을 도입하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 세포를 제조하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 방법은 세포독성 세포에서 본원에 기재된 NCR-CAR을 형성하는 것을 포함한다.

[0094] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 본원에 기재된 NCR-CAR을 포함하는 본원에 기재된 세포, 예를 들어 본원에 기재된 청구범위의 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 대상체를 치료하는 방법, 예를 들어 포유동물에서 항종양 면역을 제공하는 방법을 특색으로 한다.

[0095] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 항원, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원의 발현과 연관된 질환 (예를 들어, 종양 항원의 발현과 연관된 증식성 질환, 전암성 상태, 및 비-암 관련 적응증)을 갖는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 NCR-CAR을 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, NCR-CAR은 활성화 NCR-CAR이고, 세포외 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다.

[0096] 한 실시양태에서, 종양 항원의 발현과 연관된 질환은 암, 예를 들어 본원에 기재된 암이다. 한 실시양태에서, 암은 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종), 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 또는 대세포 폐암), 췌장암 (예를 들어, 췌장관 선암종), 난소암, 결장직장암 및 방광암 또는 그의 임의의 조합이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법으로 진행된 바 있는 대상체에서의 췌장암, 예를 들어, 전이성 췌장관 선암종 (PDA)이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법으로 진행된 바 있는 대상체에서의 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종)이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법 후에 진행된 바 있는 대상체에서의 난소암, 예를 들어 장액성 상피 난소암이다.

[0097] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포외 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함하는 막횡단 도메인, 예를 들어 SLAMF 막횡단 도메인, 및 SLAMF 세포질 도메인을 포함하는 정제된 또는 비-자연 발생 SLAMF-CAR, 예를 들어 억제 SLAMF-CAR을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 상기 SLAMF-CAR은 SLAMF, CD48, CD229, 2B4, CD84, NTB-A, CRACC, BLAME, 또는 CD2F-10 세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 SLAMF-CAR은 상기 막횡단 도메인과 상기 세포외 항원 결합 도메인 사이에 배치된 힌지 도메인을 추가로 포함한다.

[0098] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 SLAMF-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산, 예를 들어 정제된 또는 비-자연 발생 핵산, 예를 들어 DNA 또는 RNA 서열, 예를 들어 mRNA를 포함하는 핵산을 특색으로 한다.

[0099] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 SLAMF-CAR을 포함하는 세포독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주를 특색으로 한다.

[0100] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포독성 세포 내로 본원에 기재된 SLAMF-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산을 도입하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 SLAMF-CAR을 포함하는 세포독성 세포를 제조하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 방법은 세포독성 세포에서 본원에 기재된 SLAMF-CAR을 형성하는 것을 포함한다.

[0101] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 본원에 기재된 SLAMF-CAR을 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 대상체를 치료하는 방법, 예를 들어 포유동물에서 항종양 면역을 제공하는 방법을 특색으로 한다.

[0102] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포외 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 CD16 또는 CD64 세포질 도메인을 포

함하는, 정제된 또는 비-자연 발생 FcR-CAR, 예를 들어 CD16-CAR, 예를 들어 활성화 CD16-CAR 또는 CD64-CAR, 예를 들어 활성화 CD64-CAR을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 상기 FcR-CAR은 CD16-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 FcR-CAR은 CD64-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 FcR-CAR은 예를 들어 막횡단 도메인, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 모이어티, 예를 들어 양으로 하전된 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기를 포함하는 막횡단 도메인 또는 예를 들어 CD16 또는 CD64 막횡단 도메인을 통해 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자, 예를 들어 FcRɣ 또는 CD3 ζ 도메인과 상호작용할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 FcR-CAR은 상기 막횡단 도메인과 상기 세포외 항원 결합 도메인 사이에 배치된 힌지 도메인을 추가로 포함한다.

[0103] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 FcR-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 정제된 또는 비-자연 발생 핵산, 예를 들어 DNA 또는 RNA 서열, 예를 들어 mRNA를 포함하는 핵산을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 핵산은 세포질 활성화 도메인, 예를 들어 FcRɣ 또는 CD3 ζ 세포질 도메인을 포함하는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 분자를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 FcR-CAR 및 상기 세포질 활성화 도메인은 분리된 핵산 분자, 예를 들어 별개의 벡터, 예를 들어 별개의 바이러스 벡터, 예를 들어 별개의 렌티-바이러스 벡터 상에 배치된다.

[0104] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 FcR-CAR을 포함하는 세포독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주를 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 세포독성 세포는 세포질 활성화 도메인, 예를 들어 FcRɣ 또는 CD3 ζ 세포질 도메인을 추가로 포함한다.

[0105] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포독성 세포 내로 본원에 기재된 FcR-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산을 도입하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 FcR-CAR을 포함하는 세포를 제조하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 방법은 세포독성 세포에서 본원에 기재된 FcR-CAR을 형성하는 것을 포함한다.

[0106] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 본원에 기재된 FcR-CAR을 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 대상체를 치료하는 방법, 예를 들어 포유동물에서 항종양 면역을 제공하는 방법을 특색으로 한다.

[0107] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포외 항원 결합 도메인, 및 막횡단 도메인, 예를 들어 Ly49-막횡단 도메인, 또는 세포질 도메인, 예를 들어 ITIM-함유 세포질 도메인, 예를 들어 Ly49-세포질 도메인을 포함하는 정제된 또는 비-자연 발생 Ly49-CAR을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, Ly49-CAR은 막횡단 도메인 및 Ly49-세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 Ly49-CAR은 활성화 Ly49-CAR, 예를 들어 Ly49D 또는 Ly49H이다. 한 실시양태에서, 상기 Ly49-CAR은 양으로 하전된 막횡단 도메인, 예를 들어 양으로 하전된 Ly49 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 Ly49-CAR은 ITAM-함유 세포질 도메인, 예를 들어 DAP 12와 상호작용할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 Ly49-CAR은 Ly49-막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 KIR-CAR은 억제 Ly49-CAR, 예를 들어 Ly49A 또는 Ly49C이다. 한 실시양태에서, 상기 Ly49-CAR은 ITIM-함유 세포질 도메인, 예를 들어 Ly49-세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 Ly49-CAR은 Ly49A-Ly49W로부터 독립적으로 선택된 Ly49-막횡단 도메인 또는 Ly49-세포질 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 Ly49-CAR은 상기 막횡단 도메인과 상기 세포외 항원 결합 도메인 사이에 배치된 힌지 도메인을 추가로 포함한다.

[0108] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 Ly49-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산, 예를 들어 정제된 또는 비-자연 발생 핵산, 예를 들어 DNA 또는 RNA 서열, 예를 들어 mRNA를 포함하는 핵산을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 핵산은 세포질 활성화 도메인, 예를 들어 DAP12 세포질 도메인을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 Ly49-CAR 및 상기 세포질 활성화 도메인은 별개의 핵산 분자, 예를 들어 별개의 벡터, 예를 들어 별개의 바이러스 벡터, 예를 들어 별개의 렌티-바이러스 벡터 상에 배치된다.

[0109] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 Ly49-CAR을 포함하는 세포독성 세포, 예를 들어 자연 또는 비-자연 발생 T 세포, NK 세포 또는 세포독성 T 세포 또는 NK 세포주를 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 세포독성 세포는 세포질 활성화 도메인, 예를 들어 DAP12 세포질 도메인을 추가로 포함한다.

[0110] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포독성 세포 내로 본원에 기재된 Ly49-CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산을 도입하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 Ly49-CAR을 포함하는 세포를 제조하는 방법을 특색으로 한다.

[0111] 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포독성 세포에서 본원에 기재된 Ly49-CAR을 형성하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 Ly49-CAR을 포함하는 세포를 제조하는 방법을 특색으로 한다.

[0112] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 본원에 기재된 세포, 예를 들어 본원에 기재된 Ly49-CAR을 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 대상체를 치료하는 방법, 예를 들어 포유동물에서 항종양 면역을 제공

하는 방법을 특색으로 한다.

[0113] 또 다른 측면에서, 본 발명은 예를 들어 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 및 항원 결합 도메인을 포함하는 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체를 포함하는 세포독성 세포를 포함하는 세포를 특색으로 하며, 여기서 (i) 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않고, (ii) 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 scFv 이외의 것이고, (iii) 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체의 항원 결합 도메인은 서로, 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 덜 회합하고, (iv) 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않고, (v) 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인, 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함하고, (vi) 상기 제1 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함하고, (vii) 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 나노바디를 포함하고, (viii) 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 세포는 T 세포이다. 한 실시양태에서, 상기 세포는 NK 세포이다. 한 실시양태에서, 상기 세포는 NK 세포주로부터의 것, 예를 들어 NK92이다. 한 실시양태에서, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나는 TCAR이다. 한 실시양태에서, 둘 다의 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체는 TCAR이다. 한 실시양태에서, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나는 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 둘 다의 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체는 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체의 항원 결합 도메인은 서로, 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 덜 회합한다. 한 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않는다. 한 실시양태에서, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 예를 들어 피브로넥틴 유형 III 항체-유사 분자를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 나노바디를 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 및 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체를 코딩하는 서열을 포함하는 핵산, 예를 들어 정제된 또는 비-자연 발생 핵산을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 세포 내로 본원에 기재된 핵산을 도입하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 세포를 제조하는 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 세포독성 세포에서 본원에 기재된 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 포매된 수용체를 형성하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 세포를 제조하는 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 포유동물에게 본원에 기재된 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는 대상체를 치료하는 방법, 예를 들어 포유동물에서 항종양 면역을 제공하는 방법을 포함한다.

[0114] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 세포 또는 핵산을 포함하는 키트를 특색으로 한다.

[0115] 또 다른 측면에서, 본 발명은 KIR-CAR (킬러 세포 이뮤노글로불린 수용체-유사-키메라 항원 수용체)를 코딩하는 단리된 핵산 서열을 특색으로 하며, 여기서 단리된 핵산 서열은 항원 결합 도메인 및 KIR 또는 그의 단편의 핵

산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 뮤린 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 키메라 항체, 및 그의 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 단편은 Fab 또는 scFv이다. 한 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다. 한 실시양태에서, KIR은 활성화 KIR, 억제 KIR, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 적어도 1개의 힌지 영역은 활성화 KIR로부터 제거된다.

[0116] 또 다른 측면에서, 본 발명은 항원 결합 도메인 및 KIR 또는 그의 단편을 포함하는 단리된 KIR-CAR (킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체-키메라 항원 수용체)을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 뮤린 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 키메라 항체, 및 그의 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 단편은 Fab 또는 scFv이다. 한 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인이다. 한 실시양태에서, KIR은 활성화 KIR, 억제 KIR, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 적어도 1개의 힌지 영역은 활성화 KIR로부터 제거된다.

[0117] 또 다른 측면에서, 본 발명은 적어도 2개의 KIR-CAR을 포함하는 조성물을 특색으로 하며, 여기서 제1 KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 활성화 KIR 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 억제 KIR 또는 그의 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 제1 KIR-CAR 내의 항원 결합 도메인은 종양 상에 존재하는 항원에 특이적이고 (예를 들어 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인), 제2 KIR-CAR 내의 항원 결합 도메인은 정상 세포 상에 존재하는 항원에 특이적이다.

[0118] 또 다른 측면에서, 본 발명은 적어도 2개의 KIR-CAR을 포함하는 유전자 변형된 T 세포를 특색으로 하며, 여기서 제1 KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 활성화 KIR 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 억제 KIR 또는 그의 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 제1 KIR-CAR 내의 항원 결합 도메인은 종양 상에 존재하는 항원에 특이적이고 (예를 들어 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인), 제2 KIR-CAR 내의 항원 결합 도메인은 정상 세포 상에 존재하는 항원에 특이적이다. 한 실시양태에서, 세포는 T 세포이다.

[0119] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 적어도 2개의 KIR-CAR을 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 포유동물에서 항종양 면역을 제공하는 방법을 특색으로 하며, 여기서 제1 KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 활성화 KIR 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 억제 KIR 또는 그의 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 제1 KIR-CAR 내의 항원 결합 도메인은 종양 상에 존재하는 항원에 특이적이고 (예를 들어 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인), 제2 KIR-CAR 내의 항원 결합 도메인은 정상 세포 상에 존재하는 항원에 특이적이어서, 이에 의해 세포의 오프-타겟 활성이 제어된다. 한 실시양태에서, 세포는 T 세포이다.

[0120] 또 다른 측면에서, 본 발명은 포유동물에게 적어도 2개의 KIR-CAR을 포함하는 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 종양 항원, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원의 발현과 연관된 질환 (예를 들어, 종양 항원의 발현과 연관된 증식성 질환, 전암성 상태, 및 비-암 관련 적응증)을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 특색으로 하며, 여기서 제1 KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 활성화 KIR 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 억제 KIR 또는 그의 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 제1 KIR-CAR은 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에서의 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0121] 한 실시양태에서, 종양 항원의 발현과 연관된 질환은 암, 예를 들어 본원에 기재된 암이다. 한 실시양태에서, 암은 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종), 폐암 (예를 들어, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 편평 세포 폐암, 또는 대세포 폐암), 췌장암 (예를 들어, 췌장관 선암종), 난소암, 결장직장암 및 방광암 또는 그의 임의의 조합이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법으로 진행된 바 있는 대상체에서의 췌장암, 예를 들어 전이성 췌장관 선암종 (PDA)이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법으로 진행된 바 있는 대상체에서의 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종)이다. 한 실시양태에서, 질환은 예를 들어 적어도 1종의 선행 표준 요법 후에 진행된 바 있는 대상체에서의 난소암, 예를 들어 장액성 상피 난소암이다.

[0122] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질은 하기 기재된다. 본원에 언급된 모든 공개, 특허 출원, 특허, 및 다른 참고문헌은 그 전문이 참조로 포함된다. 또한, 물질, 방법 및 예는 단지 예시를 위한 것이며, 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 표제, 하위-표제 또는 숫자화 또는 문자화 요소, 예를 들어 (a), (b), (i) 등은 단지 읽기의 용이성을 위해 제시된다. 본 문서에서 표제 또는 숫자화 또는 문자화 요소의

사용은 단계 또는 요소가 알파벳 순서로 수행될 것 또는 단계 또는 요소가 반드시 서로 개별적일 것을 요구하지 않는다. 본 발명의 다른 특색, 목적 및 이점은 상세한 설명 및 도면으로부터, 및 청구범위로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0123] 본 발명의 바람직한 실시양태의 하기 상세한 설명은 첨부된 도면과 함께 읽을 때 더 잘 이해될 것이다. 본 발명을 예시하기 위한 목적으로, 현재 바람직한 도면 실시양태로 제시된다. 그러나, 본 발명은 도면에 제시된 실시양태의 정확한 배열 및 수단으로 제한되지 않는다는 것을 이해해야 한다.

도 1a 및 1b를 포함하는 도 1은 자연 발생 억제 및 활성화 KIR (도 1a) 및 scFv-기반 활성화 KIR-CAR (도 1b)의 구조를 제시하는 일련의 개략도이다.

도 2는 DAP12 신호전달 분자와 조합된 활성화 KIR-기반 CAR을 전달하는데 사용된 렌티바이러스 벡터의 개략적 발현이다.

도 3은 메소텔린-특이적 actKIR-CAR이 1차 인간 T 세포의 표면 상에서 효율적으로 발현될 수 있다는 것을 입증하는 영상이다. 인간 T 세포를 항-CD3/항-CD28 마이크로비드로 자극시키고, 상기 CAR로 형질도입하거나 모의 형질도입하고, 생체외 확장시켰다. 비오티닐화 염소-항-마우스 F(ab)2-특이적 폴리클로날 IgG (잭슨 이뮤놀로직스(Jackson Immunologics))를 사용하는 것에 이어 스트렙타비딘-PE에 의한 염색에 의해 발현을 검출하였다.

도 4는 SS1 actKIR-CAR을 발현하는 T 세포가 메소텔린 리간드를 발현하도록 조작된 표적 K562 세포 (KT-meso)에 대해 세포독성 활성을 나타낸다는 것을 입증한다. 인간 T 세포를 항-CD3/항-CD28 마이크로비드로 자극하고, 상기 CAR로 형질도입하거나 모의 형질도입하고, 생체외 확장시켰다. 10^5개의 메소텔린을 발현하는 CFSE-표지된 K562 세포 (KT-meso) 또는 야생형 대조군 K562를 다양한 비의 CAR-발현 T 세포와 함께 37℃, 5% CO_2에서 16시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서 K562 표적 세포를 카운트브라이트 비드 및 생존률 염색 (7AAD)을 사용한 유동 세포측정법에 의해 열거하였다. 용해된 K562 세포의 백분율 (퍼센트 용해)은, 이펙터 T 세포 없이 밤샘 배양 후 남은 생존 K562의 수에서 이펙터 T 세포와의 인큐베이션 후 남은 생존 표적 세포의 수를 차감한 다음 이펙터 T 세포 없이 밤샘 배양 후 남은 생존 K562의 수로 나누어 계산하였다.

도 5a 및 5b를 포함하는 도 5는 KIR2DS2 힌지가 제거된 활성화 KIR CAR (KIR2S CAR)을 제시하는 일련의 개략도이다. 도 5a에 개략화된 TCR 활성화의 동역학적 분리 모델에 기초하여, 메소텔린-특이적 SS1 KIR CAR은 적절한 분리를 허용할 만큼 긴 힌지를 갖는 것으로 여겨진다. 따라서 보다 짧은 메소텔린-특이적 KIR CAR 힌지를 제조하는 것은 기능을 개선시키는 것으로 여겨진다. 도 5b는 SS1 scFv가 힌지로서 KIR2DS2로부터의 2개의 Ig-유사 도메인 없이 KIR 막횡단 도메인에 융합되었음을 제시하는 개략도이다.

도 6a 및 6b를 포함하는 도 6는 SS1 scFv 기반 KIRS2 CAR이 전장 야생형 KIR2DS2 상에의 SS1 scFv의 융합에 의해 형성된 CAR과 비교하여 메소텔린-발현 표적 세포에 대해 증진된 세포용해 활성을 나타낸다는 것을 입증하는 일련의 영상이다. 1차 인간 T 세포를 CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, SS1-KIR2DS2 활성화 KIR-CAR, SS1-KIRS2 활성화 KIR CAR, SS1-제타 CAR 중 어느 하나로 렌티바이러스 형질도입하였다. 모의 비-형질도입된 T 세포 (NTD)를 대조군으로서 사용하였다. T 세포를 대수기 성장 종료 시까지 확장시켰다. SS1-특이적 CAR의 표면 발현을 도 6a에 제시된 바와 같이 비오티닐화 염소 항-마우스 F(ab)2 특이적 폴리클로날 항체에 이어 스트렙타비딘-PE 검출을 사용한 유동 세포측정법에 의해 결정하였다. 도 6b에 제시된 바와 같이, 메소텔린의 존재 또는 부재 하의, CFSE로 염색된 K562 표적 세포를 도 6a에서 특징화된 이펙터 T 세포와 제시된 바와 같이 10:1 내지 1:1 범위의 다양한 이펙터 T 세포 대 표적 비를 사용하여 혼합하였다. 표적 K562 세포 용해를 유동 세포측정법을 사용하여 평가하여 도 4에 기재된 바와 같이 생존 CFSE+ 세포의 %를 결정하였다. 이펙터 세포의 부재 하의 표적 세포에 대한 것과 비교하여 계산된 % 표적 세포 용해의 데이터를 제시한다.

도 7a 및 7b를 포함하는 도 7은 CD19 actKIR-CAR 및 SS1 inhKIR-CAR의 공동-발현을 제시하는 일련의 영상이다. Jurkat NFAT-GFP 리포터 세포를 상기 KIR CAR로 형질도입하거나 비-형질도입하고 (NDT), 제시된 바와 같이 CD19 및 메소텔린 항원의 존재 또는 부재 하에 표적 세포와 1:1 혼합하였다. 결과는 Jurkat 및 표적 세포의 혼합 24시간 후의 GFP 발현을 제시한다 (도 7a). 도 7b는 FMC63 항-CD19 scFv 이디오타입에 특이적인 메소텔린-Fc 융합체 단백질 및 모노클로날 항체에 의한 염색에 의해 결정된 바와 같은, 메소텔린 및 CD19 이디오타입의 표면 발현을 제시한다.

도 8a, 8b, 및 8c를 포함하는 도 8은 메소텔린을 표적화하는 활성화 KIR-기반 CAR 또는 TCR-제타 기반 CAR 둘

다와의 야생형 PD-1의 공동-발현을 입증하는 일련의 영상이다. 1차 인간 T 세포를 CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, SS1-KIRS2 활성화 KIR CAR 또는 SS1-제타 CAR로 렌티바이러스 형질도입하였다. 모의 비-형질도입된 세포 (NTD)를 음성 대조군으로서 사용하였다. T 세포를 9일에 걸쳐 확장시키고, 표면 CAR 발현을 메소텔린-Fc에 이어 PE에 접합된 염소-항-인간 Fc 특이적 항체에 의한 염색에 의해 결정하였다 (도 8a). K562 세포주 (야생형 [wt], 메소텔린 발현 [meso] 또는 메소텔린 및 PD-L1 공동-발현 [meso-PDL1])를 CAK1 항-메소텔린 특이적 모노클로날 항체를 사용하여 염색하여 표적 상에서의 메소텔린 발현을 확인하였다 (도 8b). 도 8a에 제시된 바와 같이 형질도입된 1차 인간 T 세포를 BTX ECM830 전기천공기를 사용하여 야생형 PD1을 코딩하는 시험관내 전사된 RNA 10 ug으로 전기천공하거나 (PD1+), 모의 형질감염시켰다 (PD1-). PD-1의 표면 발현은 APC에 접합된 항-PD1 모노클로날을 사용하여 표현되었다 (도 8c).

도 9는 메소텔린을 표적화하는 활성화 KIR-기반 CAR 및 TCR-제타 기반 CAR 둘 다와 야생형 PD-1의 공동-발현의 조합이 메소텔린-특이적 활성화 KIR-CAR 세포독성의 PD-1 리간드 1 (PDL-1) 의존성 억제로 이어졌다는 것을 입증하는 영상이다. 1차 인간 T 세포를 CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, SS1-KIRS2 활성화 KIR CAR 또는 SS1-제타 CAR로 렌티바이러스 형질도입하거나, 모의 형질도입하였다 (NTD). T 세포를 9일에 걸쳐 확장시킨 다음, $5x10^6$개의 T 세포를 BTX ECM830 전기천공기를 사용하여 야생형 PD1을 코딩하는 시험관내 전사된 RNA 10 ug으로 전기천공하거나 (PD1+), 모의 형질감염시켰다 (PD1-). SS1-특이적 CAR 및 PD-1의 표면 발현을 도 8에 제시된 바와 같이 결정하였다. PDL-1의 존재 또는 부재 하의, 메소텔린이 없거나 또는 메소텔린을 발현하는 K562 표적 세포를, 표시된 바와 같은 상이한 T 세포 조건과 제시된 바와 같이 30:1 내지 1:1의 다양한 이펙터 T 세포 대 표적 비를 사용하여 혼합하였다. 칼세인 AM 염료 방법을 사용하여 표적 K562 세포 용해를 평가하여, 인큐베이션 4시간 후 남은 생존 세포를 정량화하였다. 이펙터 세포의 부재 하의 표적 세포에 대한 것과 비교하여 계산된 % 표적 세포 용해의 데이터를 제시한다.

도 10은 공동자극 도메인 (SS1-z, SS1-28z 또는 SS1-BBz)의 존재 또는 부재 하의 메소텔린-특이적 활성화 KIR-기반 CAR (SS1-KIRS2) 또는 TCR-제타 기반 CAR을 발현하는 공여자로부터의 T 세포에 의한 인터페론-감마 (IFN-γ) 및 인터류킨-2 생산을 입증하는 영상이다. 1차 인간 T 세포를 자극한 다음, 상기 활성화 KIR CAR 또는 TCR-제타 기반 CAR로 렌티바이러스 형질도입하였다. 확장 후, 형질도입된 T 세포를 K562 (Kwt) 또는 K562-메소텔린 세포 (Kmeso)와 2:1의 비로 혼합하였다. 다중 독립적 공여자에서 표시된 시토카인에 대한 ELISA에 의한 자극 24시간 후 상청액 중에서 시토카인 농도를 결정하였다. 반복 측정 ANOVA는 IFN-γ (p=0.002) 및 IL-2 (p=0.0156)에 대한 유의한 CAR 효과를 입증하였다. IFN-γ의 경우에 SS1-KIRS2/DAP12 (SS1KIR) vs. 모의 (사후 대응표본 t-검정, p = 0.0162). IL-2의 경우에 SS1-KIR vs. SS1-28z (사후 대응표본 t-검정, p=0.0408)

도 11은 멀티플렉스 루미넥스-기반 면역검정 (시토카인 인간 10-플렉스 패널, 라이프 테크놀로지스(Life Technologies))에 의해 평가된 바와 같은 상청액 중 시토카인 농도의 열 지도이다. R 통계 소프트웨어의 열지도 패키지 구현을 사용하여 각각의 시토카인에 대한 최저 농도에 대해 공여자 및 조건에 걸쳐 정규화한 후 상대 농도의 열지도를 생성하였다.

도 12a-12b를 포함하는 도 12는 강건한 세포독성 활성을 갖는 메소텔린-특이적 KIR-기반 키메라 항원 수용체 (KIR-CAR) 조작된 T 세포의 구축을 도시한다. 1차 인간 T 세포를 CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, GFP 및 dsRed (대조군) 또는 DAP12 및 dsRed (DAP12)를 발현하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 세포를 대수기 성장 종료시까지 생체외 확장시켰다. 각각의 형질도입된 집단으로부터의 $5x10^6$개의 T 세포를 BTX ECM830 전기천공기를 사용하여 SS1-KIRS2를 코딩하는 시험관내 전사된 RNA 10 ug으로 전기천공시켰다. dsRed 및 SS1-KIRS2 둘 다의 발현을 비오티닐화 염소 항-마우스 F(ab)2 특이적 폴리클로날 항체에 이어 스트렙타비딘-PE를 사용하여 검출되는 SS1-KIRS2에 의해 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. 도 12a의 상부 패널은 dsRed를 발현하는 T 세포의 확인을 위한 게이팅 전략을 제시하며, 이는 이어서 패널의 하부 부분에 제시된 바와 같이 SS1-KIRS2 발현에 대해 분석된다. 도 12b는 4-hr ^{51}Cr-방출 검정을 사용하여 평가된 바와 같이 도 12a에서 특징화된 세포가 야생형 K562 세포 (K562-wt) 또는 메소텔린을 발현하는 K562 세포 (K562-메소텔린)에 대해 세포독성을 매개하는 능력을 제시한다.

도 13은 내인성 TCR의 발현이 SS1-KIRS2 및 DAP12 발현에 의해 영향을 받지 않는다는 것을 제시한다. $5x10^6$개의 1차 인간 T 세포를 BTX ECM830 전기천공기를 사용하여 SS1-KIRS2를 코딩하는 시험관내 전사된 RNA 10 ug로 전기천공하거나, 모의 형질감염시켰다. 밤샘 인큐베이션 후, 형질감염된 T 세포를 비오티닐화 염소 항-마우스 F(ab)2 특이적 폴리클로날 항체에 이어 스트렙타비딘-PE를 사용하여 SS1-KIRS2의 발현에 대해 염색하였다. TCR

의 Vβ 쇄에 대해 특이적인 PE-접합된 모노클로날 항체를 사용하여 이러한 Vβ13.1의 발현을 평가하였다.

도 14는 메소텔린-특이적 KIR-기반 CAR (SS1-KIRS2)이 항원-의존성이지만 추가의 CD28 공동자극 비의존성인 T 세포 증식을 자극하는 능력을 예시한다. 1차 인간 T 세포를 CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, SS1-KIRS2 및 DAP12 또는 메소텔린-특이적 TCR-제타 CAR (SS1-제타) 렌티바이러스 형질도입하였다. 모의 비-형질도입된 세포 (NTD)를 음성 대조군으로서 사용하였다. 메소텔린 (K562 wt)이 없거나 또는 메소텔린을 발현하는 (K562-메소텔린) K562 표적 세포를 표시된 바와 같은 상이한 T 세포 조건과 이펙터 T 세포 대 표적 세포의 2:1 비로 혼합하였다. K562-메소텔린으로 자극된 T 세포를 1 ug/mL의 모노클로날 항-CD28 효능제 항체 (클론 9.3)의 존재 또는 부재 조건으로 추가로 나누었다. 생존 T 세포의 수를 상기 시점에 비드-기반 카운팅을 사용하여 유동 세포측정법에 의해 열거하여 항원 자극 후 집단 배가 횟수를 계산하였다.

도 15a, 15b, 15c, 15d, 및 15e를 포함하는 도 15는 메소텔린-특이적 KIR-CAR 변형된 T 세포가 CD28 또는 CD137 (4-1BB) 공동자극 도메인을 보유하는 제2 세대 TCR-ζ 기반 CAR과 비교하여 증진된 생체내 항종양 활성을 제시한다는 것을 입증한다. 도 15a는 NOD-SCID-$\gamma_c^{-/-}$ (NSG) 마우스에게 $2x10^6$개의 메소텔린을 발현하는 중피종-유래 세포 (EM-meso 세포)를 피하로 이식한 실험을 제시한다. 종양 이식 20일 후, 항-CD3/항-CD28 자극제 비드에 의한 자극 후 공동자극 도메인 (SS1-ζ, SS1-BBζ 및 SS1-28ζ)의 존재 또는 부재 하의 일련의 CD3ζ-기반 CAR 또는 DAP12를 갖는 메소텔린-특이적 KIR-기반 CAR, SS1-KIRS2로 렌티바이러스 형질도입된 T 세포 $5x10^6$개를 각각의 동물에게 정맥내로 주사하였다. 모의 형질도입된 T 세포 (NTD)를 대조군으로서 사용하였다. 표시된 시점에 캘리퍼를 사용하여 종양 부피를 측정하였다 (군당 n = 7 마우스). 도 15b는 KIR-CAR의 생체내 활성이 혈액, 비장 또는 종양에서의 T 세포 생착과 독립적이라는 것을 제시한다. 인간 CD45+ T 세포의 빈도를 유동 세포측정법에 의해 실험 종료 시 평가하고, 데이터를 혈액, 비장 및 종양 분해물 중 총 생존 세포의 백분율로 표현한다. 도 15c는 SS1-28ζ 및 SS1-KIRS2/DAP12 CAR T 세포 처리군에서 CD3+ TIL의 대등한 빈도가 관찰되었음을 제시한다. 도 15a에 제시된 것과 동일한 모델을 사용하였다. 제30일 (CAR T 주입 후 10일)의 종양 내 CD3+ 인간 림프구의 빈도를 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. 도 15d는 DAP12-변형된 T 세포가 종양 근절을 위해 메소텔린-특이적 KIR-기반 CAR을 필요로 한다는 것을 제시한다. 도 15a에 제시된 것과 동일한 모델을 사용하였다. DAP12 및 dsRed (DAP12), SS1-28z 또는 SS1-KIRS2 및 DAP12 (SS1-KIRS2)를 발현하는 4백만개의 T 세포를 제20일에 정맥내로 주사하고, 캘리퍼 측정을 통해 시간의 경과에 따라 종양 부피를 평가하였다. 화살표는 기능적 및 표현형 분석에 사용된 TIL 단리의 시간을 나타낸다. 도 15e는 도 15d에 기재된 마우스로부터 단리된 TIL의 항원-특이적 세포독성 활성을 제시한다. 항원-특이적 세포독성은 반딧불이 루시페라제 발현 EM-meso 세포 또는 EMp 세포 (메소텔린 발현이 결여된 모 EM 세포)와 표시된 E:T 비로 18시간 동안 공동배양하는 것에 의해 평가하였다.

도 16a 및 16b를 포함하는 도 16은 CD19 특이성을 갖는 KIR-기반 CAR이 항원-특이적 표적 세포 세포독성을 촉발할 수 있다는 것을 입증한다. 항-CD3/항-CD28 비드 활성화 후, FMC63-유래된 scFv가 전장 KIR2DS2에 융합된 CD19-특이적 KIR-기반 CAR (CD19-KIR2DS2) 또는 FMC63 scFv를 짧은 링커 $[Gly]_4$-Ser 링커를 통해 KIR2DS2의 막횡단 및 세포질 도메인에 융합시킴으로써 생성된 KIR-기반 CAR (CD19-KIRS2)과 함께 DAP12를 발현하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터로 T 세포를 형질도입하였다. 형질도입된 T 세포를 대수기 성장 종료 시까지 배양하고, CD19-특이적 KIR-기반 CAR의 발현을 비오티닐화 염소-항-마우스 $F(ab)_2$ 폴리클로날 항체에 이어 SA-PE를 사용한 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. CD19 발현이 있거나 (K562- CD19) 없는 (K562-wt) ^{51}Cr-표지된 K562 표적 세포를 T 세포 대 표적 세포의 다양한 비 (E:T 비)로 혼합하였다. 4시간째에 상청액으로 방출된 ^{51}Cr의 분획을 측정함으로써 세포독성을 결정하였다. 모의 형질도입된 (NTD) 또는 CD19에 특이적인 CD3ζ-기반 CAR로 형질도입된 (CD19-z) 대조군 T 세포를 또한 각각 음성 및 양성 대조군으로서 포함시켰다.

도 17a 및 17b를 포함하는 도 17은 CD19-KIRS2 생체내 활성을 제시한다. NOD-SCID-$\gamma_c^{-/-}$ (NSG) 마우스에게 제0일에 1백만개의 Nalm-6 CBG 종양 세포, CD19를 발현하는 백혈병성 세포주를 꼬리 정맥 주사에 의해 정맥내로 생착시켰다. T 세포를 항-CD3/항-CD28 자극제 비드로 자극한 다음, 제1일에 공동자극 도메인 (CD19z, 19BBz)의 존재 또는 부재 하의 일련의 CD19-특이적 CD3ζ-기반 CAR 또는 DAP12를 갖는 CD19-특이적 KIR-기반 CAR, CD19-KIRS2 (19KIRS2)로 렌티바이러스 형질도입하였다. 모의 비-형질도입된 T 세포 (NTD)를 대조군으로서 사용하였다. T 세포를 대수기 성장 종료 시까지 생체외 확장시키고, 백혈병성 세포주 주사 후 제5일에 마우스당 2백만개의 CAR T 세포를 정맥내로 주사하였다. 생물발광 영상화를 통해 종양 부담을 평가하였다. 5마리의 동물을

각각의 T 세포 상태에 대해 분석하였다. 도 17a는 개별 동물에 대한 백혈병성 세포 생착 후 제5일 (T 세포 주사 전 기준선) 및 제15일의 개별적 생물발광 광자 플럭스를 제시한다. 도 17b는 시간의 경과에 따른 각각의 처리군에 대한 중앙 총 유동을 제시한다.

도 18은 메소텔린 특이성을 갖는 NKp46-기반 NCR CAR이 항원 특이적 세포독성을 촉발한다는 것을 입증한다. 항-CD3/항-CD28 비드 활성화 후, T 세포를 DAP12 및 SS1-KIRS2 (대조군), 또는 FcεRγ 및 메소텔린 특이적 NKp46-기반 CAR (SS1-NKp46), 또는 천연 NKp46 세포외 도메인이 말단절단된 FcεRγ 및 메소텔린-특이적 NKp46 CAR (SS1-TNKp46)을 발현하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 메소텔린-특이적 CAR의 발현을 도 18a에 제시된 바와 같이 비오티닐화 염소-항-마우스 F(ab)2 폴리클로날 항체에 이어 SA-PE를 사용한 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. T 세포를 메소텔린을 발현하는 ^{51}Cr-표지된 K562 표적 세포와 이펙터 T 세포 대 표적 K562 세포의 다양한 비 (E:T 비)로 혼합하였다. 도 18b에 제시된 바와 같이 자발적 방출과 비교하여 4시간째에 상청액으로 방출된 ^{51}Cr의 분획을 측정함으로써 세포독성을 결정하였다.

도 19는 도 21-23에 제시된 실험에 사용된 수용체의 개략적 발현을 제시한다.

도 20은 KIR2DL3 리간드 HLA-Cw를 발현하는 K562-meso 세포주의 생성 및 특징화를 입증한다. K562 세포 (K562) 또는 메소텔린을 발현하는 K562 세포 (K562-meso)를 HLA-Cw3 대립유전자로 형질도입한 다음 형광 활성화 세포 분류하여 메소텔린의 발현이 있거나 (K562-meso-HLACw) 없는 (K562-HLACw) HLA-Cw를 발현하는 K562 세포를 수득하였다. HLA-Cw3 발현은 HLA-A, B 및 C 대립유전자를 인식하는 APC-접합된 모노클로날 항체 (클론 W6/32)를 사용한 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

도 21은 1차 인간 T 세포에서의 SS1-KIRS2 및 KIR2DL3의 공동-발현을 입증한다. 1차 인간 T 세포를 CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, SS1-KIRS2 및 DAP12 (SS1-KIRS2)로 렌티바이러스 형질도입하거나 야생형 KIR2DL3과 조합하여 모의 형질도입하였다 (NTD). T 세포를 대수기 성장 종료 시까지 확장시켰다. 메소텔린-특이적 CAR 및 KIR2DL3의 표면 발현을 KIR2DL3 엑토도메인에 대한 메소텔린-Fc에 이어 PE-접합된 염소-항-인간 Fc 및 모노클로날 항체를 사용한 염색에 의해 결정하였다.

도 22는 KIR CAR과 공동발현된 KIR2DL3이 표적 세포 상의 HLA-Cw의 존재 하에 항원 특이적 세포독성을 억제할 수 있다는 것을 입증한다. 도 21에 기재된 바와 같이 생성되고 특징화된 T 세포를 도 22에 기재된 바와 같이 생성되고 특징화된 51-Cr 표지된 표적 K562 세포와 혼합하였다. 이펙터 세포의 부재 하의 표적 세포와 비교하여 4시간째에 상청액으로 방출된 ^{51}Cr의 분획을 측정함으로써 세포독성을 결정하였다.

도 23은 도 24에 제시된 실험에 사용된 수용체의 개략적 발현을 제시한다.

도 24는 2개의 scFv-기반 키메라 수용체가, 각각의 수용체가 각각의 결합 특이성을 보유하면서 T 세포의 표면 상에서 공동-발현될 수 없음을 입증한다. SS1-KIR2DL3을 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 Jurkat T 세포를 형질도입하였다. 이들 세포를 후속적으로 CD19-KIR2DS2를 코딩하는 제2 렌티바이러스 벡터를 사용하여 다양하게 희석된 벡터로 형질도입하였다. SS1-특이적 scFv의 발현을 메소텔린-Fc에 이어 PE-접합된 염소-항-인간 Fc를 사용하여 평가하였다. CD19-특이적 scFv 발현은 FMC63 이디오타입에 특이적인 PE-접합된 모노클로날 항체를 사용하여 평가하였다.

도 25는 CD19-특이적 CAR의 발현이 또한 SS1-제타-m체리(mCherry) 융합 CAR을 공동-발현하는 세포의 표면 상에서의 메소텔린-결합 부위의 발현을 감소시킨다는 것을 입증하는 영상이다. 1차 인간 T 세포를 CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음 C-말단 m체리 융합을 보유하는 SS1 scFv 제타 CAR (SS1z-mCh) 또는 FMC63-유래된 CD19 특이적 41BB-제타 CAR (19bbz)로 단독으로 또는 조합하여 렌티바이러스 형질도입하였다. 모의-형질도입된 세포를 대조군으로서 사용하였다. T 세포를 대수기 성장의 종료 시까지 확장시키고, 메소텔린-Fc에 이어 FITC에 접합된 염소-항-인간 Fc 특이적 폴리클로날 항체에 의한 염색 후 유동 세포측정법에 의해 dsRed 뿐만 아니라 표면 CAR 발현을 결정하였다.

도 26은 SS1 scFv에 대한 결합 부위의 상호 배타적 발현이 FMC63 scFv에 대해 고유하지 않음을 입증하는 영상이다. 1차 인간 T 세포를 CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, SS1 scFv 제타 CAR 또는 다양한 CD19 특이적 41BB-제타 CAR (대안적 VH 및 VL 배향 [H2L 및 L2H]을 갖는 19BBz [FMC63 scFv, 214d scFv 또는 the BL22 scFv CAR)로 렌티바이러스 형질도입하였다. NTD는 염색 대조군으로서 사용된 모의-형질도입된 세포를 나타낸다. 또한, T 세포의 별개의 세트를 SS1 scFv 제타 CAR 및 상이한 CD19 특이적 CAR로 상기한 바와 같이 공동-형질도입하였다. T 세포를 대수기 성장의 종료 시까지 확장시키고, 표면 CAR 발현을 비오티닐화 단백질 L (카파 경쇄를

인식함), 이어서 메소텔린-Fc와 동시에 스트렙타비딘 APC, 이어서 PE에 접합된 염소-항-인간 Fc 특이적 폴리클로날 항체를 사용한 염색에 의해 결정하였다. 공동형질도입된 세포는 FMC63-기반 CAR에 의해 관찰된 상호 배타적 발현이 다른 scFv-CAR에 의해서도 관찰된다는 것을 제시하였다.

도 27a 및 27b를 포함하는 도 27은 2개의 scFv 분자가 세포 표면 상에 공동-발현된 경우에 scFv 결합의 상실에 대한 추정 메카니즘 (도 27a) 및 낙타류 단일 VHH 도메인-기반 CAR이 scFv-기반 CAR과 조합되어 T 세포 표면 상에서 발현된 경우에 이러한 상호작용의 추정 회피를 도시한다.

도 28은 낙타류 단일 VHH 도메인-기반 CAR이 scFv-기반 CAR과 조합되어 인지가능한 수용체 상호작용 없이 T 세포 표면 상에서 발현될 수 있음을 입증한다. NFAT-의존성 프로모터 하의 GFP (NF-GFP)를 발현하는 Jurkat T 세포를 메소텔린-특이적 활성화 CAR (SS1-CAR), CD19-특이적 활성화 (19-CAR) 또는 EGFR에 특이적인 낙타류 VHH 도메인을 사용하여 생성된 CAR (VHH-CAR)로 형질도입하였다. 활성화 CAR에 의한 형질도입 후, 세포를 이어서 CD19 (19-PD1)를 인식하는 추가의 억제 CAR로 형질도입하여, 활성화 및 억제 CAR 둘 다 (SS1+19PD1, 19+19PD1 또는 VHH+19PD1)를 공동-발현하는 세포를 생성하였다. 형질도입된 Jurkat T 세포를 1) 모든 표적 항원이 결여된 (K562), 2) 메소텔린 (K-meso), CD19 (K-19) 또는 EGFR (A431)만을 발현하는, 3) EGFR 및 메소텔린 (A431-메소텔린) 또는 CD19 (A431-CD19)의 조합을 발현하는, 또는 4) CD19 및 메소텔린 (K-19/meso)의 조합을 발현하는 상이한 세포주와 함께 24시간 동안 공동-배양하였다. 어떠한 자극제 세포도 포함하지 않거나 (no stim) 또는 1 ug/mL의 OKT3과 함께 K562를 포함하는 (OKT3) 추가의 조건을 또한 각각 NFAT 활성화에 대한 음성 및 양성 대조군으로서 포함시켰다. NFAT 활성화의 마커로서 GFP 발현을 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

도 29는 KIR2DS2 서열 주석을 제시한다. 도 29에 제공된 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 342로 지정된다. 도 29에 제공된 아미노산 서열은 서열식별번호: 343으로 지정된다.

도 30은 KIR2DL3 서열 주석을 제시한다. 도 30에 제공된 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 344로 지정된다. 도 30에 제공된 아미노산 서열은 서열식별번호: 345로 지정된다.

도 31은 NKp46 서열 주석을 제시한다. 도 31에 제공된 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 346으로 지정된다. 도 31에 제공된 아미노산 서열은 서열식별번호: 347로 지정된다.

도 32는 SS1-KIRS2 서열 주석을 제시한다. 도 32에 제공된 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 348로 지정된다. 도 32에 제공된 아미노산 서열은 서열식별번호: 349로 지정된다.

도 33은 SS1-KIR2DS2 서열 주석을 제시한다. 도 33에 제공된 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 350으로 지정된다. 도 33에 제공된 아미노산 서열은 서열식별번호: 351로 지정된다.

도 34는 SS1-tNKp46 서열 주석을 제시한다. 도 34에 제공된 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 352로 지정된다. 도 34에 제공된 아미노산 서열은 서열식별번호: 353으로 지정된다.

도 35는 SS1-KIRL3 서열 주석을 제시한다. 도 35에 제공된 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 354로 지정된다. 도 35에 제공된 아미노산 서열은 서열식별번호: 355로 지정된다.

도 36은 메소텔린-특이적 CD3ζ 및 KIR-기반 CAR이 메소텔린을 발현하는 중피종-유래 세포 (EM-meso 세포)에 대해 유사한 항원 특이적 시험관내 세포독성을 갖는다는 것을 제시한다. 1차 인간 T 세포를 항-CD3/CD28 자극제 비드로 자극하고, SS1-KIRS2 메소텔린-특이적 CAR을 발현하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 확장 후, T 세포를 EM-meso를 발현하는 ^{51}Cr-표지된 K562 세포와 상기 이펙터 대 표적 (E:T) 비로 혼합하였다. % 용해를 결정하였다.

도 37은 28ζ CART 처리된 마우스로부터의 TIL이 메소텔린을 발현하는 중피종-유래 세포 (EM-meso 세포)에 의한 자극에 의해 IFNγ 분비를 상실한다는 것을 제시한다. NOD-SCID -γc -/- (NSG) 마우스에게 2x10^{6}개의 EM-meso 세포를 피하로 주사하였다. 상기 CAR로 형질도입된 5x10^{6}개의 1차 인간 T 세포를 제16일에 IV 주사하였다. CAR T 세포 주입 18일 후, CD45 자기 비드로 TIL을 단리하고, EM-meso와 상기 이펙터 대 표적 (E:T) 비로 혼합하였다. 시토카인 농도를 ELISA에 의해 상청액 중에서 결정하였다.

도 38은 SS1-KIRS2/DAP12 T 세포가 강건한 생체내 항종양 활성을 매개한다는 것을 제시한다. NOD-SCID -γc -/- (NSG) 마우스에게 메소텔린을 발현하는 2x10^{6}개의 중피종-유래 세포 (EM-meso 세포)를 피하로 주사하였다. 상기 CAR로 형질도입된 5x10^{6}개의 1차 인간 T 세포를 제20일에 IV 주사하였다. 종양 부피를 표시된 시점에 캘

리퍼에 의해 측정하였다.

도 39a, 39b, 및 39c를 포함하는 도 39는 메소텔린-특이적 CAR의 구조를 제시하는 개략도이다. 도 39a는 메소텔린-특이적 다중-쇄 KIR-CAR을 나타낸다. 도 39b는 DAP12를 함유하는 메소텔린-특이적 단일 쇄 KIR-CAR을 나타낸다. 도 39c는 CD28 및 CD3제타 신호전달 도메인을 함유하는 메소텔린-특이적 CAR을 나타낸다.

도 40은 다중-쇄 KIRS/DAP12 및 단일 쇄 DAP12 구축물을 포함하는 메소텔린-기반 CAR 구축물의 생체내 항종양 활성을 제시한다

도 41은 유동 세포측정법 분석에 의해 검출된 바와 같은 인간 1차 T 세포 상에서의 메소텔린-기반 KIR-CAR의 표면 발현을 제시한다.

도 42a 및 42b를 포함하는 도 42는 메소텔린을 발현하지 않는 표적 세포 (K562) (도 42a) 또는 메소텔린을 발현하도록 조작된 표적 세포 (K562-meso) (도 42b)에 대한 메소텔린-기반 KIR-CAR의 항원-특이적 세포독성 활성을 제시한다.

도 43a 및 43b를 포함하는 도 43은 메소텔린-발현 표적 세포 (K562-meso, 흑색 막대) 또는 메소텔린을 발현하지 않는 대조군 표적 세포 (K562, 백색 막대)의 존재 하에 배양한 경우의 메소텔린-기반 KIR-CAR의 시토카인 생산을 제시한다. 도 43a는 IFN-감마 생산을 제시하고; 도 43b는 IL-2 시토카인 생산을 제시한다.

도 44a, 44b, 44c, 44d, 및 44e를 포함하는 도 44는 단일 벡터 상에서의 다양한 구성을 제시하며, 예를 들어 여기서 U6 조절 shRNA는 EF1 알파 조절 CAR 코딩 요소의 상류 또는 하류에 있다. 도 44a 및 44b에 도시된 예시적인 구축물에서, 전사는 U6 및 EF1 알파 프로모터를 통해 동일한 방향으로 일어난다. 도 44c 및 44d에 도시된 예시적인 구축물에서, 전사는 U6 및 EF1 알파 프로모터를 통해 상이한 방향으로 일어난다. 도 44e에서, shRNA (및 상응하는 U6 프로모터)는 제1 벡터 상에 존재하고, CAR (및 상응하는 EF1 알파 프로모터)은 제2 벡터 상에 존재한다.

도 45는 2종의 예시적인 RCAR 구성의 구조를 도시한다. 항원 결합 구성원은 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 스위치 도메인을 포함한다. 세포내 결합 구성원은 스위치 도메인, 공동-자극 신호전달 도메인 및 1차 신호전달 도메인을 포함한다. 2종의 구성은 본원에 기재된 제1 및 제2 스위치 도메인이 항원 결합 구성원 및 세포내 결합 구성원과 관련하여 상이한 배향으로 존재할 수 있음을 입증한다. 다른 RCAR 구성이 본원에 추가로 기재되어 있다.

도 46은 CAR-발현, 형질도입된 T 세포의 증식이 세포 배양 시스템에서 낮은 용량의 RAD001에 의해 증진된다는 것을 제시한다. CART를 상이한 농도의 RAD001의 존재 하에 Nalm-6 세포와 공동-배양하였다. CAR-양성 CD3-양성 T 세포 (흑색) 및 총 T 세포 (회색)의 수를 공동-배양 4일 후에 평가하였다.

도 47은 0.3, 1, 3, 및 10 mg/kg (mpk)으로의 매일 RAD001 투여 또는 비히클 투여에 의한 NALM6-luc 세포의 종양 성장 측정을 도시한다. 원형은 비히클을 나타내고; 사각형은 10 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; 삼각형은 3 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고, 역삼각형은 1 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; 다이아몬드형은 0.3 mg/kg 용량의 RAD001을 나타낸다.

도 48a 및 48b를 포함하는 도 48은 NALM6 종양을 갖는 NSG 마우스의 혈액 중 RAD001의 양을 제시하는 약동학 곡선을 제시한다. 도 48a는 RAD001의 최초 용량 후 제0일 PK를 제시한다. 도 48b는 최종 RAD001 용량 후 제14일 PK를 제시한다. 다이아몬드형은 10 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; 사각형은 1 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; 삼각형은 3 mg/kg 용량의 RAD001을 나타내고; x형은 10 mg/kg 용량의 RAD001을 나타낸다.

도 49a 및 49b를 포함하는 도 49는 RAD001 투여의 존재 및 부재 하에서의 인간화 CD19 CART 세포의 생체내 증식을 제시한다. 매일 낮은 용량의 RAD001 (0.003 mg/kg)은 huCAR19 증식의 정상 수준을 초과하는 CAR T 세포 증식에서의 증진으로 이어진다. 도 49a는 $CD4^+$ CAR T 세포를 제시하고; 도 49b는 $CD8^+$ CAR T 세포를 제시한다. 원형은 PBS를 나타내고; 사각형은 huCTL019를 나타내고; 삼각형은 huCTL019와 3 mg/kg RAD001을 나타내고; 역삼각형은 huCTL019와 0.3 mg/kg RAD001을 나타내고; 다이아몬드형은 huCTL019와 0.03 mg/kg RAD001을 나타내고; 원형은 huCTL019와 0.003 mg/kg RAD001을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0124] 한 측면에서, 본 발명은 T 세포 또는 다른 세포독성 세포, 예를 들어 NK 세포의 특이성 및 활성을 조절하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 키메라 항원 수용체 (CAR), 예를 들어 NK 세포 수용체 (NK

R)를 기반으로 한 NK 세포 수용체 CAR (NKR-CAR), 예를 들어 KIR-CAR, NCR-CAR, SLAMF-CAR, FcR-CAR, 또는 Ly49-CAR이 제공된다. 한 실시양태에서, 본 발명은 CAR이 NKR, 예를 들어 자연 킬러 (NK) 세포 상에서 발현되는 수용체의 성분을 포함하는 CAR 설계인 "KIR-CAR"로 불리는 키메라 항원 수용체 (CAR)의 유형을 제공한다. 한 실시양태에서, NK 수용체는 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. KIR은 활성화 KIR 또는 억제 KIR로서 기능할 수 있다.

[0125] 본 발명의 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR의 한가지 이점은 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR이 세포독성 세포, 예를 들어 T 세포, 특이성을 조절하여 조작된 T 세포의 오프-타겟 활성을 제어하는 방법을 제공한다는 점이다. 일부 경우에, 본 발명의 KIR-CAR은 증식을 위해 공동자극을 필요로 하지 않는다.

[0126] NKR-CAR은 어댑터 단백질, 예를 들어 ITAM 함유 어댑터 단백질을 통해 신호를 전달할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 KIR-CAR은 이들 단백질의 막횡단 도메인 내의 잔기에 의해 매개되는 이뮤노티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM) 함유 막 단백질, DAP12와의 상호작용을 통해 그의 신호를 전달하는 활성화 KIR을 포함한다.

[0127] 한 실시양태에서, NKR-CAR은 억제 모티프에 의해 억제 신호를 전달할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 KIR-CAR은 이뮤노티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)와의 상호작용을 통해 그의 신호를 전달하는 억제 KIR을 포함한다. ITIM을 함유하는 세포질 도메인을 보유하는 KIR은 활성화 신호를 제거하고, 이는 NK 세포용해 및 시토카인 생산 활성의 억제로 이어진다. 그러나, 본 발명은 억제 KIR로 제한되지 않을 것이다. 오히려, 억제 신호와 연관된 세포질 도메인을 갖는 임의의 억제 단백질이 본 발명의 CAR의 구축에 사용될 수 있다.

[0128] 따라서, 본 발명은 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 포함하는 조성물, 그를 포함하는 벡터, NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 포함하는 조성물, 바이러스 입자 내에 패키징된 벡터, 및 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 포함하는 재조합 T 세포 또는 다른 세포독성 세포를 제공한다. 본 발명은 또한 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR (KIR-CART)을 발현하는 유전자 변형된 T 세포 또는 다른 세포독성 세포, 예를 들어 NK 세포, 또는 배양된 NK 세포, 예를 들어 NK92 세포를 제조하는 방법을 포함하며, 여기서 발현된 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR은 NKR, 예를 들어 KIR로부터의 세포내 신호전달 분자와 특이적 항체의 항원 인식 도메인을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 세포내 신호전달 분자는 KIR ITAM, KIR ITIM 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0129] 따라서, 본 발명은 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 발현하도록 변형된 T 세포 또는 다른 세포독성 세포의 특이성 및 활성을 조절하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 복수개의 유형의 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR (예를 들어 활성화 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR 및 억제 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR)을 포함하는 세포를 제공하며, 여기서 복수개의 유형의 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR은 T 세포 활성화를 조절하기 위한 신호전달에 참여한다. 이러한 측면에서, 이는 정상 방관자 세포에는 영향을 미치지 않으면서 종양 세포를 사멸시키도록 NKR-CAR 세포독성 세포, 예를 들어 KIR-CAR T 세포를 효과적으로 제어 및 조절하는데 유익하다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 또한 정상 비-암성 세포의 고갈은 최소화하면서 암성 세포를 사멸시켜, NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR 요법의 특이성을 개선시키는 방법을 제공한다.

[0130] 한 실시양태에서, NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR 접근법은 세포 상에서 발현되는 복수개의 유형의 CAR의 물리적 분리를 포함하며, 여기서 복수개의 유형의 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR의 그의 표적 항원에의 결합은 NKR-CAR 세포독성 세포, 예를 들어 KIR-CAR T 세포, 활성화를 위해 필요하다. 예를 들어 KIR-CAR 접근법에서, 복수개의 유형의 KIR-CAR로부터의 각각의 KIR-CAR은 상이한 세포내 신호전달 도메인을 갖는다. 예를 들어, 복수개의 유형의 KIR-CAR이 KIR-CAR T 세포 활성화를 유도하는데 사용되는 경우에, 제1 유형의 KIR-CAR은 단지 활성화 KIR로부터의 세포내 도메인을 포함할 수 있고, 제2 유형의 CAR은 단지 억제 KIR로부터의 세포내 도메인을 포함할 수 있다. 이러한 방식에서, T 세포의 조건부 활성화는 활성화 KIR-CAR (actKIR-CAR)의 관심 악성 세포 상의 항원과의 연관에 의해 생성된다. 정상 세포 상에는 존재하지만 악성 세포 상에는 존재하지 않는 항원에 대해 지시된 항원 결합 도메인을 보유하는 억제 KIR-CAR (inhKIR-CAR)은 T 세포가 정상 세포를 만난 경우에 actKIR-CAR로부터의 활성화 효과의 약화를 제공한다.

[0131] 한 실시양태에서, 본 발명은 적어도 2종의 NKR-CAR, 예를 들어 적어도 2종의 KIR-CAR을 발현하도록 조작된 T 세포 또는 다른 세포독성 세포를 제공하며, 여기서 제1 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR은 actNKR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR이고, 제2 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR은 inhNKR-CAR, 예를 들어 inhKIR-CAR이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 inhNKR-CAR, 예를 들어 inhKIR-CAR을 제공하며, 여기서 inhNKR-CAR, 예를 들어 inhKIR-CAR의 정상 세포에의 결합은 세포독성 세포의 억제, 예를 들어 KIR-CAR T 세포 활성의 억제를 발생시킨다. 한 실시양태에서, inhNKR-CAR, 예를 들어 inhKIR-CAR의 비-암성 세포와 연관된 항원에의 결합은 NKR-CAR 세포독성 세포, 예를 들어 KIR-CAR T 세포의 사멸을 발생시킨다.

[0132] 한 실시양태에서, 본 발명의 inhNKR-CAR, 예를 들어 actKIR-CAR은 CAR의 활성을 조절하기 위해 기존 CAR과 조합되어 사용될 수 있다. 예시적인 CAR이 PCT/US11/64191에 기재된 바 있고, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0133] 또한 항원 결합 도메인을 포함하는 복수개의 키메라 막 포매된 수용체 (CMER)를 갖는 세포에서, CMER의 항원 결합 도메인 사이의 상호작용이, 예를 들어 상호작용이 항원 결합 도메인 중 1개 이상이 그의 동족 항원에 결합하는 능력을 억제하거나 비공지 동족 항원과의 신규 결합 부위를 생성할 수 있기 때문에 바람직하지 않을 수 있다는 것이 발견된 바 있다. 따라서, 항원 결합 도메인이 이러한 상호작용을 최소화한, 제1 및 제2 비-자연 발생 CMER을 갖는 세포가 본원에 개시된다. 또한, 이러한 제1 및 제2 비-자연 발생 CMER을 코딩하는 핵산, 뿐만 아니라 이러한 세포 및 핵산의 제조 및 사용 방법이 본원에 개시된다. 한 실시양태에서, 상기 제1 상기 제2 비-자연 발생 CMER 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드를 포함한다.

[0134] 정의

[0135] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실시에서 및/또는 시험을 위해 사용될 수 있지만, 바람직한 물질 및 방법이 본원에 기재된다. 본 발명을 기재 및 청구하는데 있어서, 하기 용어는 정의된 바에 따라 사용될 것이고, 여기서 정의가 제공된다.

[0136] 또한, 본원에 사용된 용어는 단지 특정한 실시양태를 설명하는 목적을 위한 것이며, 제한하는 것을 의도하지는 않는 것으로 이해될 것이다.

[0137] 단수형은 본원에서 하나 또는 하나 초과 (즉, 적어도 하나)의 물품의 문법적 대상을 지칭하는 것으로 사용된다. 예로서, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 초과의 요소를 의미한다.

[0138] 본원에 사용된 "약"은, 측정가능한 값, 예컨대 양, 시간 기간 등을 언급하는 경우에 명시된 값으로부터 ±20%, 또는 ±10%, 일부 경우에 ±5%, 일부 경우에 ±1%, 및 일부 경우에 ±0.1%의 변동을 포괄하는 것으로 의도되고, 이는 이러한 변동이 개시된 방법의 수행에 적절하기 때문이다.

[0139] 본원에 사용된 용어 "어댑터 분자"는 2종 이상의 분자와의 상호작용을 가능하게 하는, 및 실시양태에서 세포독성 세포의 활성화 또는 불활성화를 촉진하는 서열을 갖는 폴리펩티드를 지칭한다. 예를 들어, DAP12의 경우에, 이는 막횡단 도메인 내의 전하 상호작용을 통한 활성화 KIR과의 상호작용 및 세포질 도메인 내의 인산화 ITAM 서열을 통한 ZAP70 또는 Syk와 같은 신호전달 분자와의 상호작용을 포함한다.

[0140] 본원에 사용된 용어 "항원" 또는 "Ag"는 면역 반응을 유발하는 분자를 정의한다. 이러한 면역 반응은 항체 생산, 또는 특이적 면역학적-적격 세포의 활성화, 또는 둘 다를 수반할 수 있다. 통상의 기술자는 실질적으로 모든 단백질 또는 펩티드를 포함한 임의의 거대분자가 항원으로서의 역할을 할 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 항원은 재조합 또는 게놈 DNA로부터 유래될 수 있다. 따라서, 통상의 기술자는 면역 반응을 도출하는 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 또는 부분적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 임의의 DNA가, 본원에 사용된 용어 "항원"을 코딩함을 이해할 것이다. 또한, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 항원이 유전자의 전장 뉴클레오티드 서열에 의해서만 코딩될 필요는 없음을 이해할 것이다. 본 발명은 1개 초과의 유전자의 부분적인 뉴클레오티드 서열의 사용을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니고, 이들 뉴클레오티드 서열은 목적하는 면역 반응을 도출하는 폴리펩티드를 코딩하기 위해 다양한 조합으로 배열됨이 분명하다. 또한, 통상의 기술자는 항원이 "유전자"에 의해 코딩될 필요가 전혀 없음을 이해할 것이다. 항원은 합성되어 생성될 수 있거나 또는 생물학적 샘플로부터 유래될 수 있음이 분명하다. 이러한 생물학적 샘플은 조직 샘플, 종양 샘플, 세포 또는 생물학적 유체를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0141] 본원에 사용된 용어 "항종양 효과"는, 종양 부피의 감소, 종양 세포의 수의 감소, 전이의 수의 감소, 기대 수명의 증가, 또는 암성 상태와 연관된 다양한 생리학적 증상의 호전에 의해 나타내질 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. "항종양 효과"는 또한 먼저 종양 발생의 예방에서 본 발명의 펩티드, 폴리뉴클레오티드, 세포 및 항체의 능력에 의해 나타내질 수 있다.

[0142] 본원에 사용된 용어 "분리반출술"은 공여자 또는 환자의 혈액을 공여자 또는 환자에서 제거하고, 선택된 특정한 구성성분(들)을 분리하는 장치를 통과시켜, 나머지를 예를 들어 재수혈에 의해 공여자 또는 환자의 순환으로 되

돌리는 체외 방법을 지칭한다. 따라서, 문맥상 "분리반출술 샘플"은 분리반출술을 사용하여 수득된 샘플을 지칭한다.

[0143] 용어 "자가-항원"은, 본 발명에 따르면, 면역계에 의해 그것이 외래인 것처럼 인식되는 임의의 자기-항원을 의미한다. 자가-항원은 세포 표면 수용체를 포함한 세포성 단백질, 인단백질, 세포 표면 단백질, 세포 지질, 핵산, 당단백질을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0144] 본원에 사용된 용어 "자가면역 질환"은 자가면역 반응으로부터 발생한 장애로 정의된다. 자가면역 질환은 자기-항원에 대한 부적절한 및 과잉 반응의 결과이다. 자가면역 질환의 예는 특히 애디슨병, 원형 탈모증, 강직성 척추염, 자가면역 간염, 자가면역 이하선염, 크론병, 당뇨병 (유형 I), 이영양 수포성 표피박리증, 부고환염, 사구체신염, 그레이브스병, 길랑-바레 증후군, 하시모토병, 용혈성 빈혈, 전신 홍반성 루푸스, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 심상성 천포창, 건선, 류마티스성 열, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 경피증, 쇼그렌 증후군, 척추관절병증, 갑상선염, 혈관염, 백반증, 점액수종, 악성 빈혈, 궤양성 결장염을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0145] 본원에 사용된 용어 "자가"는 이후 개체에게 재도입될, 동일한 개체로부터 유래된 임의의 물질을 지칭한다.

[0146] 본원에 사용된 용어 "동종"은 물질이 도입되는 개체와 동일한 종의 상이한 동물로부터 유래된 임의의 물질을 지칭한다. 2종 이상의 개체는 1개 이상의 유전자좌에서의 유전자가 동일하지 않을 때 서로 동종인 것으로 언급된다. 일부 측면에서, 동일한 종의 개체로부터의 동종 물질은 항원적으로 상호작용하기에 유전적으로 충분히 다를 수 있다. 한 실시양태에서, 동종은 동일한 종의 상이한 동물로부터 유래된 이식편을 지칭한다.

[0147] 본원에 사용된 용어 "키메라 항원 수용체" 또는 "CAR"은 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포로부터의 세포 면역-기능 수용체 또는 어댑터 분자와 구조적 및 기능적 특성을 공유하는 키메라 폴리펩티드를 지칭한다. CAR은 TCAR 및 NKR-CAR을 포함한다. 실시양태에서, CAR은 동족 항원, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 동족 항원에의 결합시, CAR은 그것이 배치된 세포독성 세포를 활성화 또는 불활성화할 수 있거나, 세포의 항종양 활성을 조정할 수 있거나, 달리 세포의 면역 반응을 조정할 수 있다.

[0148] 일부 실시양태에서, CAR 폴리펩티드 구축물 내의 도메인은 동일한 폴리펩티드 쇄 내에 있고, 예를 들어 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR 폴리펩티드 구축물 내의 도메인은 서로 인접하지 않고, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 RCAR에 제공된 바와 같이, 예를 들어 상이한 폴리펩티드 쇄 내에 있다.

[0149] 본원에 사용된 용어 "자연 킬러 세포 면역 기능 수용체 - 키메라 항원 수용체" 또는 "NKR-CAR"은 NK 세포로부터의 자연 킬러 세포 면역 기능 수용체 (NKR) 또는 어댑터 분자와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CAR을 지칭한다. 실시양태에서, NKR-CAR은 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 예를 들어 NKR 막횡단 도메인, 및/또는 세포질 도메인, 예를 들어 NKR 세포질 도메인 중 2개 또는 모두를 포함한다.

[0150] 본원에 사용된 용어 "Fc 수용체- 키메라 항원 수용체" 또는 "FcR-CAR"은 Fc 수용체 (FcR)와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CAR을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체- 키메라 항원 수용체" 또는 "KIR-CAR"은 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CAR을 지칭한다.

[0151] 본원에 사용된 용어 "Ly49 수용체- 키메라 항원 수용체" 또는 "Ly49-CAR"은 Ly49 수용체 (Ly49)와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CAR을 지칭한다.

[0152] 본원에 사용된 용어 "천연 세포독성 수용체- 키메라 항원 수용체" 또는 "NCR-CAR"은 천연 세포독성 수용체 (NCR)와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CAR을 지칭한다.

[0153] 본원에 사용된 용어 "신호전달 림프구 활성화 분자 패밀리- 키메라 항원 수용체" 또는 "SLAM-CAR", 또는 "SLAMF-CAR"은 SLAM 또는 SLAMF와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CAR을 지칭한다.

[0154] 본원에 사용된 용어 "T 세포 기반- 키메라 항원 수용체" 또는 "TCAR"은 T 세포로부터의 세포 면역-기능 수용체 또는 어댑터 분자와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CAR을 지칭한다. 실시양태에서, TCAR은 항원 도메인, 1차 세포내 신호전달 도메인, 및 임의로 1개 이상 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다.

[0155] 본원에 사용된 용어 "항체"는 표적 항원에 특이적으로 결합하는 이뮤노글로불린 분자로부터 유래된 단백질, 또는 폴리펩티드 서열을 지칭한다. 항체는 천연 공급원 또는 재조합 공급원으로부터 유래된 무손상 이뮤노글로불린일 수 있고, 무손상 이뮤노글로불린의 면역반응성 부분일 수 있다. 항체는 폴리클로날 또는 모노클로날, 다

중 또는 단일 쇄, 또는 무손상 이뮤노글로불린일 수 있고, 천연 공급원으로부터 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 항체는 전형적으로 이뮤노글로불린 분자의 사량체이다. 본원에 기재된 항체 분자는 다양한 형태로 존재할 수 있고, 여기서 항체의 항원 결합 부분은, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은, 예를 들어 단일 도메인 항체 단편 (sdAb)을 포함하는 인접 폴리펩티드 쇄, 단일 쇄 항체 (scFv) 및 인간화 또는 인간 항체의 일부로서 발현된다.

[0156] 용어 "항체 단편"은 무손상 항체 또는 그의 재조합 변이체의 적어도 한 부분를 지칭하고, 표적, 예컨대 항원에 대한 항체 단편의 인식 및 특이적 결합을 부여하는데 충분한 무손상 항체의 항원 결정 가변 영역을 지칭한다. 항체 단편의 예는 단일 쇄 도메인 항체 (sdAb), Fab, Fab', F(ab')2, 및 Fv 단편, 선형 항체, scFv 항체, scFv 항체 단편, 선형 항체, 단일 도메인 항체, 예컨대 sdAb (VL 또는 VH), 낙타류 VHH 도메인, 및 항체 단편, 예컨대 힌지 영역에서 디술피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체, 및 단리된 CDR 또는 항체의 다른 에피토프 결합 단편을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 항원 결합 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv 내에 혼입될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005] 참조). 항원 결합 단편은 또한, 피브로넥틴 유형 III (Fn3)과 같이, 폴리펩티드를 기반으로 하는 스캐폴드 내로 그라프팅될 수 있다 (피브로넥틴 폴리펩티드 미니바디를 기재한 미국 특허 번호 6,703,199 참조).

[0157] 용어 "scFv"는 경쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 1개의 항체 단편 및 중쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 1개의 항체 단편을 포함하는 융합 단백질을 지칭하며, 여기서 경쇄 및 중쇄 가변 영역은 짧은 가요성 폴리펩티드 링커를 통해 인접하여 연결되고, 단일 쇄 폴리펩티드로서 발현될 수 있고, 여기서 scFv는 그것이 유래된 무손상 항체의 특이성을 보유한다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 scFv는 VL 및 VH 가변 영역을 임의의 순서로 가질 수 있고, 예를 들어 폴리펩티드의 N-말단 및 C-말단 단부와 관련하여, scFv는 VL-링커-VH를 포함할 수 있거나 또는 VH-링커-VL을 포함할 수 있다.

[0158] 본원에 사용된 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 항원 특이성 및 결합 친화도를 부여하는 항체 가변 영역 내의 아미노산의 서열을 지칭한다. 예를 들어, 일반적으로, 각 중쇄 가변 영역 내에 3개의 CDR (예를 들어, HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3) 및 각 경쇄 가변 영역 내에 3개의 CDR (LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3)이 존재한다. 주어진 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌 [Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD ("카바트(Kabat)" 넘버링 스킴), Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948 ("코티아(Chothia)" 넘버링 스킴)]에 기재된 것을 포함한 널리 공지된 다수의 스킴 중 임의의 것 또는 그의 조합을 사용하여 결정될 수 있다. 카바트 넘버링 스킴 하에, 일부 실시양태에서, 중쇄 가변 도메인 (VH)에서의 CDR 아미노산 잔기는 31-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2) 및 95-102 (HCDR3)로 넘버링되고; 경쇄 가변 도메인 (VL)에서의 CDR 아미노산 잔기는 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2) 및 89-97 (LCDR3)로 넘버링된다. 코티아 넘버링 스킴 하에, 일부 실시양태에서, VH에서의 CDR 아미노산은 26-32 (HCDR1), 52-56 (HCDR2) 및 95-102 (HCDR3)로 넘버링되고; VL에서의 CDR 아미노산 잔기는 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) 및 91-96 (LCDR3)으로 넘버링된다. 조합된 카바트 및 코티아 넘버링 스킴에서, 일부 실시양태에서, CDR은 카바트 CDR, 코티아 CDR, 또는 둘 다의 일부인 아미노산 잔기에 상응된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, CDR은 VH, 예를 들어 포유동물 VH, 예를 들어 인간 VH에서 아미노산 잔기 26-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2), 및 95-102 (HCDR3)에 상응하고; VL, 예를 들어 포유동물 VL, 예를 들어 인간 VL에서 아미노산 잔기 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2), 및 89-97 (LCDR3)에 상응한다.

[0159] 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하는 본 발명의 CAR 조성물의 부분은, 항원 결합 도메인이 예를 들어 단일 도메인 항체 단편 (sdAb), 단일 쇄 항체 (scFv), 및 인간화 또는 인간 항체를 포함한 인접 폴리펩티드 쇄의 부분으로서 발현되는 다양한 형태로 존재할 수 있다 (Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242:423-426). 한 측면에서, 본 발명의 CAR 조성물의 항원 결합 도메인은 항체 단편을 포함한다. 추가 측면에서, CAR은 scFv를 포함하는 항체 단편을 포함한다.

[0160] 본원에 사용된 용어 "결합 도메인" 또는 "항체 분자" (본원에서 "항-표적 (예를 들어, 메소텔린) 결합 도메인"으로도 지칭됨)는 적어도 1개의 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 포함하는 단백질, 예를 들어 이뮤노글로불린 쇄 또는 그의 단편을 지칭한다. 용어 "결합 도메인" 또는 "항체 분자"는 항체 및 항체 단편을 포괄한다. 한 실시양태에서, 항체 분자는 다중특이적 항체 분자이고, 예를 들어 이는 복수개의 이뮤노글로불린 가변 도메

인 서열을 포함하며, 여기서 복수개 중 제1 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 제1 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖고, 복수개 중 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 제2 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖는다. 한 실시양태에서, 다중특이적 항체 분자는 이중특이적 항체 분자이다. 이중특이적 항체는 2개 이하의 항원에 대해 특이성을 갖는다. 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제1 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다.

[0161] 본원에 사용된 "항체 중쇄"는 그의 자연 발생 입체형태로 모든 항체 분자에 존재하는, 폴리펩티드 쇄의 2개의 유형 중 더 큰 것을 지칭한다.

[0162] 본원에 사용된 "항체 경쇄"는 그의 자연 발생 입체형태로 모든 항체 분자에 존재하는 폴리펩티드 쇄의 2개의 유형 중 더 작은 것을 지칭한다. κ 및 λ 경쇄는 2개의 주요 항체 경쇄 이소형을 지칭한다.

[0163] 본원에 사용된 용어 "합성 항체" 또는 "재조합 항체"는 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성된 항체 분자, 예컨대 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 박테리오파지에 의해 발현된 항체 분자를 지칭한다. 상기 용어는 또한 항체 분자를 코딩하는 DNA 분자의 합성에 의해 생성된 항체 분자를 의미하는 것으로 해석되어야 하고, DNA 분자는 항체 단백질, 또는 항체를 특정하는 아미노산 서열을 발현하며, 여기서 DNA 또는 아미노산 서열은 관련 기술분야에서 이용가능하고 널리 공지된 합성 DNA 또는 아미노산 서열 기술을 사용하여 수득된다.

[0164] 본원에 사용된 용어 "암"은 이상 세포의 신속 및 비제어 성장을 특징으로 하는 질환으로 정의된다. 암 세포는 국부로 또는 혈류 및 림프계를 통해 신체의 다른 부분으로 확산될 수 있다. 다양한 암의 예는 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 췌장암, 결장직장암, 신암, 간암, 뇌암, 림프종, 백혈병, 폐암, 신경교종 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 용어 "종양" 및 "암"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, 예를 들어 둘 다의 용어는 고형 및 액상, 예를 들어 미만성 또는 순환성 종양을 포괄한다. 본원에 사용된 용어 "암" 또는 "종양"은 전암성, 뿐만 아니라 악성 암 및 종양을 포함한다.

[0165] 용어 "조합물"은 하나의 투여 단위 형태의 고정 조합물, 또는 본 발명의 화합물과 조합 파트너 (예를 들어 하기 기재된 바와 같은 또 다른 약물, "치료제" 또는 "공동-작용제"로도 지칭됨)가 동시에 독립적으로, 또는 시간 간격 내에 개별적으로 (특히 이들 시간 간격이 조합 파트너가 협동 효과, 예를 들어 상승작용적 효과를 제시하도록 하는 경우) 투여될 수 있는 조합 투여를 지칭한다. 단일 성분은 키트 내에 또는 개별적으로 패키징될 수 있다. 성분 (예를 들어, 분말 또는 액체) 중 하나 또는 둘 다는 투여 전에 목적하는 용량으로 재구성되거나 희석될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "공-투여" 또는 "조합 투여" 등은 선택된 조합 파트너를 그를 필요로 하는 단일 대상체 (예를 들어 환자)에게 투여하는 것을 포괄하는 것으로 의도되고, 작용제들이 반드시 동일한 투여 경로에 의해 또는 동시에 투여되지는 않는 것인 치료 요법을 포함하는 것으로 의도된다. 본원에 사용된 용어 "제약 조합물"은, 1종 초과의 활성 성분의 혼합 또는 조합으로부터 생성된 생성물을 의미하고, 활성 성분의 고정 및 비-고정 조합물 둘 다를 포함한다. 용어 "고정 조합물"은 활성 성분, 예를 들어 본 발명의 화합물 및 조합 파트너가 둘 다 단일 엔티티 또는 투여 형태로 환자에게 동시에 투여되는 것을 의미한다. 용어 "비-고정 조합물"은 활성 성분, 예를 들어 본 발명의 화합물 및 조합 파트너가 둘 다 별개의 엔티티로서 동시에, 공동으로, 또는 특정 시간 제한을 두지 않고 순차적으로 환자에게 투여되는 것을 의미하며, 여기서 이러한 투여는 환자의 신체에서 2종의 화합물을 치료 유효 수준으로 제공한다. 후자는 또한 칵테일 요법, 예를 들어 3종 이상의 활성 성분의 투여에 적용된다.

[0166] 본원에 사용된 용어 "보존적 서열 변형"은 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특징에 유의한 영향을 미치거나 변경하지 않는 아미노산 변형을 지칭한다. 이러한 보존적 변형은 아미노산 치환, 부가 및 결실을 포함한다. 변형은 관련 기술분야에 공지된 표준 기술, 예컨대 부위-지정 돌연변이유발 및 PCR-매개 돌연변이유발에 의해 본 발명의 항체 내에 도입될 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 관련 기술분야에서 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 따라서, 예를 들어 본 발명의 항체의 CDR 영역 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있고, 변경된 항체는 본원에 기재된 기능적 검정을 사용하여 FRβ에 결합하는 능력에 대해 시험될 수 있다.

[0167] "구성적" 프로모터는, 유전자 산물을 코딩하거나 특정하는 폴리뉴클레오티드와 작동가능하게 연결된 경우에 유전자 산물이 세포의 대부분의 또는 모든 생리학적 조건 하에 세포에서 생산되도록 하는 뉴클레오티드 서열이다.

[0168] 어댑터 분자 및 신호전달 도메인에 적용되는 바와 같은 세포질 및 세포내는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.

[0169] 본원에 사용된 용어 "로부터 유래된"은 제1 및 제2 분자 사이의 관계를 나타낸다. 이는 일반적으로 제1 분자 및 제2 분자 사이의 구조적 유사성을 지칭하고, 제2 분자로부터 유래된 제1 분자에 대해 방법 또는 공급원 제한을 내포하거나 포함하지 않는다. 예를 들어, CD3제타 분자로부터 유래된 세포내 신호전달 도메인의 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 필요한 기능, 즉 적절한 조건 하에 신호를 생성하는 능력을 갖도록 충분한 CD3제타 구조를 보유한다. 이는 세포내 신호전달 도메인을 생성하는 특정한 방법에 대한 제한을 내포하거나 포함하지 않고, 예를 들어 세포내 신호전달 도메인을 제공하기 위해 반드시 CD3제타 서열로 출발하여, 원치않는 서열을 결실시키거나 또는 돌연변이를 부과하여 세포내 신호전달 도메인에 도달해야한다는 것을 의미하지 않는다.

[0170] 용어 "자극"은 자극 분자 (예를 들어, TCR/CD3 복합체)가 그의 동족 리간드와 결합하여 신호 전달 사건, 예컨대 비제한적으로 TCR/CD3 복합체를 통한 신호 전달을 매개함으로써 유도되는 1차 반응을 지칭한다. 자극은 특정 분자의 변경된 발현, 예컨대 TGF-β의 하향조절 및/또는 세포골격 구조의 재조직화 등을 매개할 수 있다.

[0171] 용어 "자극 분자"는 T 세포 신호전달 경로의 적어도 일부 측면에 대한 자극 방식에서 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절하는 1차 세포질 신호전달 서열(들)을 제공하는 T 세포에 의해 발현되는 분자를 지칭한다. 한 측면에서, 1차 신호는 예를 들어 펩티드로 로딩된 MHC 분자와 TCR/CD3 복합체의 결합에 의해 개시되고, 이것은 증식, 활성화, 분화 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 T 세포 반응의 매개로 이어진다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포질 신호전달 서열 ("1차 신호전달 도메인"으로도 지칭됨)은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호전달 모티프를 함유할 수 있다. 본 발명에서 특히 유용한 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"로도 공지됨), FcεRI, CD66d, DAP10, 및 DAP12로부터 유래된 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 특정 CAR에서, 본 발명의 임의의 1종 이상의 CAR 내의 세포내 신호전달 도메인은 세포내 신호전달 서열, 예를 들어 CD3-제타의 1차 신호전달 서열을 포함한다. 본 발명의 특정 CAR에서, CD3-제타의 1차 신호전달 서열은 서열식별번호: 9로서 제공된 서열, 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기이다. 본 발명의 특정 CAR에서, CD3-제타의 1차 신호전달 서열은 서열식별번호: 10에 제공된 서열, 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기이다.

[0172] 용어 "항원 제시 세포" 또는 "APC"는 그의 표면 상에 주요 조직적합성 복합체 (MHC)와 복합체화된 외래 항원을 디스플레이하는 면역계 세포, 예컨대 보조 세포 (예를 들어, B-세포, 수지상 세포 등)를 지칭한다. T-세포는 그의 T-세포 수용체 (TCR)를 사용하여 이들 복합체를 인식할 수 있다. APC는 항원을 프로세싱하고, 이를 T-세포에 제시한다.

[0173] 본원에 사용된 용어 "세포내 신호전달 도메인"은 분자의 세포내 부분을 지칭한다. 세포내 신호전달 도메인은 CAR 함유 세포, 예를 들어 CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포의 면역 이펙터 기능을 촉진하는 신호를 생성할 수 있다. 예를 들어 CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포에서 면역 이펙터 기능의 예는 시토카인의 분비를 포함한 세포용해 활성 및 헬퍼 활성을 포함한다. 실시양태에서, 세포내 신호 도메인은 이펙터 기능 신호를 전달하고, 세포가 전문화된 기능을 수행하도록 지시한다. 전체 세포내 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에서 전체 쇄를 사용할 필요는 없다. 세포내 신호전달 도메인의 말단절단된 부분이 사용되는 정도로, 이러한 말단절단된 부분은 이펙터 기능 신호를 전달하는 한 무손상 쇄 대신 사용될 수 있다. 용어 세포내 신호전달 도메인은 따라서 이펙터 기능 신호를 전달하는데 충분한 세포내 신호전달 도메인의 임의의 말단절단된 부분을 포함하는 것으로 의도된다.

[0174] 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 예시적인 1차 세포내 신호전달 도메인은 1차 자극, 또는 항원 의존성 자극을 담당하는 분자로부터 유래된 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 세포내 도메인을 포함할 수 있다. 예시적인 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 신호, 또는 항원 비의존성 자극을 담당하는 분자로부터 유래된 것을 포함한다. 예를 들어, CAR-발현 면역 이펙터 세포, 예를 들어 CART 세포 또는 CAR-발현 NK 세포의 경우에, 1차 세포내 신호전달 도메인은 T 세포 수용체의 세포질 서열을 포함할 수 있고, 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 보조-수

용체 또는 공동자극 분자로부터의 세포질 서열을 포함할 수 있다.

[0175] 1차 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호전달 모티프를 포함할 수 있다. 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 CD3 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"), FcεRI, CD66d, DAP10 및 DAP12로부터 유래된 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0176] 용어 "제타" 또는 대안적으로 "제타 쇄", "CD3-제타" 또는 "TCR-제타"는 진뱅크 수탁 번호 BAG36664.1로서 제공된 단백질 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기로서 정의되고, "제타 자극 도메인" 또는 대안적으로 "CD3-제타 자극 도메인" 또는 "TCR-제타 자극 도메인"은 T 세포 활성화를 위해 필요한 초기 신호를 기능적으로 전달하기에 충분한 제타 쇄의 세포질 도메인으로부터의 아미노산 잔기로서 정의된다. 한 측면에서, 제타의 세포질 도메인은 진뱅크 수탁 번호 BAG36664.1의 잔기 52 내지 164, 또는 그의 기능적 오르토로그인 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기를 포함한다. 한 측면에서, "제타 자극 도메인" 또는 "CD3-제타 자극 도메인"은 서열식별번호: 9로서 제공된 서열이다. 한 측면에서, "제타 자극 도메인" 또는 "CD3-제타 자극 도메인"은 서열식별번호: 10으로서 제공된 서열이다.

[0177] 용어 "공동자극 분자"는 공동자극 리간드에 특이적으로 결합하여, T 세포에 의한 공동자극 반응, 예컨대 비제한적으로 증식을 매개하는 T 세포 상의 동족 결합 파트너를 지칭한다. 공동자극 분자는 효율적인 면역 반응에 필요한 항원 수용체 이외의 다른 세포 표면 분자 또는 그의 리간드이다. 공동자극 분자는 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 이뮤노글로불린-유사 단백질, 시토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), 4-1BB (CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS (CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0178] 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 분자의 세포내 부분을 지칭한다.

[0179] 세포내 신호전달 도메인은 그것이 유래된 분자의 전체 세포내 부분, 또는 전체 천연 세포내 신호전달 도메인, 또는 그의 기능적 단편을 포함할 수 있다.

[0180] 용어 "4-1BB"는 진뱅크 수탁 번호 AAA62478.2로서 제공된 아미노산 서열, 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기를 갖는 TNFR 수퍼패밀리의 구성원을 지칭하고; "4-1BB 공동자극 도메인"은 진뱅크 수탁 번호 AAA62478.2의 아미노산 잔기 214-255, 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기로서 정의된다. 한 측면에서, "4-1BB 공동자극 도메인"은 서열식별번호: 7로서 제공된 서열 또는 비-인간 종, 예를 들어 마우스, 설치류, 원숭이, 유인원 등으로부터의 동등한 잔기이다.

[0181] 본원에 사용된 용어 "면역 이펙터 세포"는 면역 반응, 예를 들어 면역 이펙터 반응의 촉진에 수반되는 세포를 지칭한다. 면역 이펙터 세포의 예는 T 세포, 예를 들어 알파/베타 T 세포 및 감마/델타 T 세포, B 세포, 자연 킬러 (NK) 세포, 자연 킬러 T (NKT) 세포, 비만 세포 및 골수-유래 식세포를 포함한다.

[0182] 본원에 사용된 용어 "면역 이펙터 기능 또는 면역 이펙터 반응"은, 예를 들어 표적 세포의 면역 공격을 증진시키거나 촉진하는 면역 이펙터 세포의 기능 또는 반응을 지칭한다. 예를 들어, 면역 이펙터 기능 또는 반응은 표적 세포의 사멸, 또는 성장 또는 증식의 억제를 촉진하는 T 또는 NK 세포의 특성을 지칭한다. T 세포의 경우에, 1차 자극 및 공동자극은 면역 이펙터 기능 또는 반응의 예이다.

[0183] 용어 "이펙터 기능"은 세포의 전문화된 기능을 지칭한다. T 세포의 이펙터 기능은, 예를 들어 시토카인의 분비를 포함한 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다.

[0184] 용어 "코딩하는"은 뉴클레오티드 (즉, rRNA, tRNA 및 mRNA)의 규정된 서열 또는 아미노산의 규정된 서열 및 그로부터 생성된 생물학적 특성을 갖는, 생물학적 과정에서 다른 중합체 및 거대분자의 합성을 위한 주형으로서

기능하는 폴리뉴클레오티드, 예컨대 유전자, cDNA, 또는 mRNA 내의 뉴클레오티드의 특정 서열의 고유한 특성을 지칭한다. 따라서, 유전자는 그러한 유전자에 상응하는 mRNA의 전사 및 번역이 세포 또는 다른 생물학적 시스템에서 단백질을 생산할 경우에 단백질을 코딩한다. 그의 뉴클레오티드 서열이 mRNA 서열과 동일하고 통상적으로 서열 목록에서 제공되는 코딩 가닥, 및 유전자 또는 cDNA의 전사를 위한 주형으로 사용되는 비-코딩 가닥 둘 다는 그러한 유전자 또는 cDNA의 단백질 또는 다른 산물을 코딩하는 것으로서 지칭될 수 있다.

[0185] 달리 명시되지 않는 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열"은, 서로 축중성 버전이고 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 모든 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 단백질 또는 RNA를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 인트론을 포함할 수 있다.

[0186] 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 본원에 기재된 바와 같이 특정한 생물학적 결과를 달성하는데 유효한 화합물, 제제, 물질, 또는 조성물의 양을 지칭한다. 이러한 결과는 관련 기술분야에서 적합한 임의의 수단에 의해 결정된 바와 같은 바이러스 감염의 억제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0187] 본원에 사용된 "내인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템으로부터의, 또는 그 내부에서 생산된 임의의 물질을 지칭한다.

[0188] 본원에 사용된 용어 "외인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템의 외부로부터 도입되거나 외부에서 생산된 임의의 물질을 지칭한다.

[0189] 본원에 사용된 용어 "발현"은 그의 프로모터에 의해 가동된 특정한 뉴클레오티드 서열의 전사 및/또는 번역으로서 정의된다.

[0190] 용어 "발현"은 프로모터에 의해 유도되는 특정한 뉴클레오티드 서열의 전사 및/또는 번역을 지칭한다.

[0191] 용어 "전달 벡터"는 단리된 핵산을 포함하고 단리된 핵산을 세포의 내부에 전달하기 위해 사용될 수 있는 물질의 조성물을 지칭한다. 선형 폴리뉴클레오티드, 이온성 또는 친양쪽성 화합물과 회합된 폴리뉴클레오티드, 플라스미드, 및 바이러스를 포함하나 이에 제한되지는 않는 수많은 벡터가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 따라서, 용어 "전달 벡터"는 자율 복제 플라스미드 또는 바이러스를 포함한다. 상기 용어는 또한 핵산의 세포 내로의 전달을 용이하게 하는 비-플라스미드 및 비-바이러스 화합물, 예컨대 예를 들어 폴리리신 화합물, 리포솜 등을 추가로 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 바이러스 전달 벡터의 예는 아데노바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0192] "발현 벡터"는 발현시킬 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현 제어 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 지칭한다. 발현 벡터는 발현을 위한 충분한 시스-작용 요소를 포함하고; 발현을 위한 다른 요소는 숙주 세포에 의해 또는 시험관내 발현 시스템에서 공급될 수 있다. 발현 벡터는 재조합 폴리뉴클레오티드를 포함하는 코스미드, 플라스미드 (예를 들어, 네이키드이거나 또는 리포솜 내에 포함됨) 및 바이러스 (예를 들어, 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 및 아데노-연관 바이러스)와 같은 관련 기술분야에 공지된 모든 것을 포함한다.

[0193] 본원에 사용된 용어 "벡터"는 핵산 분자를 전달하고/거나 발현하는데 사용될 수 있는 임의의 비히클을 지칭한다. 이는 본원에 기재된 바와 같은 전달 벡터 또는 발현 벡터일 수 있다.

[0194] 본원에 사용된 용어 "상동성" 또는 "동일성"은 2개의 중합체 분자 사이, 예를 들어 2개의 핵산 분자, 예컨대, 2개의 DNA 분자 또는 2개의 RNA 분자 사이, 또는 2개의 폴리펩티드 분자 사이의 서브유닛 서열 동일성을 지칭한다. 2개의 분자 둘 다 내의 서브유닛 위치가 동일한 단량체 서브유닛에 의해 점유된 경우; 예를 들어, 각각의 2개의 DNA 분자 내의 위치가 아데닌에 의해 점유된 경우에, 이들은 그 위치에서 상동이다. 2개의 서열 사이의 상동성은 매칭되는 또는 상동성 위치의 수의 직접적인 함수이고; 예를 들어, 2개의 서열 내의 위치의 절반 (예를 들어, 중합체 10개 서브유닛 길이 내의 5개의 위치)이 상동성일 경우에, 2개의 서열은 50% 상동성이고; 90%의 위치 (예를 들어, 10개 중 9개)가 매칭되거나 상동성일 경우에, 2개의 서열은 90% 상동성이다.

[0195] 비-인간 (예를 들어, 뮤린) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린 쇄 또는 그의 단편 (예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')2 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열)이다. 대개, 인간화 항체는 수용자의 상보성-결정 영역 (CDR)으로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화도, 및 능력을 갖는 비-인간 종 (공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기로 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워

크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체에서도, 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도, 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 추가로 정밀화하고 최적화하도록 이루어진다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나의, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 그것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 서열의 그것이다. 인간화 항체는 또한 최적으로 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 그것을 포함할 것이다. 추가의 세부사항에 대해서는, 문헌 [Jones et al., Nature, 321: 522-525, 1986; Reichmann et al., Nature, 332: 323-329, 1988; Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596, 1992]을 참조한다.

[0196] "완전 인간"은 전체 분자가 인간 기원이거나 또는 항체 또는 이뮤노글로불린의 인간 형태와 동일한 아미노산 서열로 이루어진 이뮤노글로불린, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.

[0197] 본원에 사용된 "지침서"는 본 발명의 조성물 및 방법의 유용성을 알리기 위해 사용될 수 있는 간행물, 기록물, 다이어그램, 또는 임의의 다른 표현 매체를 포함한다. 본 발명의 키트의 지침서는, 예를 들어 본 발명의 핵산, 펩티드, 및/또는 조성물이 담긴 용기에 부착될 수 있거나 핵산, 펩티드, 및/또는 조성물이 담긴 용기와 함께 운송될 수 있다. 대안적으로, 지침서는 지침서 및 화합물이 수용자에 의해 협동적으로 사용되게 할 의도로 용기와 개별적으로 운송될 수 있다.

[0198] 용어 "단리된"은 천연 상태로부터 변경되거나 제거됨을 의미한다. 예를 들어, 살아있는 동물에 천연적으로 존재하는 핵산 또는 펩티드는 "단리된" 것이 아니지만, 그의 천연 상태의 공존하는 물질로부터 부분적으로 또는 완전히 분리된 동일한 핵산 또는 펩티드는 "단리된" 것이다. 단리된 핵산 또는 단백질은 실질적으로 정제된 형태로 존재할 수 있거나, 예를 들어 숙주 세포와 같은 비-천연 환경에 존재할 수 있다.

[0199] 본 발명의 문맥에서, 통상적으로 발생하는 핵산 염기에 대해 하기 약어가 사용된다. "A"는 아데노신을 지칭하고, "C"는 시토신을 지칭하고, "G"는 구아노신을 지칭하고, "T"는 티미딘을 지칭하고, "U"는 우리딘을 지칭한다.

[0200] 달리 명시되지 않는 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열"은, 서로 축중성 버전이고 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 모든 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 어구 단백질 또는 RNA를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 또한 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 일부 버전에서 인트론(들)을 함유할 수 있는 정도로 인트론을 포함할 수 있다.

[0201] 본원에 사용된 "렌티바이러스"는 레트로비리다에(Retroviridae) 패밀리의 속을 지칭한다. 렌티바이러스는 비-분열 세포를 감염시킬 수 있다는 점에서 레트로바이러스 중에서 특유한 것이고; 유의한 양의 유전자 정보를 숙주 세포의 DNA 내로 전달할 수 있고, 따라서 유전자 전달 벡터의 가장 효율적인 방법 중 하나이다. HIV, SIV, 및 FIV가 렌티바이러스의 모든 예이다. 렌티바이러스로부터 유래된 벡터는 유의한 수준의 생체내 유전자 전달을 달성하기 위한 수단을 제공한다.

[0202] 용어 "렌티바이러스 벡터"는 특히 문헌 [Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)]에서 제공되는 바와 같은 자기-불활성화 렌티바이러스 벡터를 포함한, 렌티바이러스 게놈의 적어도 일부로부터 유래된 벡터를 지칭한다. 임상에서 사용될 수 있는 렌티바이러스 벡터의 다른 예는, 예를 들어 옥스포드 바이오메디카(Oxford BioMedica)로부터의 렌티벡터(LENTIVECTOR)® 유전자 전달 기술, 렌티겐(Lentigen)으로부터의 렌티맥스(LENTIMAX)™ 벡터 시스템 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 비임상 유형의 렌티바이러스 벡터가 또한 이용가능하고, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있을 것이다.

[0203] scFv와 관련하여 사용된 용어 "가요성 폴리펩티드 링커" 또는 "링커"는 가변 중쇄 및 가변 경쇄 영역을 함께 연결하기 위해 단독으로 또는 조합되어 사용되는 아미노산, 예컨대 글리신 및/또는 세린 잔기로 이루어진 펩티드 링커를 지칭한다. 한 실시양태에서, 가요성 폴리펩티드 링커는 Gly/Ser 링커이고, 아미노산 서열 (Gly-Gly-Gly-Ser)n (서열식별번호: 38)을 포함하며, 여기서 n은 1 이상의 양의 정수이다. 예를 들어, n=1, n=2, n=3, n=4, n=5 및 n=6, n=7, n=8, n=9 및 n=10이다. 한 실시양태에서, 가요성 폴리펩티드 링커는 (Gly4 Ser)4 (서열식별번호: 27) 또는 (Gly4 Ser)3 (서열식별번호: 28)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 또 다른 실시양태에서, 링커는 (Gly2Ser), (GlySer) 또는 (Gly3Ser) (서열식별번호: 29)의 다중 반복부를 포함한다. 또한, 본원에 참조로 포함되는 WO2012/138475에 기재된 링커가 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0204] 본원에 사용된 용어 "NK 세포 면역-기능 수용체" 또는 "NKR"은 NK 세포에서 발현된 내인성 자연 발생 막횡단 단백질을 지칭하고, 이는 항원 제시 세포 상의 리간드와 연관될 수 있고 NK 세포 면역-기능 반응을 조정할 수 있

으며, 예를 들어 이는 NK 세포의 세포용해 활성 또는 시토카인 분비를 조정할 수 있다. NKR은 활성화 (활성화 NKR, 또는 actNKR), 또는 억제 (억제 NKR, 또는 inhNKR)에 기여할 수 있다. 전형적으로, NKR은 세포외 리간드-결합 도메인 (ECD), 막횡단 도메인 (TM) 및 세포내 세포질 도메인 (ICD)을 포함한다. NKR은 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR) 패밀리의 수용체, 예컨대 KIR2DS2, NK 세포 수용체 (NCR) 수용체 패밀리의 수용체, 예컨대 NKp46 (NCR1), 신호전달 림프구 활성화 수용체 (SLAM) 패밀리 (SLAMF)의 수용체, 예컨대 2B4, 및 Fc-결합 수용체, 예컨대 IgG-결합 수용체, CD16 (FcγRIII)을 포함한다. NKR에 의해 매개되는 NK 세포 면역-기능 반응의 예는 표적 세포 사멸 (종종 세포독성 또는 세포용해로 지칭됨), 시토카인 분비 및/또는 증식을 포함한다. 전형적으로, 본원에 기재된 방법 및 조성물에 사용하기에 적합한 NKR은 인간 NKR (또는 hNKR)이다. 한 실시양태에서, 뮤린 NK 및 T 세포에서의 KIR과 동일한 기능을 제공하는 수렴 진화에 의해 발생한 무스 무스쿨루스에서의 Ly49 수용체 패밀리가 또한 포함된다.

[0205] 용어 "작동가능하게 연결된"은 조절 서열과 이종 핵산 서열 사이의 기능적 연결을 지칭하며, 후자의 발현을 발생시킨다. 예를 들어, 제1 핵산 서열은 제1 핵산 서열이 제2 핵산 서열과 기능적 관계로 위치하는 경우에 제2 핵산 서열과 작동가능하게 연결된 것이다. 예를 들어, 프로모터는 프로모터가 코딩 서열의 전사 또는 발현에 영향을 미치는 경우에 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 것이다. 일반적으로, 작동가능하게 연결된 DNA 서열은 인접하고, 2개의 단백질 코딩 영역을 연결하기 위해 필요한 경우에, 동일한 리딩 프레임 내에 있다.

[0206] 면역원성 조성물의 "비경구" 투여는, 예를 들어 피하 (s.c.), 정맥내 (i.v.), 근육내 (i.m.), 또는 흉골내 주사 또는 주입 기술을 포함한다.

[0207] 본원에서 상호교환가능하게 사용되는 용어 "핵산", 핵산 분자", 또는 "폴리뉴클레오티드"는 뉴클레오티드의 쇄로서 정의된다. 또한, 핵산은 뉴클레오티드의 중합체이다. 따라서, 본원에 사용된 핵산 및 폴리뉴클레오티드는 상호교환가능하다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 핵산이 폴리뉴클레오티드이고, 이는 단량체 "뉴클레오티드"로 가수분해될 수 있다는 일반적 지식을 갖고 있다. 단량체 뉴클레오티드는 뉴클레오시드로 가수분해될 수 있다. 본원에 사용된 폴리뉴클레오티드는, 제한 없이 재조합 수단, 즉 통상적인 클로닝 기술 및 PCR™ 등을 사용한 재조합 라이브러리 또는 세포 게놈으로부터의 핵산 서열의 클로닝, 및 합성 수단에 의한 것을 포함한, 관련 기술분야에서 이용가능한 임의의 수단에 의해 수득되는 모든 핵산 서열을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 실시양태에서, 본원의 핵산은 데옥시리보핵산 (DNA) 또는 리보핵산 (RNA), 또는 그의 DNA 또는 RNA의 조합, 및 단일- 또는 이중-가닥 형태로의 그의 중합체를 지칭한다. 용어 "핵산"은 유전자, cDNA 또는 mRNA를 포함한다. 한 실시양태에서, 핵산 분자는 합성 (예를 들어, 화학적으로 합성됨) 또는 재조합이다. 구체적으로 제한되지 않는 한, 이 용어는 참조 핵산과 유사한 결합 특성을 갖고 자연 발생 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는 천연 뉴클레오티드의 유사체 또는 유도체를 함유하는 핵산을 포괄한다. 달리 나타내지 않는 한, 특정한 핵산 서열은 또한 명확하게 나타낸 서열 뿐만 아니라 그의 보존적으로 변형된 변이체 (예를 들어, 축중성 코돈 치환), 대립유전자, 오르토로그, SNP, 및 상보적 서열을 함축적으로 포괄한다. 구체적으로, 축중성 코돈 치환은 1개 이상의 선택된 (또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다 (Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); 및 Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)).

[0208] 본원에 사용된 용어 "펩티드", "폴리펩티드", 및 "단백질"은 상호교환가능하게 사용되고, 펩티드 결합에 의해 공유 연결된 아미노산 잔기를 포함하는 화합물을 지칭한다. 단백질 또는 펩티드는 적어도 2개의 아미노산을 함유하여야 하고, 단백질 또는 펩티드 서열을 구성할 수 있는 아미노산의 최대 수에 대한 제한은 존재하지 않는다. 폴리펩티드는 펩티드 결합에 의해 서로 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 임의의 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 본원에 사용된 상기 용어는 관련 기술분야에서 예를 들어 펩티드, 올리고펩티드 및 올리고머로도 통상적으로 지칭되는 짧은 쇄, 및 많은 종류가 존재하는, 일반적으로 관련 기술분야에서 단백질로 지칭되는 더 긴 쇄 둘 다를 지칭한다. "폴리펩티드"는 특히, 예를 들어 생물학적 활성 단편, 실질적으로 상동성 폴리펩티드, 올리고펩티드, 동종이량체, 이종이량체, 폴리펩티드의 변이체, 변형된 폴리펩티드, 유도체, 유사체, 융합 단백질을 포함한다. 폴리펩티드는 천연 펩티드, 재조합 펩티드, 합성 펩티드, 또는 그의 조합을 포함한다.

[0209] 본원에 사용된 용어 "프로모터"는 폴리뉴클레오티드 서열의 특이적 전사를 개시하는데 필요한, 세포의 합성 기구 또는 도입된 합성 기구에 의해 인식되는 DNA 서열로 정의된다.

[0210] 본원에 사용된 용어 "프로모터/조절 서열"은 프로모터/조절 서열에 작동가능하게 연결된 유전자 산물의 발현을 위해 필요한 핵산 서열을 의미한다. 일부 경우에, 이 서열은 코어 프로모터 서열일 수 있고, 다른 예에서 이

서열은 또한 인핸서 서열, 및 유전자 산물의 발현을 위해 필요한 다른 조절 요소를 포함할 수 있다. 프로모터/조절 서열은 예를 들어 조직 특이적 방식으로 유전자 산물을 발현하는 것일 수 있다.

[0211] "유도성" 프로모터는, 유전자 산물을 코딩하거나 특정하는 폴리뉴클레오티드와 작동가능하게 연결된 경우에 실질적으로 프로모터에 상응하는 유도인자가 세포에 존재할 때에만 유전자 산물이 세포에서 생산되도록 하는 뉴클레오티드 서열이다.

[0212] "조직-특이적" 프로모터는, 유전자에 의해 코딩되거나 특정되는 폴리뉴클레오티드와 작동가능하게 연결된 경우에 실질적으로 세포가 조직 유형의 세포인 경우에만 유전자 산물이 세포에서 생산되도록 하는 뉴클레오티드 서열이다.

[0213] "신호 전달 경로"는 신호를 세포의 한 부분으로부터 세포의 또 다른 부분으로의 전달에 소정의 역할을 하는 다양한 신호 전달 분자 사이의 생화학적 관계를 지칭한다. 어구 "세포 표면 수용체"는 신호를 수신하고 세포막을 가로질러 신호를 전달할 수 있는 분자 및 분자의 복합체를 포함한다.

[0214] 용어 "대상체"는 면역 반응이 도출될 수 있는 살아있는 유기체 (예를 들어, 포유동물)를 포함하는 것으로 의도된다.

[0215] 본원에 사용된 "실질적으로 정제된" 세포는 다른 세포 유형이 본질적으로 없는 세포이다. 실질적으로 정제된 세포는 또한 그의 자연 발생 상태에서 정상적으로 회합되어 있는 다른 세포 유형으로부터 분리된 세포를 지칭한다. 일부 경우에, 실질적으로 정제된 세포의 집단은 균질한 세포 집단을 지칭한다. 다른 경우에, 이 용어는 단순히 그의 천연 상태에서 자연적으로 회합되어 있는 세포로부터 분리된 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 세포는 시험관내에서 배양된다. 다른 실시양태에서, 세포는 시험관내에서 배양되지 않는다.

[0216] 본원에 사용된 5' 캡 (RNA 캡, RNA 7-메틸구아노신 캡 또는 RNA m^7G 캡으로도 불림)은 전사 개시 직후에 진핵 메신저 RNA의 "전면" 또는 5' 말단에 부가된 변형된 구아닌 뉴클레오티드이다. 5' 캡은 제1 전사되는 뉴클레오티드에 연결된 말단 기로 이루어진다. 그의 존재는 리보솜에 의한 인식 및 RNase로부터의 보호를 위해 중요하다. 캡 부가는 전사와 커플링되고, 각각 서로 영향을 미치도록 공동-전사 방식으로 발생한다. 전사 개시 직후에, 합성 중인 mRNA의 5' 말단은 RNA 폴리머라제와 회합된 캡-합성 복합체에 의해 결합된다. 이러한 효소 복합체는 mRNA 캡핑에 필요한 화학 반응을 촉매한다. 합성은 다단계 생화학적 반응으로서 진행된다. 캡핑 모이어티는 mRNA의 기능성, 예컨대 그의 안정성 또는 번역 효율을 조정하도록 변형될 수 있다.

[0217] 본원에 사용된 "시험관내 전사된 RNA"는 시험관내에서 합성된 RNA, 바람직하게는 mRNA를 지칭한다. 일반적으로, 시험관내 전사된 RNA는 시험관내 전사 벡터로부터 생성된다. 시험관내 전사 벡터는 시험관내 전사된 RNA를 생성하기 위해 사용되는 주형을 포함한다.

[0218] 본원에 사용된 "폴리(A)"는 폴리아데닐화에 의해 mRNA에 부착된 일련의 아데노신이다. 일시적 발현을 위한 구축물의 바람직한 실시양태에서, 폴리A는 50 내지 5000개 (서열식별번호: 30), 바람직하게는 64개 초과, 보다 바람직하게는 100개 초과, 가장 바람직하게는 300 또는 400개 초과이다. 폴리(A) 서열은 mRNA 기능성, 예컨대 국재화, 안정성 또는 번역 효율을 조정하기 위해 화학적으로 또는 효소적으로 변형될 수 있다.

[0219] 본원에 사용된 "폴리아데닐화"는 폴리아데닐릴 모이어티, 또는 그의 변형된 변이체의 메신저 RNA 분자에 대한 공유 연결을 지칭한다. 진핵 유기체 내에서, 대부분의 메신저 RNA (mRNA) 분자는 3' 말단에서 폴리아데닐화된다. 3' 폴리(A) 테일은 효소, 폴리아데닐레이트 폴리머라제의 작용을 통해 프리-mRNA에 부가된 아데닌 뉴클레오티드 (종종 수백 개)의 긴 서열이다. 고등 진핵생물에서, 폴리(A) 테일은 특정 서열, 폴리아데닐화 신호를 함유하는 전사체 상에 부가된다. 폴리(A) 테일 및 그에 결합된 단백질은 mRNA를 엑소뉴클레아제에 의한 분해로부터 보호하는 것을 돕는다. 폴리아데닐화는 또한 전사 종결, mRNA의 핵으로부터의 유출, 및 번역에 중요하다. 폴리아데닐화는 DNA의 RNA로의 전사 직후에 핵에서 일어나지만, 추가로 세포질에서 추후 일어날 수도 있다. 전사가 종결된 후에, mRNA 쇄는 RNA 폴리머라제와 연관된 엔도뉴클레아제 복합체의 작용을 통해 절단된다. 절단 부위는 통상적으로 절단 부위 근처의 염기 서열 AAUAAA의 존재를 특징으로 한다. mRNA가 절단된 후에, 아데노신 잔기는 절단 부위의 자유 3' 말단에 부가된다.

[0220] 본원에 사용된 "일시적"은 수시간, 수일 또는 수주의 기간 동안의 비-통합된 트랜스진의 발현을 지칭하고, 여기서 발현 기간은 게놈 내로 통합되거나 숙주 세포 내의 안정한 플라스미드 레플리콘 내에 함유된 경우에 유전자의 발현을 위한 시간 미만이다.

[0221] 본원에 사용된 용어 "치유"는 치료 및/또는 예방을 의미한다. 치유 효과는 질환 상태의 억제, 완화 또는 근절

에 의해 수득된다.

[0222] 본원에 사용된 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"은 외인성 핵산이 숙주 세포 내로 전달되거나 도입되는 과정을 지칭한다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 세포는 외인성 핵산으로 형질감염된, 형질전환된 또는 형질도입된 바 있는 세포이다. 세포는 1차 대상체 세포 및 그의 자손을 포함한다.

[0223] 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 1종 이상의 요법 (예를 들어, 1종 이상의 치료제, 예컨대 본 발명의 CAR)의 투여로부터 생성된 증식성 장애의 진행, 중증도 및/또는 지속기간의 감소 또는 호전, 또는 증식성 장애의 1종 이상의 증상 (바람직하게는, 1종 이상의 식별식별가능한 증상)의 호전을 지칭한다. 구체적 실시양태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 환자에 의해 반드시 식별가능하지 않을 수 있는 증식성 장애의 적어도 하나의 측정가능한 물리적 파라미터, 예컨대 종양의 성장의 호전을 지칭한다. 다른 실시양태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은, 예를 들어 식별가능한 증상의 안정화에 의해 물리적으로, 예를 들어 물리적 파라미터의 안정화에 의해 생리학적으로, 또는 둘 다로의 증식성 장애의 진행의 억제를 지칭한다. 다른 실시양태에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 종양 크기 또는 암성 세포 카운트의 감소 또는 안정화를 지칭한다.

[0224] 본원에 사용된 용어 "예방"은 질환 또는 질환 상태의 방지 또는 보호적 치료를 의미한다.

[0225] 본원에 사용된 용어 "종양 항원"은 전체로 또는 단편 (예를 들어, MHC/펩티드)으로서 암 또는 종양 세포의 표면 상에서 발현되고 약리학적 작용제의 암 또는 종양 세포에 대한 우선적인 표적화에 유용한 분자 (전형적으로 단백질, 탄수화물 또는 지질)를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 종양 항원은 정상 세포 및 암 세포 둘 다에 의해 발현되는 마커, 예를 들어 계열 마커, 예를 들어 B 세포 상의 CD19 또는 CD123이다. 일부 실시양태에서, 종양 항원은 정상 세포와 비교하여 암 세포에서 과다발현, 예를 들어 정상 세포와 비교하여 1-배 과다 발현, 2-배 과다 발현, 3-배 과다 발현 또는 그 초과로 과다발현되는 세포 표면 분자이다. 일부 실시양태에서, 종양 항원은 암 세포에서 부적절하게 합성된 세포 표면 분자, 예를 들어 정상 세포 상에서 발현되는 분자와 비교하여 결실, 부가 또는 돌연변이를 함유하는 분자이다. 일부 실시양태에서, 종양 항원은 전체로 또는 단편 (예를 들어, MHC/펩티드)으로서 암 세포의 세포 표면에서 독점적으로 발현되고 정상 세포의 표면에서는 합성되거나 발현되지 않을 것이다.

[0226] 일부 실시양태에서, 본 발명의 CAR은 MHC 제시 펩티드에 결합하는 항원 결합 도메인 (예를 들어, 항체 또는 항체 단편)을 포함하는 CAR을 포함한다. 통상적으로는, 내인성 단백질로부터 유래된 펩티드는 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 부류 I 분자의 포켓을 채우고, CD8+ T 림프구 상의 T 세포 수용체 (TCR)에 의해 인식된다. MHC 부류 I 복합체는 모든 유핵 세포에서 구성적으로 발현된다. 암에서, 바이러스-특이적 및/또는 종양-특이적 펩티드/MHC 복합체는 면역요법을 위한 세포 표면 표적의 고유한 부류를 제시한다. 인간 백혈구 항원 (HLA)-A1 또는 HLA-A2와 관련하여 바이러스 또는 종양 항원으로부터 유래된 TCR-유사 항체 표적화 펩티드가 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Sastry et al., J Virol. 2011 85(5):1935-1942; Sergeeva et al., Blood, 2011 117(16):4262-4272; Verma et al., J Immunol 2010 184(4):2156-2165; Willemsen et al., Gene Ther 2001 8(21):1601-1608 ; Dao et al., Sci Transl Med 2013 5(176):176ra33; Tassev et al., Cancer Gene Ther 2012 19(2):84-100] 참조). 예를 들어, TCR-유사 항체는 라이브러리, 예컨대 인간 scFv 파지 디스플레이된 라이브러리의 스크리닝으로부터 확인될 수 있다.

[0227] 본원에 사용된 어구 "전사 제어 하" 또는 "작동가능하게 연결된"은 프로모터가 RNA 폴리머라제에 의한 전사 및 폴리뉴클레오티드의 발현의 개시를 제어하기 위해 폴리뉴클레오티드와 관련하여 정확한 위치 및 배향으로 존재하는 것을 의미한다.

[0228] "벡터"는 단리된 핵산을 포함하며 단리된 핵산을 세포의 내부에 전달하는데 사용될 수 있는 물질의 조성물이다. 선형 폴리뉴클레오티드, 이온성 또는 친양쪽성 화합물과 회합된 폴리뉴클레오티드, 플라스미드, 및 바이러스를 포함하나 이에 제한되지는 않는 수많은 벡터가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 따라서, 용어 "벡터"는 자율 복제 플라스미드 또는 바이러스를 포함한다. 또한 상기 용어는 예를 들어 폴리리신 화합물, 리포솜 등과 같이 세포 내로의 핵산의 전달을 용이하게 하는 비-플라스미드 및 비-바이러스 화합물을 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 바이러스 벡터의 예는 아데노바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0229] 본원에 사용된 용어 "특이적으로 결합한다"는 항체 또는 리간드가 샘플 중에 존재하는 동족 결합 파트너 단백질

은 인식 및 결합하지만 항체 또는 리간드가 샘플 중의 다른 분자는 실질적으로 인식 또는 결합하지 않는 것을 의미한다.

[0230] 용어 "자극"은 자극 분자의 그의 동족 리간드와의 결합에 의해 유도되는 1차 반응을 의미하고, 그에 의해 비제한적으로 적절한 NK 수용체를 통한 신호 전달과 같은 신호 전달 사건이 매개된다.

[0231] "이종"은 상이한 종의 동물로부터 유래된 이식편을 지칭한다.

[0232] 용어 "특이적으로 결합한다"는 샘플 내에 존재하는 동족 결합 파트너 (예를 들어, T 세포 상에 제시된 자극 및/또는 공동자극 분자) 단백질을 인식하고 결합하지만 샘플 내의 다른 분자는 실질적으로 인식하거나 결합하지 않는 항체 또는 리간드를 지칭한다.

[0233] 본원에 사용된 "조절성 키메라 항원 수용체 (RCAR)"는 면역 이펙터 세포에서의 경우에 세포에게 표적 세포, 전형적으로 암 세포에 대한 특이성 및 조절성 세포내 신호 생성을 제공하는, 가장 단순한 실시양태에서 전형적으로 2개의, 폴리펩티드의 세트를 지칭한다. 일부 실시양태에서, RCAR은 적어도 세포외 항원 결합 도메인, 막횡단, 및 CAR 분자와 관련하여 본원에 정의된 바와 같은 자극 분자 및/또는 공동자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 신호전달 도메인 (본원에서 "세포내 신호전달 도메인"으로도 지칭됨)을 포함한다. 일부 실시양태에서, RCAR에서 폴리펩티드의 세트는 서로 인접해있지 않고, 예를 들어 상이한 폴리펩티드 쇄 내에 있다. 일부 실시양태에서, RCAR은 이량체화 분자의 존재 시 폴리펩티드를 서로 커플링시킬 수 있는, 예를 들어 항원 결합 도메인을 세포내 신호전달 도메인에 커플링시킬 수 있는 이량체화 스위치를 포함한다. 일부 실시양태에서, RCAR은 본원에 기재된 바와 같은 세포 (예를 들어, 면역 이펙터 세포), 예를 들어 RCAR-발현 세포 (본원에서 "RCARX 세포"로도 지칭됨)에서 발현된다. 한 실시양태에서 RCARX 세포는 T 세포이고, RCART 세포로 지칭된다. 한 실시양태에서, RCARX 세포는 NK 세포이고, RCARN 세포로 지칭된다. RCAR은 RCAR-발현 세포에게 표적 세포, 전형적으로 암 세포에 대한 특이성, 및 조절성 세포내 신호 생성 또는 증식을 제공할 수 있고, 이는 RCAR-발현 세포의 면역 이펙터 특성을 최적화할 수 있다. 실시양태에서, RCAR 세포는 적어도 부분적으로는, 항원 결합 도메인에 의해 결합된 항원을 포함하는 표적 세포에 대한 특이성을 제공하기 위해 항원 결합 도메인에 의존한다.

[0234] 본원에 사용된 용어 "막 앵커" 또는 "막 테더링 도메인"은 세포외 또는 세포내 도메인을 형질 막에 고정시키기에 충분한 폴리펩티드 또는 모이어티, 예를 들어 미리스토일 기를 지칭한다.

[0235] 본원에 사용된 용어 "스위치 도메인"은, 예를 들어 RCAR을 언급하는 경우에, 이량체화 분자의 존재 하에 또 다른 스위치 도메인과 회합하는 엔티티, 전형적으로 폴리펩티드-기반 엔티티를 지칭한다. 회합은 제1 스위치 도메인에 연결된, 예를 들어 그에 융합된 제1 엔티티, 및 제2 스위치 도메인에 연결된, 예를 들어 그에 융합된 제2 엔티티의 기능적 커플링을 생성한다. 제1 및 제2 스위치 도메인은 집합적으로 이량체화 스위치로서 지칭된다. 실시양태에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 서로 동일하고, 예를 들어 이들은 동일한 1차 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드이고, 집합적으로 동종이량체화 스위치로 지칭된다. 실시양태에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 서로 상이하고, 예를 들어 이들은 상이한 1차 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드이고, 집합적으로 이종이량체화 스위치로 지칭된다. 실시양태에서, 스위치는 세포내 존재한다. 실시양태에서, 스위치는 세포외 존재한다. 실시양태에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반 엔티티, 예를 들어 FKBP 또는 FRB-기반 엔티티이고, 이량체화 분자는 소분자, 예를 들어 라파로그이다. 실시양태에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반 엔티티, 예를 들어 myc 펩티드에 결합하는 scFv이고, 이량체화 분자는 폴리펩티드, 그의 단편, 또는 폴리펩티드의 다량체, 예를 들어 myc 리간드 또는 1개 이상의 myc scFv에 결합하는 myc 리간드의 다량체이다. 실시양태에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반 엔티티, 예를 들어 myc 수용체이고, 이량체화 분자는 항체 또는 그의 단편, 예를 들어 myc 항체이다.

[0236] 본원에 사용된 용어 "이량체화 분자"는, 예를 들어 RCAR을 언급하는 경우에, 제1 스위치 도메인과 제2 스위치 도메인의 회합을 촉진하는 분자를 지칭한다. 실시양태에서, 이량체화 분자는 대상체에서 자연 발생되지 않거나, 또는 유의한 이량체화를 야기할 농도로 발생되지 않는다. 실시양태에서, 이량체화 분자는 소분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001이다.

[0237] 용어 "생물학적 등가"는 참조 용량 또는 참조량의 참조 화합물 (예를 들어, RAD001)에 의해 생성된 효과와 동등한 효과를 생성하는데 요구되는 참조 화합물 (예를 들어, RAD001) 이외의 작용제의 양을 지칭한다. 한 실시양태에서, 효과는 예를 들어 P70 S6 키나제 억제에 의해 측정된 바와 같은, 예를 들어 생체내 또는 시험관내 검정에서 평가된 바와 같은, 예를 들어 본원에 기재된 검정, 예를 들어 불레이(Boulay) 검정에 의해 측정된 바와 같

은 mTOR 억제 수준, 또는 웨스턴 블롯에 의한 인산화 S6 수준의 측정이다. 한 실시양태에서, 효과는 세포 분류에 의해 측정된 바와 같은 PD-1 양성/PD-1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 비의 변경이다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제의 생물학적 등가 양 또는 용량은 참조 용량 또는 참조량의 참조 화합물과 동일한 수준의 P70 S6 키나제 억제를 달성하는 양 또는 용량이다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제의 생물학적 등가 양 또는 용량은 참조 용량 또는 참조량의 참조 화합물과 동일한 수준의 PD-1 양성/PD-1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 비의 변경을 달성하는 양 또는 용량이다.

[0238] 용어 "낮은, 면역 증진 용량"이 mTOR 억제제, 예를 들어 알로스테릭 mTOR 억제제, 예를 들어 RAD001 또는 라파마이신, 또는 촉매 mTOR 억제제와 함께 사용된 경우에, 이는 예를 들어 P70 S6 키나제 활성의 억제에 의해 측정된 바와 같이 부분적이지만 전적이지는 않게 mTOR 활성을 억제하는 mTOR 억제제의 용량을 지칭한다. 예를 들어, P70 S6 키나제의 억제에 의해 mTOR 활성을 평가하는 방법이 본원에서 논의된다. 용량은 완전 면역 억제를 발생시키는데는 불충분하지만, 면역 반응을 증진시키는데 충분하다. 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는 PD-1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 개수의 감소 및/또는 PD-1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 개수의 증가, 또는 PD-1 음성 T 세포/PD-1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 비의 증가를 발생시킨다.

[0239] 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는 나이브 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 개수의 증가를 발생시킨다. 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는 하기:

[0240] 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 하기 마커: $CD62L^{고}$, $CD127^{고}$, $CD27^{+}$, 및 BCL2 중 1개 이상의 발현의 증가;

[0241] 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 KLRG1의 발현의 감소; 및

[0242] 기억 T 세포 전구체, 예를 들어 하기 특징 중 어느 하나 또는 그의 조합을 갖는 세포의 개수의 증가: 증가된 $CD62L^{고}$, 증가된 $CD127^{고}$, 증가된 $CD27^{+}$, 감소된 KLRG1, 및 증가된 BCL2

[0243] 중 1종 이상을 발생시키며, 여기서 임의의 상기 기재된 변화는, 예를 들어 비-처리 대상체와 비교하여, 예를 들어 적어도 일시적으로 발생한다.

[0244] 본원에 사용된 "불응성"은 치료에 반응하지 않는 질환, 예를 들어 암을 지칭한다. 실시양태에서, 불응성 암은 치료의 시작 전 또는 시작 시 치료에 저항성일 수 있다. 다른 실시양태에서, 불응성 암은 치료 동안 저항성이 될 수 있다. 불응성 암은 또한 저항성 암으로도 불린다.

[0245] 본원에 사용된 "재발성" 또는 "재발"은 개선 또는 반응의 기간 후, 예를 들어 요법, 예를 들어 암 요법의 선행 치료 후 질환 (예를 들어, 암) 또는 질환, 예컨대 암의 징후 및 증상의 복귀 또는 재출현을 지칭한다. 반응의 초기 기간은 특정 역치 미만, 예를 들어 20%, 1%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 미만으로 떨어진 암 세포의 수준을 수반할 수 있다. 재출현은 특정 역치 초과, 예를 들어 20%, 1%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 초과로 상승한 암 세포의 수준을 수반할 수 있다. 예를 들어 B-ALL과 관련하여, 예를 들어 재출현은 완전 반응 후 혈액, 골수 (> 5%), 또는 임의의 수질외 부위에서 예를 들어 모세포의 재출현을 수반할 수 있다. 이와 관련하여 완전 반응은 < 5% BM 모세포를 수반할 수 있다. 보다 일반적으로, 한 실시양태에서, 반응 (예를 들어, 완전 반응 또는 부분 반응)은 검출가능한 MRD (최소 잔류 질환)의 부재를 수반할 수 있다. 한 실시양태에서, 반응성의 초기 기간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6일; 적어도 1, 2, 3, 또는 4주; 적어도 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 또는 12개월; 또는 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5년 지속된다.

[0246] 일부 실시양태에서, CD19 억제제, 예를 들어 CD19 CAR 요법을 포함하는 요법은 치료에 대해 재발성 또는 불응성일 수 있다. 재발성 또는 저항성은 CD19 상실 (예를 들어, 항원 상실 돌연변이) 또는 CD19의 수준을 감소시키는 다른 CD19 변경 (예를 들어, CD19-음성 클론의 클론 선택에 의해 유발됨)에 의해 유발될 수 있다. 이러한 CD19 상실 또는 변경을 보유하는 암은 본원에서 "CD19-음성 암" 또는 "CD19-음성 재발성 암"으로 지칭된다. CD19-음성 암은 CD19의 100% 상실을 가질 필요는 없지만, 암이 재발하거나 불응성이 되도록 CD19 요법의 유효성을 감소시키는데 충분한 감소를 가질 필요는 있는 것으로 이해되어야 할 것이다. 일부 실시양태에서, CD19-음성 암은 CD19 CAR 요법으로부터 발생한다.

[0247] 범위: 본 개시내용에 걸쳐, 본 발명의 다양한 측면은 범위 포맷으로 제시될 수 있다. 범위 포맷의 기재는 단지 편의 및 간결함을 위한 것임을 이해하여야 하고, 본 발명의 범주에 대한 불변의 제한으로서 해석되지 않아야 한다. 따라서, 범위의 기재는 구체적으로 개시된 모든 가능한 하위범위 뿐만 아니라 그러한 범위 내의 개별 수치

값을 갖는 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 범위, 예컨대 1 내지 6의 기재는 구체적으로 개시된 하위범위, 예컨대 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등, 뿐만 아니라 그러한 범위 내의 개별 숫자, 예를 들어 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3, 및 6을 갖는 것으로 간주되어야 한다. 이것은 범위의 폭에 상관없이 적용된다.

[0248] NKR-CAR

[0249] 예를 들어 비-자연 발생 키메라 항원 수용체 (CAR)를 사용하여 세포독성 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 특이성 및 활성을 조절하기 위한 조성물 및 방법이 본원에 개시된다. 한 실시양태에서 CAR은 NKR-CAR이다. NKR-CAR은 NK 세포 면역-기능 수용체 (또는 NKR)와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CAR이다. NKR 및 NKR-CAR은 본원, 예를 들어 하기 섹션에 기재되어 있다. 하기 논의된 바와 같이, 다양한 NKR은 NKR-CAR을 위한 기준으로서의 역할을 할 수 있다.

[0250] NK 세포 면역-기능 수용체 (NKR) 및 NK 세포

[0251] 본원에 논의된 바와 같이, NK 세포 면역-기능 수용체 (또는 NKR)는 NK 세포에서 발현된 내인성 자연 발생 막횡단 단백질을 지칭하고, 이는 항원 제시 세포 상의 리간드와 연관될 수 있고 NK 세포 면역-기능 반응을 조정할 수 있으며, 예를 들어 이는 NK 세포의 세포용해 활성 또는 시토카인 분비를 조정할 수 있다.

[0252] NK 세포는 골수에서 림프성 전구 세포로부터 발생되는 단핵 세포이고, 형태학적 특색 및 생물학적 특성은 전형적으로 클러스터 결정기 (CD) CD16, CD56, 및/또는 CD57의 발현; 세포 표면 상의 알파/베타 또는 감마/델타 TCR 복합체의 부재; "자기" 주요 조직적합성 복합체 (MHC)/인간 백혈구 항원 (HLA) 단백질을 발현하는데 실패한 표적 세포에 결합하여 사멸시키는 능력; 및 활성화 NK 수용체에 대한 리간드를 발현하는 종양 세포 또는 다른 이환 세포를 사멸시키는 능력을 포함한다. NK 세포는 선행 면역화 또는 활성화에 대한 필요없이 여러 유형의 종양 세포주에 결합하여 사멸시키는 능력을 특징으로 한다. NK 세포는 또한 면역계에 대해 조절 효과를 발휘하는 가용성 단백질 및 시토카인을 방출할 수 있고; 다중 라운드의 세포 분열을 거쳐 모 세포와 유사한 생물학적 특성을 갖는 딸 세포를 생산할 수 있다. 인터페론 및/또는 시토카인에 의한 활성화 시, NK 세포는 NK 세포와 표적 세포 사이의 직접적, 물리적 접촉을 필요로 하는 메카니즘에 의해 종양 세포 및 세포내 병원체에 의해 감염된 세포의 용해를 매개한다. 표적 세포의 용해는 NK 세포로부터 결합된 표적의 표면으로의 세포독성 과립, 및 표적 형질 막을 통과하여 아폽토시스 또는 프로그램화된 세포 사멸을 유도하는 이펙터 단백질, 예컨대 퍼포린 및 그랜자임 B의 방출을 수반한다. 정상의, 건강한 세포는 NK 세포에 의한 용해로부터 보호된다. NK 세포 활성은 자극 및 억제 신호 둘 다를 수반하는 복합 메카니즘에 의해 조절된다.

[0253] 간략하게, NK 세포의 용해 활성은 표적 세포 상의 리간드와의 상호작용 시 양성 또는 음성 세포내 신호를 전달하는 다양한 세포 표면 수용체에 의해 조절된다. 이들 수용체를 통해 전달되는 양성 및 음성 신호 사이의 균형은 표적 세포가 NK 세포에 의해 용해 (사멸)될 것인지 여부를 결정한다. NK 세포 자극 신호는 천연 세포독성 수용체 (NCR), 예컨대 NKp30, NKp44, 및 NKp46; 뿐만 아니라 NKG2C 수용체, NKG2D 수용체, 특정 활성화 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR), 및 다른 활성화 NK 수용체에 의해 매개될 수 있다 (Lanier, Annual Review of Immunology 2005; 23:225-74). NK 세포 억제 신호는 Ly49, CD94/NKG2A, 뿐만 아니라 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 부류 I 분자를 인식하는 특정 억제 KIR과 같은 수용체에 의해 매개될 수 있다 (Karre et al., Nature 1986; 319:675-8; Ohlen et al., Science 1989; 246:666-8). 이들 억제 수용체는 다른 세포 상에 존재하는 MHC 부류 I 분자 (HLA 부류 I 포함)의 다형성 결정기에 결합하고, NK 세포-매개 용해를 억제한다.

[0254] KIR-CAR

[0255] 항원 결합 도메인 및 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 도메인 (KIR-CAR)을 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR) 분자가 본원에 개시된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 KIR-CAR은 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 표면 상에서 발현된다.

[0256] KIR-CAR 기반 NKCAR

[0257] 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체로서 지칭되는 KIR은 인간 및 비-인간 영장류에서 특징화된 바 있고, NK 세포 및 일부 T 세포를 포함한 림프구의 특정 하위세트 상에 존재하는 다형성 유형 1 막횡단 분자이다. KIR은 MHC 부류 I 분자의 알파 1 및 2 도메인 내의 결정기와 상호작용하고, 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같이, 별개의 KIR은 NK 세포에 대해 자극적이거나 억제적이다.

[0258] 본원에 기재된 NKR-CAR은 KIR-CAR을 포함하고, KIR과 기능적 및 구조적 특성을 공유한다.

[0259] KIR은 NK 세포 상에서 발견되는 세포 표면 단백질의 패밀리이다. 이는 모든 세포 유형 상에서 발현되는 MHC 부류 I 분자와 상호작용함으로써 이들 세포의 사멸 기능을 조절한다. 이러한 상호작용은 그것이 바이러스 감염된 세포 또는 종양 세포를 검출하게 한다. 대부분의 KIR은 억제적이며, 이는 그의 MHC 인식이 그를 발현하는 NK 세포의 세포독성 활성을 억제한다는 것을 의미한다. 단지 제한된 수의 KIR만이 세포를 활성화하는 능력을 갖는다.

[0260] KIR 유전자 패밀리는 염색체 19 상에 위치한 (19q13.4) 백혈구 수용체 복합체 (LRC)의 100-200 Kb 영역 내에 코딩된 적어도 15종의 유전자좌 (KIR2DL1, KIR2DL2/L3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1/S1, KIR3DL2, KIR3DL3 및 2종의 위유전자, KIR2DP1 및 KIR3DP1)를 갖는다. LRC는 특유의 Ig-유사 세포외 도메인을 갖는 다른 세포 표면 분자를 코딩하는 유전자를 함유하는, 신속하게 진화하는 면역 유전자의 대형의, 1 Mb, 및 밀집 클러스터를 구성한다. 또한, 확장된 LRC는 막횡단 어댑터 분자 DAP10 및 DAP12를 코딩하는 유전자를 함유한다.

[0261] KIR 유전자는 길이가 4 내지 16 Kb (전장 게놈 서열)로 다양하고, 4 내지 9개의 엑손을 함유할 수 있다. KIR 유전자는 그의 구조적 특색에 따라 하기 3개의 군 중 1개에 속하는 것으로 분류된다: (1) D1 및 D2 입체형태를 갖는 2종의 세포외 도메인 단백질을 코딩하는 유형 I KIR2D 유전자; (2) D0 및 D2 입체형태를 갖는 2종의 세포외 도메인 단백질을 코딩하는 구조적으로 분기된 유형 II KIR2D 유전자; 및 마지막으로 (3) 3종의 세포외 Ig-유사 도메인 (D0, D1 및 D2)을 갖는 단백질을 코딩하는 KIR3D 유전자.

[0262] 위유전자 KIR2DP1 뿐만 아니라 KIR2DL1-3 및 KIR2DS1-5 유전자를 포함하는 유형 I KIR2D 유전자는 8개의 엑손 뿐만 아니라 위엑손 3 서열을 보유한다. 이러한 위엑손은 형 I KIR2D에서 불활성화된다. 일부 경우에, 이는 인트론 2-엑손 3 스플라이스-부위 상에 위치한 뉴클레오티드 치환으로 인한 것이고, 여기서 그의 뉴클레오티드 서열는 KIR3D 엑손 3 서열에 대해 높은-정도의 동일성을 나타내고, 특징적인 3개의 염기 쌍 결실을 보유한다. 다른 경우에, 조기 정지 코돈은 엑손 3의 차별적 스플라이싱을 개시한다. 유전자의 유형 I KIR2D 군 내에서, KIR2DL1 및 KIR2DL2는 엑손 7에서 공통 결실을 공유하고, 이는 이러한 엑손에서 그들을 모든 다른 KIR과 구별시키고, 보다 짧은 엑손 7 서열을 발생시킨다. 유사하게, 유형 I KIR2D 내에서, KIR2DL1-3은 KIR2DS1-5와 엑손 9 내 그의 세포질 꼬리 코딩 영역의 길이 면에서만 상이하다. KIR2DP1 위유전자 구조는 KIR2DL1-3의 그것과 상이하고, 전자는 단일 염기 쌍 결실로 인해 보다 짧은 엑손 4 서열을 갖는다.

[0263] 유형 II KIR2D 유전자는 KIR2DL4 및 KIR2DL5를 포함한다. KIR3D 및 유형 I KIR2D와 달리, 유형 II KIR2D는 모든 다른 KIR 내의 엑손 4에 상응하는 영역이 특징적으로 결실되어 있다. 추가적으로, 유형 II KIR2D 유전자는 유형 I KIR2D 유전자와 상이하며, 전자는 번역된 엑손 3을 보유하는 반면에 유형 I KIR2D 유전자는 그의 위치에 비번역된 위엑손 3 서열을 갖는다. 유형 II KIR2D 유전자 내에서, KIR2DL4는 추가로 그의 엑손 1 서열의 길이에 의해 KIR2DL5 (뿐만 아니라 다른 KIR 유전자)와 구분된다. KIR2DL4에서, 엑손 1은 6개 뉴클레오티드 더 길고, 다른 KIR 유전자 내에 존재하는 것과 상이한 개시 코돈을 보유하는 것으로 발견되었다. 이러한 개시 코돈은 다른 KIR 유전자 내에 존재하는 개시 코돈에 상응하는 KIR2DL4 내의 제2의 잠재적 개시 코돈보다 '코작 전사 개시 컨센서스 서열'과 더 잘 일치한다.

[0264] KIR3D 유전자는 9개의 엑손을 보유하고, 구조적으로 관련된 KIR3DL1, KIR3DS1, KIR3DL2 및 KIR3DL3 유전자를 포함한다. KIR3DL2 뉴클레오티드 서열은 모든 KIR 유전자 중에서 가장 길고, 전장 게놈 서열에서 16,256 bp 및 cDNA에서 1,368 bp에 걸쳐있다. KIR3D 군 내에서, 4개의 KIR 유전자는 엑손 9 내의 세포질 꼬리를 코딩하는 영역의 길이면에서 상이하다. KIR 단백질의 세포질 꼬리의 길이는 14개 아미노산 잔기 길이 (일부 KIR3DS1 대립유전자에서) 내지 108개 아미노산 잔기 길이 (KIR2DL4 단백질에서)로 다양할 수 있다. 추가적으로, KIR3DS1은 KIR3DL1 또는 KIR3DL2와 상이하고, 전자는 보다 짧은 엑손 8 서열을 갖는다. KIR3DL3은 엑손 6이 완전히 결여되어 있다는 점에서 다른 KIR 서열과 상이하다. 가장 극도의 KIR 유전자 구조 차이가 KIR3DP1의 그것에서 관찰된다. 이러한 유전자 단편은 엑손 6에서 9, 때때로 또한 엑손 2가 완전히 결여되어 있다. 존재하는 유전자의 나머지 부분 (엑손 1, 3, 4 및 5)은 다른 KIR3D 서열, 특히 KIR3DL3 서열과 높은 수준의 서열 동일성을 공유한다.

[0265] KIR 단백질은 그의 세포외 영역 상에 특징적인 Ig-유사 도메인을 보유하고, 이는 일부 KIR 단백질에서 HLA 부류 I 리간드 결합에 수반된다. 이는 또한 NK 세포로 전달되는 신호의 유형을 규정함으로써 기능적으로 관련된 막횡단 및 세포질 영역을 보유한다. KIR 단백질은 2 또는 3개의 Ig-유사 도메인 (따라서 KIR2D 또는 KIR3D) 뿐만 아니라 짧거나 긴 세포질 꼬리 (KIR2DS 또는 KIR2DL로 나타내어짐)를 가질 수 있다. 2종의 도메인 KIR 단백질은 존재하는 막 원위 Ig-유사 도메인의 기원에 따라 2개의 군으로 세분된다. 유형 I KIR2D 단백질 (KIR2DL1,

KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4 및 KIR2DS5)은 KIR3D D1 Ig-유사 도메인과 기원에서 유사하지만 D0 도메인이 결여된 막-원위 Ig-유사 도메인을 보유한다. 이러한 D1 Ig-유사 도메인은 상응하는 KIR 유전자의 제4 엑손에 의해 주로 코딩된다. 유형 II KIR2D 단백질, KIR2DL4 및 KIR2DL5는 KIR3D 단백질에 존재하는 D0 도메인과 유사한 서열의 막-원위 Ig-유사 도메인을 보유하지만, 유형 II KIR2D는 D1 도메인이 결여되어 있다. 긴 세포질 꼬리는 통상적으로 NK 세포에게 억제 신호를 전달하는 2개의 면역 티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 함유한다. 짧은 세포질 꼬리는 그의 막횡단 영역 내에, 활성화 신호를 생성할 수 있는 DAP12 신호전달 분자와 회합되게 하는, 양으로 하전된 아미노산 잔기를 보유한다. 이에 대한 예외는 KIR2DL4로, 이는 단지 1개의 N-말단 ITIM을 함유한다. 또한, KIR2DL4는 그의 막횡단 도메인 내에, 이러한 수용체가 억제 및 활성화 신호 둘 다를 도출하게 하는 특색인, 하전된 잔기 (아르기닌)를 또한 보유한다. KIR은 잠재적 표적 세포의 표면 상의 MHC 부류 I 리간드의 인식 시 억제 또는 활성화 신호를 전달함으로써 인간 NK 세포의 반응을 제어한다.

[0266] KIR 단백질은 길이가 306 내지 456개의 아미노산 잔기로 다양하다. 단백질 길이에서의 차이는 주로 존재하는 Ig-유사 도메인의 수의 결과이지만, 세포질 영역 길이 다양성도 또한 영향 인자이다. 대부분의 KIR 단백질의 리더 펩티드는 21개의 아미노산 잔기 길이이다. 그러나, 상이한 개시 코돈의 존재는 KIR2DL4 단백질에서 상응하게 더 긴 리더 펩티드를 생성한다.

[0267] 유형 II KIR2D 단백질 및 KIR3D 단백질에 존재하는 D0 Ig-유사 도메인은 대략 96개의 아미노산 잔기 길이이다. 유형 I KIR2D 및 KIR3D 단백질의 D1 도메인은 102개의 아미노산 잔기 길이이고, 모든 KIR 단백질의 D2 도메인은 98개의 아미노산 잔기 길이이다. 스템 영역의 길이는 대부분의 KIR 단백질에 존재하는 24개의 아미노산 잔기에서 분기 KIR3DL3 단백질에서의 단지 7개의 아미노산 잔기까지 다양하다. 막횡단 영역은 대부분의 KIR 단백질의 경우에 20개 아미노산 잔기 길이이지만, 엑손 7에서의 3개의 염기 쌍 결실의 결과로서 KIR2DL1 및 KIR2DL2 단백질 상에서는 1개의 잔기가 더 짧다. 마지막으로, KIR 단백질의 세포질 영역은 일부 KIR3DS1 대립유전자에서의 23개 아미노산 잔기에서 KIR3DL2 단백질에 존재하는 96개 아미노산 잔기까지의 범위로 더 큰 길이 변동을 나타낸다.

[0268] 인간 KIR 폴리펩티드 (호모 사피엔스)에 대한 아미노산 서열은 NCBI 데이터베이스에서 입수가능하고, 예를 들어 수탁 번호 NP_037421.2 (GI:134268644), NP_703144.2 (GI:46488946), NP_001229796.1 (GI:338968852), NP_001229796.1 (GI:338968852), NP_006728.2 (GI:134268642), NP_065396.1 (GI: 11968154), NP_001018091.1 (GI:66267727), NP_001077008.1 (GI:134133244), NP_036444.1 (GI:6912472), NP_055327.1 (GI:7657277), NP_056952.2 (GI:71143139), NP_036446.3 (GI:116517309), NP_001074239.1 (GI:124107610), NP_002246.5 (GI:124107606), NP_001074241.1 (GI: 124107604), NP_036445.1 (GI:6912474)을 참조한다.

[0269] KIR에 대한 명명법은 세포외 도메인의 수 (KIR2D 및 KIR3D은 각각 2 및 3개의 세포외 Ig-도메인을 가짐) 및 세포질 꼬리가 긴지 (KIR2DL 또는 KIR3DL) 또는 짧은지 (KIR2DS 또는 KIR3DS)를 기초로 한다. 주어진 KIR의 존재 또는 부재는 단일 개체 내에 존재하는 NK 집단 내에서 NK 세포마다 서로 가변적이다. 인간 중에서, 또한 KIR 유전자의 비교적 높은 수준의 다형성이 존재하고, 특정 KIR 유전자가 일부에 존재하지만, 모든 개체에서 존재하지는 않는다. NK 세포 상에서의 KIR 대립유전자의 발현은 확률적으로 조절되고, 이는 주어진 개체에서 주어진 림프구가 개체의 유전자형에 따라 1, 2종, 또는 그 초과의 상이한 KIR을 발현할 수 있다는 것을 의미한다. 단일 개체의 NK 세포는 전형적으로 상이한 조합의 KIR을 발현하여, MHC 부류 I 분자에 대해 상이한 특이성을 갖는 NK 세포의 레퍼토리를 제공한다.

[0270] 특정 KIR 유전자 산물은 적절한 리간드에의 결합 시 림프구 활성의 자극을 유발한다. 활성화 KIR은 모두, NK 세포에 자극 신호를 전달하는 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)를 갖는 어댑터 분자와 회합된, 하전된 막횡단 잔기를 갖는 짧은 세포질 꼬리를 갖는다. 대조적으로, 억제 KIR은 MHC 부류 I 리간드의 연관 시 NK 세포에 억제 신호를 전달하는 면역수용체 티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 함유하는 긴 세포질 꼬리를 갖는다. 공지된 억제 KIR은 KIR2DL 및 KIR3DL 서브패밀리의 구성원을 포함한다. 2개의 Ig 도메인을 갖는 억제 KIR (KIR2DL)은 HLA-C 동종이형: KIR2DL2 (이전에 p58.2로 지정됨)을 인식하고, 밀접하게 관련된, 대립유전자 유전자 산물 KIR2DL3은 둘 다 "군 1" HLA-C 동종이형 (HLA-Cw1, -3, -7, 및 -8 포함)을 인식하는 반면에, KIR2DL1 (p58.1)은 "군 2" HLA-C 동종이형 (예컨대 HLA-Cw2, -4, -5, 및 -6)을 인식한다. KIR2DL1에 의한 인식은 HLA-C 대립유전자의 위치 80에서의 Lys 잔기의 존재에 의해 좌우된다. KIR2DL2 및 KIR2DL3 인식은 HLA-C 내 위치 80에서의 Asn 잔기의 존재에 의해 좌우된다. 중요하게는, 대부분의 HLA-C 대립유전자는 위치 80에서 Asn 또는 Lys 잔기를 갖는다. 따라서, KIR2DL1, -2, 및 -3은 집합적으로 인간에서 발견되는 본질적으로 모든 HLA-C 동종이형을 인식한다. 3개의 Ig 도메인을 갖는 1종의 KIR, KIR3DL1 (p70)은 HLA-Bw4 대립유전자에 의해

공유되는 에피토프를 인식한다. 마지막으로, 3개의 Ig 도메인을 갖는 분자의 동종이량체 KIR3DL2 (p140)는 HLA-A3 및 -A11을 인식한다.

[0271] 그러나, 본 발명은 ITIM을 함유하는 세포질 꼬리를 포함하는 억제 KIR로 제한되지 않을 것이다. 오히려, 억제 신호와 연관된 세포질 도메인을 갖는 임의의 억제 단백질은 본 발명의 CAR의 구축에 사용될 수 있다. 억제 단백질의 비제한적 예는 CTLA-4, PD-1 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이들 단백질은 T 세포 활성화를 억제하는 것으로 공지되어 있다.

[0272] 따라서, 본 발명은 KIR 또는 그의 단편에 융합된, 달리 항원 결합 도메인으로 언급되는 표적-특이적 결합 요소를 포함하는 세포외 도메인을 포함하는 KIR-CAR을 제공한다. 한 실시양태에서, KIR은 NK 세포에 자극 신호를 전달하는 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)를 갖는 어댑터 분자와 연관된 짧은 세포질 꼬리를 포함하는 활성화 KIR 이다 (본원의 다른 곳에서 actKIR-CAR로 지칭됨). 한 실시양태에서, KIR은 억제 신호를 전달하는 면역수용체 티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 함유하는 긴 세포질 꼬리를 포함하는 억제 KIR 이다 (본원의 다른 곳에서 inhKIR-CAR로 지칭됨). 일부 경우에, actKIR-CAR 구축 시 활성화 KIR에 대한 힌지 영역을 제거하는 것이 바람직하다. 이는 본 발명이 부분적으로, KIR2S CAR을 생성하기 위해 KIR2DS2 힌지를 제거한 활성화 KIR CAR인 이러한 KIRS2 CAR이 전장 야생형 KIR2DS2를 포함하는 actKIR-CAR과 비교하여 증진된 세포용해 활성을 나타낸다는 발견을 기초로 한 것이기 때문이다.

[0273] 본 발명의 목적 분자를 코딩하는 핵산 서열은 관련 기술분야에 공지된 재조합 방법을 사용하여, 예컨대 예를 들어 유전자를 발현하는 세포로부터 라이브러리를 스크리닝함으로써, 이를 포함하는 것으로 공지된 벡터로부터 유전자를 유도함으로써, 또는 표준 기술을 사용하여 이를 함유하는 세포 및 조직으로부터 직접 단리함으로써 수득할 수 있다. 대안적으로, 관심 유전자는 클로닝하기 보다는 합성적으로 생산할 수 있다.

[0274] 본 발명은 세포 내로 직접 형질도입될 수 있는 KIR-CAR을 발현하는 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 구축물을 포함한다. 본 발명은 또한 세포 내로 직접 형질감염될 수 있는 RNA 구축물을 포함한다. 형질감염에 사용하기 위한 mRNA를 생성하는 방법은 특수하게 설계된 프라이머를 사용한 주형의 시험관내 전사 (IVT)에 이은 폴리A 첨가를 수반하며, 이는 3' 및 5' 비번역 서열 ("UTR"), 5' 캡 및/또는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES), 발현시킬 유전자, 및 폴리A 테일을 함유하는, 전형적으로 50-2000개 염기 길이의 구축물을 생산한다. 이와 같이 생산된 RNA는 상이한 유형의 세포를 효율적으로 형질감염시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 주형은 KIR-CAR에 대한 서열을 포함한다.

[0275] 한 실시양태에서, KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 KIR 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 KIR 세포내 도메인, 예를 들어 inhKIR 세포내 도메인을 포함한다.

[0276] 본원에 사용된 용어 KIR D 도메인은 KIR의 D0, D1, 또는 D2 도메인을 지칭한다.

[0277] 본원에 사용된 용어 KIR D 도메인은 KIR의 D 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다.

[0278] 본원에 사용된 용어 KIR D0 도메인은 KIR의 D0 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D0 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D0 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D0 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D0 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D0 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D0 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D0 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D0 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D0 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D0 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D0 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D0 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0279] 본원에 사용된 용어 KIR D1 도메인은 KIR의 D1 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D1 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D1 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D1 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D1 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D1 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D1 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D1 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D0 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D1 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D1 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D1 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D1 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0280] 본원에 사용된 용어 KIR D2 도메인은 KIR의 D2 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D2 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D2 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D2 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D2 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D2 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D2 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D2 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D2 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D2 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR D2 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR D2 도메인 또는 본원에 기재된 KIR D2 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0281] 본원에 사용된 용어 KIR 힌지 또는 스템 도메인은 KIR의 힌지 또는 스템 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 힌지 또는 스템 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 힌지 또는 스템 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 힌지 또는 스템 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 힌지 또는 스템 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0282] 본원에 사용된 용어 KIR 막횡단 도메인은 KIR의 막횡단 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 막횡단 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 막횡단 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 막횡단 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 막횡단 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0283] 본원에 사용된 용어 KIR 세포내 도메인은 KIR의 세포내 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. KIR 세포내 도메인은 억제 KIR 세포내 도메인 (본원에서 inhKIR 세포내 도메인으로 지칭됨) 및 활성화 KIR 세포내 도메인 (본원에서 actKIR 세포내 도메인으로 지칭됨)을 포함한다. 한 실시양태에서 inhKIR 세포내 도메인은 ITIM 서열을 포함한다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 세포내 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 세포내 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 세포내 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 KIR 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 KIR 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 KIR 세포내 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0284] NCR

[0285] 본원에 기재된 NKR-CAR은 NCR과 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 NCR-CAR을 포함한다.

[0286] 자연 킬러 (NK) 세포는 종양 및 바이러스-감염된 세포를 파괴시키는데 특수화된 세포독성 림프성 세포이다. 세포독성 T 림프구와 달리, NK 세포는 항원-특이적 수용체를 발현하지 않는다. 형질전환된 세포의 인식은 다수의 세포-표면 수용체의 표적 세포 상의 표면 마커와의 회합을 통해 일어난다. NK 세포 표면 수용체는 그들이 NK 세포-매개 세포독성을 활성화시키는지 또는 억제하는지에 따라 구별될 수 있다. 상이한 수용체 사이의 수많은 상호작용은 NK와 표적 세포 사이의 시냅스의 형성으로 이어지는 것으로 보인다. 시냅스에서 활성화 및 억제 신호의 통합은 NK 세포가 표적 세포에 대해 그의 세포용해 기능을 발휘하는지 또는 그렇지 않은지 여부를 좌우한다. 활성화 수용체 중에서, Ig-유사 분자의 패밀리는 천연 세포독성 수용체 (NCR)로 불린다. 이들 천연 세포독성 수용체는 NKp30, NKp44 및 NKp46 분자를 포함한다. NCR은 종양 세포 인식에 있어서 NK 세포의 경우의 주

요 활성화 수용체이다. 모든 3종의 NCR이 종양 및 바이러스-감염된 세포 둘 다의 클리어런스에 수반된다. 후자에서, 항바이러스 활성은 NKp44와 인플루엔자 바이러스 또는 센다이 바이러스의 헤마글루티닌과의 상호작용에 의해 개시된다. NKp46은 인플루엔자 바이러스 헤마글루티닌 또는 센다이 바이러스 헤마글루티닌-뉴라미니다제에 결합함으로써 바이러스-감염된 세포를 표적화한다. 대조적으로, NK 세포-매개 세포독성은 NKp30이 인간 시토메갈로바이러스 단백질 pp65에 결합함으로써 억제되는 것으로 제시된 바 있다 (예를 들어, 문헌 [Arnon, et al., Nat. Immunol. (2005) 6:515-523] 참조).

[0287] 인간 NCR 폴리펩티드 (호모 사피엔스)에 대한 아미노산 서열은 NCBI 데이터베이스에서 입수가능하고, 예를 들어 수탁 번호 NP_004819.2 (GI:153945782), O14931.1 (GI:47605770), O95944.2 (GI:251757303), O76036.1 (GI:47605775), NP_001138939.1 (GI:224586865), 및/또는 NP_001138938.1 (GI:224586860)을 참조한다.

[0288] 한 실시양태에서, NCR-CAR은 항원 결합 도메인 및 NCR 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, KIR-CAR은 항원 결합 도메인 및 NCR 세포내 도메인을 포함한다.

[0289] 본원에 사용된 용어 NCR 세포외 도메인은 NCR의 세포외 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 세포외 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 세포외 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 세포외 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 세포외 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0290] 본원에 사용된 용어 NCR 힌지 또는 스템 도메인은 NCR의 힌지 또는 스템 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 힌지 또는 스템 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 힌지 또는 스템 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 힌지 또는 스템 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 힌지 또는 스템 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0291] 본원에 사용된 용어 NCR 막횡단 도메인은 NCR의 막횡단 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 막횡단 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 막횡단 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 막횡단 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 막횡단 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0292] 본원에 사용된 용어 NCR 세포내 도메인은 NCR의 세포내 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 세포내 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 세포내 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 세포내 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 NCR-CAR 의 NCR 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 NCR 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 NCR 세포내 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0293] SLAM 수용체

[0294] 본원에 기재된 NKR-CAR은 SLAMF와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 SLAMF-CAR을 포함한다.

[0295] 면역 세포 수용체의 신호전달 림프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리는 분자의 이뮤노글로불린 (Ig) 슈퍼패밀리의 CD2 패밀리와 밀접하게 관련된다. SLAM 패밀리 (SLAMF)는 현재 SLAM, CD48, CD229, 2B4, CD84, NTB-A, CRACC, BLAME, 및 CD2F-10으로 명명되는 9종의 구성원을 포함한다. 일반적으로, SLAM 분자는 2 내지 4개의 세포외 Ig 도메인, 막횡단 절편, 및 세포내 티로신-풍부 영역을 보유한다. 분자는 다양한 면역 세포 유형 상에서 차별적으로 발현된다. 여러개는 자기 리간드이고, SLAM은 인간 홍역 바이러스 수용체로서 확인된 바 있다. 여러 작은 SH2-함유 어댑터 단백질이 SLAM 패밀리 구성원의 세포내 도메인과 회합되고, SH2D1A (SLAM-연관 단백질 [SAP]로도 공지됨) 및 SH2D1B (EAT2로도 공지됨)를 포함한 수용체 신호전달을 조정하는 것으로 공지되어 있다. 예를 들어, T 및 NK 세포에서, 활성화된 SLAM 패밀리 수용체는 티로신 인산화되고, 어댑터 SAP 및 후속적으로 Src 키나제 Fyn을 동원한다. 이어지는 신호 전달 캐스케이드는 T 세포-항원 제시 세포 및 NK 세포-표적 세포 상호작용의 결과에 영향을 미친다.

[0296] 인간 SLAM 수용체 폴리펩티드 (호모 사피엔스)에 대한 아미노산 서열은 NCBI 데이터베이스에서 입수가능하고, 예를 들어 수탁 번호 NP_057466.1 (GI: 7706529), NP_067004.3 (GI: 19923572), NP_003028.1 (GI:4506969), NP_001171808.1 (GI: 296434285), NP_001171643.1 (GI:296040491), NP_001769.2 (GI:21361571), NP_254273.2 (GI: 226342990), NP_064510.1 (GI: 9910342) 및/또는 NP_002339.2 (GI: 55925578)를 참조한다.

[0297] 한 실시양태에서, SLAMF-CAR은 항원 결합 도메인 및 SLAMF 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, SLAMF-CAR은 항원 결합 도메인 및 SLAMF 세포내 도메인을 포함한다.

[0298] 본원에 사용된 용어 SLAMF 세포외 도메인은 SLAMF의 세포외 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 세포외 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 세포외 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 세포외 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 세포외 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0299] 본원에 사용된 용어 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인은 SLAMF의 힌지 또는 스템 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 힌지 또는 스템 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0300] 본원에 사용된 용어 SLAMF 막횡단 도메인은 SLAMF의 막횡단 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 막횡단 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 막횡단 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 막횡단 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 막횡단 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0301] 본원에 사용된 용어 SLAMF 세포내 도메인은 SLAMF의 세포내 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드

도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 세포내 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 세포내 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 세포내 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 SLAMF-CAR 의 SLAMF 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 SLAMF 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 SLAMF 세포내 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0302] Fc-결합 수용체

[0303] 본원에 기재된 NKR-CAR은 Fc 수용체에 기초한 CAR, FcR-CAR, 예를 들어 CD16 및 CD64와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 CD16-CAR, 및 CD64-CAR을 포함한다.

[0304] 활성화 시, NK 세포는 시토카인 및 케모카인을 풍부하게 생산하고, 동시에 강력한 세포용해 활성을 나타낸다. NK 세포의 활성화는 직접 종양 세포 사멸에 의해 관찰되는 바와 같이 NK 세포 수용체의 표적 세포 상 리간드에의 직접 결합을 통해 일어날 수 있거나, 또는 항원-보유 세포에 결합된 항체의 Fc 부분에 결합하는 것에 의한 Fc 수용체의 가교 (CD 16; FcγRIII)를 통해 일어날 수 있다. 이러한 CD16 연관 (CD16 가교)은 CD16-회합된 어댑터 쇄, FcRγ 또는 CD3 ζ 중 하나 또는 둘 다를 통해 생성된 세포내 신호를 통해 NK 세포 반응를 개시한다. CD16의 촉발은 γ 또는 ζ 쇄의 인산화로 이어지고, 이는 차례로 티로신 키나제, syk 및 ZAP-70을 동원하여, 신호 전달 캐스케이드를 개시시켜, 신속하고 강력한 이펙터 기능을 발생시킨다. 가장 널리-공지된 이펙터 기능은 독성 단백질을 운반하는 세포질 과립의 방출로, 이는 항체-의존성 세포성 세포독성의 과정을 통해 가까운 표적 세포를 사멸시킨다. CD16 가교는 또한 시토카인 및 케모카인의 생산을 발생시키고, 이는 차례로 일련의 면역 반응을 활성화 및 전개한다.

[0305] 그러나, T 및 B 림프구와 달리, NK 세포는 배선-코딩된 활성화 수용체를 사용하여 표적 인식에 대해 단지 제한된 능력을 갖는 것으로 생각된다 (Bottino et al., Curr Top Microbiol Immunol. 298:175-182 (2006); Stewart et al., Curr Top Microbiol Immunol. 298:1-21 (2006)). NK 세포는 활성화 Fc 수용체 CD 16을 발현하고, 이는 IgG-코팅된 표적 세포를 인식함으로써 표적 인식을 넓힌다 (Ravetch & Bolland, Annu Rev Immunol. 19:275-290 (2001); Lanier Nat. Immunol. 9(5):495-502 (2008); Bryceson & Long, Curr Opin Immunol. 20(3):344-352 (2008)). 여러 NK 세포 활성화 수용체의 발현 및 신호 전달 활성은 물리적으로 회합된 어댑터를 필요로 하고, 이는 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)를 통해 신호를 전달한다. 이들 어댑터 중에서, FcRγ 및 CD3 ζ 쇄는 디술피드-연결된 동종-이량체 또는 이종-이량체로서 CD16 및 천연 세포독성 수용체 (NCR)와 회합될 수 있고, 이들 쇄는 모든 성숙 NK 세포에 의해 발현되는 것으로 생각되고 있다.

[0306] CD16 (호모 사피엔스)에 대한 아미노산 서열은 NCBI 데이터베이스에서 입수가능하고, 예를 들어 수탁 번호 NP_000560.5 (GI: 50726979), NP_001231682.1 (GI: 348041254)를 참조한다.

[0307] 한 실시양태에서, FcR-CAR은 항원 결합 도메인 및 FcR 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, FcR-CAR은 항원 결합 도메인 및 FcR 세포내 도메인을 포함한다.

[0308] 본원에 사용된 용어 CD16 세포외 도메인은 CD16의 세포외 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 세포외 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 세포외 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 세포외 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 세포외 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0309] 본원에 사용된 용어 CD16 힌지 또는 스템 도메인은 CD16의 힌지 또는 스템 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 힌지 또는 스템 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 힌지 또는 스템 도메인은 참

조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 힌지 또는 스템 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 힌지 또는 스템 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 힌지 또는 스템 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0310] 본원에 사용된 용어 CD16 막횡단 도메인은 CD16의 막횡단 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 막횡단 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 막횡단 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 막횡단 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 막횡단 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0311] 본원에 사용된 용어 CD16 세포내 도메인은 CD16의 세포내 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 세포내 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 세포내 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 세포내 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 CD16-CAR 의 CD16 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD16 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 CD16 세포내 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0312] 본원에 사용된 용어 CD64 세포외 도메인은 CD64의 세포외 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 세포외 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 세포외 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 세포외 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 세포외 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0313] 본원에 사용된 용어 CD64 힌지 또는 스템 도메인은 CD64의 힌지 또는 스템 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 힌지 또는 스템 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 힌지 또는 스템 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 힌지 또는 스템 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 힌지 또는 스템 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0314] 본원에 사용된 용어 CD64 막횡단 도메인은 CD64의 막횡단 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 막횡단 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 막횡단 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된

CD64 막횡단 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 막횡단 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0315] 본원에 사용된 용어 CD64 세포내 도메인은 CD64의 세포내 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 세포내 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 세포내 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 세포내 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 CD64-CAR 의 CD64 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CD64 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 CD64 세포내 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0316] Ly49 및 관련 킬러 세포 렉틴-유사 수용체

[0317] 본원에 기재된 NKR-CAR은 Ly49와 기능적 및 구조적 특성을 공유하는 Ly49-CAR을 포함한다.

[0318] Ly49 수용체는 마우스에서 적어도 23종의 확인된 유전자 (Ly49A-W)로부터 유래된다. 이들 수용체는 그의 상이한 구조 (C-유형 렉틴 슈퍼패밀리의 유형 II 내재성 막 단백질)에도 불구하고 인간에서 KIR에 의해 수행되는 것과 동일한 많은 역할을 마우스 NK 세포 및 T 세포에서 공유하고, 이는 또한 인간 KIR과 같은 상당한 정도의 유전자 변이를 함유한다. Ly49와 KIR 수용체 사이의 현저한 기능적 유사성은 이들 수용체의 군이 독립적으로 그러나 수렴 진화되어 NK 세포 및 T 세포에서 동일한 생리학적 기능을 수행한다는 것을 시사한다.

[0319] 인간에서의 KIR과 같이, 상이한 Ly49 수용체는 상이한 MHC 부류 I 대립유전자를 인식하고, NK 세포의 하위세트 상에서 차별적으로 발현된다. 원래의 원형 Ly49 수용체, Ly49A 및 Ly49C는 억제 KIR, 예컨대 KIR2DL3과 유사한 2개의 이뮤노티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 보유하는 세포질 도메인을 보유한다. 이들 도메인은 포스파타제, SHP-1을 동원하고, 억제 KIR과 같이, NK 세포 및 T 세포의 활성화를 제한하는 역할을 하는 것으로 확인된 바 있다. 억제 Ly49 분자에 더하여, 여러 패밀리 구성원, 예컨대 Ly49D 및 Ly49H가 ITIM-함유 도메인을 상실하였고, 대신 인간에서의 활성화 KIR, 예컨대 KIR2DS2와 유사한 신호전달 어댑터 분자, DAP12와 상호작용하는 능력을 획득하였다.

[0320] Ly49 패밀리 구성원에 대한 아미노산 서열은 NCBI 데이터베이스에서 입수가능하고, 예를 들어 수탁 번호 AAF82184.1 (GI: 9230810), AAF99547.1 (GI: 9801837), NP_034778.2 (GI: 133922593), NP_034779.1 (GI: 6754462), NP_001095090.1 (GI: 197333718), NP_034776.1 (GI: 21327665), AAK11559.1 (GI: 13021834) 및/또는 NP_038822.3 (GI: 9256549)을 참조한다.

[0321] 한 실시양태에서, Ly49-CAR은 항원 결합 도메인 및 Ly49 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, Ly49-CAR은 항원 결합 도메인 및 Ly49 세포내 도메인을 포함한다.

[0322] 본원에 사용된 용어 LY49 세포외 도메인은 LY49의 세포외 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 세포외 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 세포외 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 세포외 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 세포외 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 세포외 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 세포외 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0323] 본원에 사용된 용어 LY49 힌지 또는 스템 도메인은 LY49의 힌지 또는 스템 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 힌지 또는 스템 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 힌지 또는 스템 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 힌지 또는 스템 도메

인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 힌지 또는 스템 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 힌지 또는 스템 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 힌지 또는 스템 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 힌지 또는 스템 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0324] 본원에 사용된 용어 LY49 막횡단 도메인은 LY49의 막횡단 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 막횡단 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 막횡단 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 막횡단 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 막횡단 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 막횡단 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 막횡단 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0325] 본원에 사용된 용어 LY49 세포내 도메인은 LY49의 세포내 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 세포내 도메인과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 세포내 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 세포내 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 LY49-CAR 의 LY49 세포내 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 LY49 세포내 도메인 또는 본원에 기재된 LY49 세포내 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0326] 세포내 신호전달 도메인 또는 어댑터 분자, 예를 들어 DAP12

[0327] 일부 NKR-CAR은 다른 분자, 예를 들어 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 ITAM을 포함하는 분자와 상호작용한다. 한 실시양태에서 세포내 신호전달 도메인은 DAP12이다.

[0328] DAP12는 그의 구조적 특색 및 추정 기능으로 인해 그렇게 명명된다. 특정 세포 표면 수용체는 고유의 기능성이 결여되어 있고, 가설상 12 kD 단백질인 것으로 시사되는 또 다른 단백질 파트너와 상호작용할 수 있다. 신호전달의 메카니즘은 ITAM 신호를 수반할 수 있다.

[0329] DAP12는 CD3에 대한 가설상 관계 (문헌 [Olcese, et al. (1997) J. Immunol. 158:5083-5086] 참조), ITAM 서열의 존재 (문헌 [Thomas (1995) J. Exp. Med. 181:1953-1956] 참조), 특정 크기 예측 (문헌 [Olcese; 및 Takase, et al. (1997) J. Immunol. 159:741-747] 참조), 및 다른 특색에 기초하여 서열 데이터베이스로부터 확인되었다. 특히, 막횡단 도메인은 하전된 잔기를 함유하는 것으로 가설이 세워져 있고, 이는 그의 추정 수용체 파트너, KIR CD94 단백질, 및 가능한 다른 유사 단백질의 상응하는 막횡단 절편과 염 가교를 가능하게 할 것이다. 문헌 [Daeron, et al. (1995) 면역 3:635-646]을 참조한다.

[0330] 실제로, 많은 공지된 KIR, MIR, ILT, 및 CD94/NKG2 수용체 분자가 기능적 수용체 복합체의 일부인 보조 단백질과 실제로 기능할 수 있다. 문헌 [Olcese, et al. (1997) J. Immunol. 158:5083-5086; 및 Takase, et al. (1997) J. Immunol. 159:741-747]을 참조한다.

[0331] 본원에 사용된 용어 DAP 12 도메인은 DAP 12의 세포질 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭하고, 전형적으로 ITAM 도메인을 포함할 것이다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 DAP 12 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 DAP 12 또는 본원에 기재된 DAP 12와 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 DAP 12 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 DAP12 또는 본원에 기재된 DAP12와 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 DAP 12 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 DAP12 또는 본원에 기재된 DAP12와 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 DAP 12 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 DAP12 또는 본원에 기재된 DAP12와 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0332] DAP10은 부분적으로 DAP12에 대한 그의 상동성 및 다른 특색에 의해 확인되었다. 특히, ITAM 활성화 모티프를 나타내는 DAP12와 대조적으로, DAP10은 ITIM 억제 모티프를 나타낸다. MDL-1은 DAP12와의 그의 기능적 연관에

의해 확인되었다.

[0333] 예를 들어 DAP12 또는 DAP10과 그의 보조 수용체 사이의 기능적 상호작용은 말단절단된 수용체 형태에서는 통상적으로 발견되지 않는 수용체 내 구조적 조합의 사용을 가능하게 할 수 있다. 따라서, 이러한 보조 단백질, 예컨대 DAP12 및 DAP10을 통한 신호전달의 메카니즘은 예를 들어 KIR, MIR, ILT, 및 CD94 NKG2 유형 수용체와의 다른 KIR-유사 수용체 복합체의 흥미로운 조작을 가능하게 한다. DAP12 또는 DAP10과 상호작용하는 무손상 수용체의 말단절단된 형태가 구축되어 기능적 신호전달 복합체를 형성할 수 있다.

[0334] DAP12의 영장류 뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 332의 뉴클레오티드 1 내지 339에 상응하고; 아미노산 서열은 서열식별번호: 333의 아미노산 1 내지 113에 상응한다. 신호 서열은 met(-26)에서 gln(-1) 또는 ala1까지 전개된 것으로 보이고; 성숙 단백질은 약 ala1 (또는 gln2)에서, 세포외 도메인은 약 ala1에서 pro14까지 전개될 것이고; 세포외 도메인은 7 및 9에서 2개의 시스테인을 함유하고, 이는 아마도 추가의 동형 또는 이형 보조 단백질에 대해 디술피드 연결을 가능하게 할 것이고; 막횡단 영역은 약 gly15 또는 val16에서 약 gly39까지; ITAM 모티프는 tyr65에서 leu79 (YxxL-6/8x-YxxL)까지 전개된다 (서열식별번호: 341). LVA03A EST가 확인되었고, 다른 중첩 서열을 추출하는데 사용되었다. 또한 인간 DAP12의 일부인 진뱅크(Genbank) 인간 EST를 참조하고; 전부는 아니지만 일부는 진뱅크 수탁 # AA481924; H39980; W60940; N41026; R49793; W60864; W92376; H12338; T52100; AA480109; H12392; W74783; 및 T55959를 포함한다.

[0335] 억제 NKR-CAR

[0336] 본 발명은 CAR T 세포 요법 유형에 의해 비-암성 세포의 고갈을 제한하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 본원에 개시된 바와 같이, CAR T 세포 요법 유형은 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)로서 공지된 NK 세포의 활성화 및 억제 수용체를 포함하나 이에 제한되지는 않는 NK 수용체의 사용을 포함한다. 따라서 본 발명은 활성화 NKR-CAR (actNKR-CAR), 예를 들어 활성화 KIR-CAR (actKIR-CAR) 및 억제 NKR-CAR (inhNKR-CAR), 예를 들어 억제 KIR-CAR (inhKIR-CAR)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 사용한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0337] 일부 실시양태에서, inhKIR-CAR의 KIR은 억제 신호를 전달하는 면역수용체 티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 함유하는 긴 세포질 꼬리를 포함하는 억제 KIR이다 (본원의 다른 곳에서 inhKIR-CAR로 지칭됨).

[0338] 일부 실시양태에서, inhKIR-CAR은 KIR 이외의 억제 분자의 세포질 도메인을 포함한다. 이들 억제 분자는, 일부 실시양태에서, 세포가 면역 이펙터 반응을 일으키는 능력을 감소시킬 수 있다. 억제 분자의 세포질 도메인은 KIR의 막횡단 도메인에, 예를 들어 융합에 의해 커플링될 수 있다. 예시적인 억제 분자가 표 1에 제시된다:

[0339]

표 1: 억제 분자		
PD1	TIGIT	KIR
PD-L1	LAIR1	A2aR
PD-L2	CD160	MHC 부류 I
CTLA4	2B4	MHC 부류 II
TIM3	CD80	GAL9
CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3, 및/또는 CEACAM-5)	CD86	아데노신
LAG3	B7-H3 (CD276)	TGFR (예를 들어, TGFR 베타)
VISTA	B7-H4 (VTCN1)	
BTLA	HVEM (TNFRSF14 또는 CD270)	

[0340] 일부 실시양태에서, inhKIR-CAR은 PD1 세포질 도메인을 포함한다. 본원에 사용된 용어 PD1 세포질 도메인은 PD1의 세포질 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 PD1 세포질 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 PD1 세포질 도메인 또는 본원에 기재된 PD1 세포질 도메인 (서열식별번호: 338)과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 PD1 세포질 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 PD1 세포질 도메인 또는 본원에 기재된 PD1 세포질 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 PD1 세포질 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 PD1 세포질 도메인 또는 본원에 기재된 PD1 세포질 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 PD1 세포질 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생

PD1 세포질 도메인 또는 본원에 기재된 PD1 세포질 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0341] 일부 실시양태에서, inhKIR-CAR은 CTLA-4 세포질 도메인을 포함한다. 본원에 사용된 용어 CTLA-4 세포질 도메인은 CTLA-4의 세포질 도메인의 구조적 및 기능적 특성을 갖는 폴리펩티드 도메인을 지칭한다. 한 실시양태에서 KIR-CAR의 CTLA-4 세포질 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CTLA-4 세포질 도메인 또는 본원에 기재된 CTLA-4 세포질 도메인 (서열식별번호: 339)과 적어도 70, 80, 85, 90, 95, 또는 99% 상동성을 갖는다. 실시양태에서 KIR-CAR의 CTLA-4 세포질 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CTLA-4 세포질 도메인 또는 본원에 기재된 CTLA-4 세포질 도메인과 그의 잔기의 15, 10, 5, 2, 또는 1% 이하만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 CTLA-4 세포질 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CTLA-4 세포질 도메인 또는 본원에 기재된 CTLA-4 세포질 도메인과 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 잔기만큼 상이하다. 실시양태에서 KIR-CAR의 CTLA-4 세포질 도메인은 참조 서열, 예를 들어 자연 발생 CTLA-4 세포질 도메인 또는 본원에 기재된 CTLA-4 세포질 도메인과 상이하지 않거나, 100% 상동성을 공유한다.

[0342] 한 실시양태에서, inhNKR-CAR, 예를 들어 inhKIR-CAR은, 비-표적 또는 방관자 세포 상의 항원과의 연관 시, inhNKR-CAR을 포함하는 세포독성 세포를 불활성화한다. 많은 하기 설명이 inhKIR-CAR에 관한 것이지만, 본 발명은 다른 inhNKR-CAR의 유사한 적용을 포함한다.

[0343] 한 실시양태에서, actKIR-CAR을 발현하는 T 세포는 그의 표적에의 결합 시 항종양 특성을 나타내는 반면에, inhKIR-CAR을 발현하는 T 세포는 inhKIR-CAR의 그의 표적에의 결합 시 세포 활성의 억제를 발생시킨다.

[0344] KIR-CAR의 유형에 관계없이, 세포질 도메인에 융합된 항원 결합 도메인을 갖는 세포외 도메인을 포함하도록 KIR-CAR을 조작하였다. 한 실시양태에서, KIR-CAR은 T 세포에서 발현되었을 때, 항원 특이성에 기초하여 항원 인식을 재지시할 수 있다. 예시적인 항원은 CD19이며, 이는 이러한 항원이 B 세포 림프종 상에서 발현되기 때문이다. 그러나, CD19는 또한 정상 B 세포 상에서도 발현되고, 따라서 항-CD19 도메인을 포함하는 CAR은 정상 B 세포의 고갈을 발생시킬 수 있다. 정상 B 세포의 고갈은, B 세포가 통상적으로 감염의 제어에 있어서 T 세포를 보조하기 때문에, 처리된 대상체가 감염에 감수성이게 할 수 있다. 본 발명은 KIR-CAR T 세포 요법 동안 정상 조직의 고갈을 제한하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 건강한 방관자 세포의 고갈은 제한하면서, KIR-CAR T 세포 요법을 사용하여 암 및 다른 장애를 치료하는 방법을 제공한다.

[0345] 한 실시양태에서, 본 발명은 KIR-CAR T 세포 활성을 제어 또는 조절하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 복수개의 유형의 KIR-CAR을 발현하도록 T 세포를 유전자 변형시키는 것에 관한 조성물 및 방법을 포함하며, 여기서 KIR-CAR T 세포 활성화는 복수개의 유형의 KIR-CAR이 그의 표적 수용체에 결합하는 것에 의존한다. 복수개의 유형의 KIR-CAR의 결합에의 의존은 KIR-CAR T 세포의 용해 활성의 특이성을 개선시키고, 그에 의해 정상의 건강한 조직을 고갈시키는 것에 대한 잠재력을 감소시킨다.

[0346] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 억제 KIR-CAR을 갖는 T 세포를 유전자 변형시키는 것에 관한 조성물 및 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 KIR-CAR은 정상, 비-암성, 세포와 연관된 항원을 인식하는 세포외 항원 결합 도메인 및 억제 세포질 도메인을 포함한다.

[0347] 한 실시양태에서, 본 발명은 T 세포가 inhKIR-CAR 및 actKIR-CAR을 발현하도록 유전자 변형된 이중 KIR-CAR을 제공한다. 한 실시양태에서, inhKIR-CAR이 정상, 비-암성 세포에 결합하는 것은 이중 KIR-CAR T 세포의 억제를 발생시킨다. 예를 들어, 한 실시양태에서, inhKIR-CAR이 정상, 비-암성 세포에 결합하는 것은 이중 KIR-CAR T 세포의 사멸을 발생시킨다. 또 다른 실시양태에서, inhKIR-CAR이 정상, 비-암성 세포에 결합하는 것은 actKIR-CAR의 신호 전달의 억제를 발생시킨다. 또 다른 실시양태에서, inhKIR-CAR이 정상, 비-암성 세포에 결합하는 것은 actKIR-CAR T 세포가 그의 항종양 활성을 나타내는 것을 방지하는 신호전달 신호의 유도를 발생시킨다. 따라서, 본 발명의 적어도 1개의 inhKIR-CAR 및 적어도 1개의 actKIR-CAR을 포함하는 이중 KIR-CAR은 이중 KIR-CAR T 세포의 활성을 조절하기 위한 메카니즘을 제공한다.

[0348] 한 실시양태에서, 본 발명은 정상의 건강한 조직의 고갈은 최소화하면서 KIR-CAR T 세포 요법을 사용하여 암 및 다른 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 암은 혈액 악성종양, 고형 종양, 원발성 또는 전이성 종양일 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법을 사용하여 치료가능한 다른 질환은 바이러스, 박테리아 및 기생충 감염, 뿐만 아니라 자가면역 질환을 포함한다.

[0349] 세포외 힌지 도메인

[0350] 본원에 사용된 용어 세포외 힌지 도메인은 막횡단 도메인과 항원 결합 도메인 사이에 배치된 NKR-CAR의 폴리펩티드 서열을 지칭한다. 한 실시양태에서 세포외 힌지 도메인은 세포의 외부 표면 및 항원 결합 도메인으로부터

의 충분한 거리, 뿐만 아니라 세포와 항원 결합 도메인 사이의 입체 장애를 최소화하기 위한 가요성을 허용한다. 한 실시양태에서 세포외 힌지 도메인은 충분히 짧고, NKR-CAR을 포함하는 세포의 항원 보유 세포, 예를 들어 표적 세포와의 연관을 방해하지 않는 가요성이 있다. 한 실시양태에서 세포외 힌지 도메인은 2 내지 20, 5 내지 15, 7 내지 12, 또는 8 내지 10개의 아미노산 길이이다. 한 실시양태에서 힌지 도메인은 적어도 50, 20, 또는 10개의 잔기를 포함한다. 실시양태에서 힌지는 10 내지 300, 10 내지 250, 또는 10 내지 200개의 잔기 길이이다. 한 실시양태에서 힌지가 세포로부터 연장된 거리는 충분히 짧고, 힌지는 표적 세포의 표면과의 연관을 저해하지 않는다. 한 실시양태에서 힌지는 세포독성 세포의 표면으로부터 20, 15, 또는 10 나노미터 미만으로 연장된다. 따라서, 힌지 적합성은 둘 다의 선형 길이, 아미노산 잔기의 수 및 힌지의 가요성에 의해 영향을 받을 수 있다. IgG4 힌지는 200개의 아미노산 길이만큼 길 수 있지만, 세포독성 세포의 표면으로부터 연장된 거리는 Ig-도메인 폴딩으로 인해 더 짧다. ~43개 아미노산인 CD8알파 힌지는 다소 선형으로 ~ 8 nm 길이이다. 대조적으로, IgG4 C2 & C3 힌지는 ~200개 아미노산 길이이지만, CD8 알파 힌지의 그것과 대등한 세포독성 세포 표면으로부터의 거리를 갖는다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 연장에서의 유사성은 가요성에 의해 영향을 받는다.

[0351] 일부 경우에, 세포외 힌지 도메인은, 예를 들어 인간 단백질, 그의 단편, 또는 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커로부터의 힌지이다.

[0352] 일부 실시양태에서, 힌지는 인공 서열이다. 한 실시양태에서, 힌지는 글리신-세린 이중체를 포함하는 짧은 올리고펩티드 링커이다.

[0353] 일부 실시양태에서, 힌지는 자연 발생 서열이다. 일부 실시양태에서, 힌지는 인간 Ig (이뮤노글로불린) 힌지 또는 그의 단편일 수 있다. 한 실시양태에서, 예를 들어 힌지는 IgG4 힌지의 아미노산 서열 (서열식별번호: 3)을 포함한다 (예를 들어, 그로 이루어진다). 한 실시양태에서, 예를 들어 힌지는 IgD 힌지의 아미노산 서열 (서열식별번호: 4)을 포함한다 (예를 들어, 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 힌지는 인간 CD8 힌지 또는 그의 단편일 수 있다. 한 실시양태에서, 예를 들어 힌지는 CD8 힌지의 아미노산 서열 (서열식별번호: 2)을 포함한다 (예를 들어, 그로 이루어진다). 예시적인 힌지 도메인의 추가의 서열은 표 5에 제공된다.

[0354] TCAR

[0355] 일부 실시양태에서, 본 발명의 CAR 세포 요법은 NKR-CAR을 TCAR과 조합하여 포함한다. 실시양태에서, 본 발명의 CAR 세포 요법은 추가로 TCAR을 포함하는, 예를 들어 TCAR을 발현하는 본원에 기재된 NKR-CAR-발현 세포를 포함한다. 대안적 실시양태에서, 본 발명의 CAR 세포 요법은 본원에 기재된 NKR-CAR을 발현하는 제1 세포 및 TCAR을 발현하는 제2 세포를 포함한다.

[0356] 한 실시양태에서, TCAR은 세포내 도메인, 예를 들어 세포질 도메인에 융합된 항원 결합 도메인을 포함한다. 실시양태에서, 세포질 도메인은 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 융합된 세포외 도메인, 예를 들어 항원 결합 도메인이 대응 리간드에 결합할 경우에 세포내 신호를 생성한다. 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, TCAR 분자는 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포에서의 발현을 위해 구축될 수 있고, 이에 따라 TCAR 분자는 전형적으로 면역 세포와 회합된 폴리펩티드로부터 유래된 도메인, 예를 들어 1차 세포내 신호전달 도메인, 공동자극 신호전달 도메인, 억제 도메인 등을 포함한다. 예를 들어, 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포에서의 발현을 위한 TCAR은 4-1BB 도메인 및 CD3 제타 도메인을 포함할 수 있다. 이 경우에, 4-1BB 및 CD3 제타 도메인 둘 다는 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포와 회합된 폴리펩티드로부터 유래된다. 또 다른 실시양태에서, TCAR 분자는 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포에서의 발현을 위해 구축될 수 있고, 이에 따라 TCAR 분자는 전형적으로 면역 세포와 회합되지 않은 폴리펩티드로부터 유래된 도메인을 포함한다. 대안적으로, NK 세포에서의 발현을 위한 TCAR은 T 세포로부터 유래된 4-1BB 도메인 및 CD3 제타 도메인을 포함할 수 있다 (예를 들어 본원에 참조로 포함되는 WO2013/033626 참조).

[0357] 하기 섹션은 본원에 기재된 NKR-CAR 및 TCAR의 구축 및 발현, 및 그의 사용 방법에 관한 것이다.

[0358] 항원 결합 도메인

[0359] 본원에 기재된 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 KIR-CAR 및 TCAR은 세포외 영역에 항원 결합 도메인을 포함한다. 본원에 사용된 용어 "항원 결합 도메인"은 표적 항원, 전형적으로 표적 세포, 예를 들어 암 세포 상의 항원에 대해 친화도를 갖는 분자를 지칭한다. 예시적인 항원 결합 도메인은 폴리펩티드, 예를 들어 항체 분자 (이는 항체 및 그의 항원 결합 단편, 예를 들어 이뮤노글로불린, 단일 도메인 항체 (sdAb), 및 scFv를 포함함), 또는

비-항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴 등을 포함한다. 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 단일 폴리펩티드이다. 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 1, 2개 또는 그 초과의 폴리펩티드를 포함한다.

[0360] 항원 결합 도메인의 선택은 표적 세포의 표면을 규정하는 리간드 또는 수용체의 유형 및 수에 의존할 수 있다. 예를 들어, 항원 결합 도메인은 특정한 질환 상태와 연관된 표적 세포 상의 세포 표면 마커로서 작용하는 리간드 또는 수용체를 인식하도록 선택될 수 있다. 리간드 또는 수용체로서 작용할 수 있는 세포 표면 마커의 예는 특정한 질환 상태와 연관된 세포 표면 마커, 예를 들어 바이러스성 질환, 박테리아성 질환 기생충 감염, 자가면역 질환 및 원치 않는 세포 증식와 연관된 장애, 예를 들어 암, 예를 들어 본원에 기재된 암에 대한 세포 표면 마커를 포함한다.

[0361] 본 개시내용과 관련하여, "종양 항원" 또는 "증식성 장애 항원" 또는 "증식성 장애와 연관된 항원"은 특정 증식성 장애에 공통인 항원을 지칭한다. 특정 측면에서, 본 발명의 증식성 장애 항원은 원발성 또는 전이성 흑색종, 흉선종, 림프종, 육종, 폐암 (예를 들어, NSCLC 또는 SCLC), 간암, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 백혈병, 다발성 골수종, 교모세포종, 신경모세포종, 자궁암, 자궁경부암, 신암, 갑상선암, 방광암, 신장암 및 선암종, 예컨대 유방암, 전립선암, 난소암, 췌장암, 결장암 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 암으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 암은 B-세포 급성 림프성 백혈병 ("BALL"), T-세포 급성 림프성 백혈병 ("TALL"), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 급성 골수 백혈병 (AML); 만성 골수 백혈병 (CML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1개 이상 만성 백혈병; B 세포 전림프구성 백혈병, 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 모발상 세포 백혈병, 소세포- 또는 대세포-여포성 림프종, 악성 림프증식성 조건, MALT 림프종, 외투 세포 림프종, 변연부 림프종, 다발성 골수종, 골수이형성증 및 골수이형성 증후군, 비-호지킨 림프종, 형질모구성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증을 포함하나 이에 제한되지는 않는 추가의 혈액암 또는 혈액 상태이다.

[0362] 한 실시양태에서, 종양 항원은 포유동물의 암 종양으로부터 유래된 종양 침윤 림프구 (TIL)에 의해 면역학적으로 인식되는 1종 이상의 항원 암 에피토프를 포함한다.

[0363] 종양 항원은 면역 반응, 특히 T-세포 매개 면역 반응을 도출하는, 종양 세포에 의해 생산되는 단백질이다. 본 발명의 항원 결합 도메인의 선택은 치료될 암의 특정한 유형에 의존할 것이다. 종양 항원은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 국제 출원 PCT/US2015/020606에 기재된 종양 항원을 포함한다. 실시양태에서, 종양 항원은 신경교종-연관 항원, 암배아성 항원 (CEA), EGFRvIII, 인터류킨-11 수용체 알파 (IL-11Ra), 인터류킨-13 수용체 서브유닛 알파-2 (IL-13Ra 또는 CD213A2), 표피 성장 인자 수용체 (EGFR), B7H3 (CD276), Kit (CD117), 탄산 안히드라제 (CA-IX), CS-1 (CD2 하위세트 1로도 지칭됨), 뮤신 1, 세포 표면 연관 (MUC1), BCMA, 절단점 클러스터 영역 (BCR) 및 아벨슨 뮤린 백혈병 바이러스 종양유전자 상동체 1 (Abl)로 이루어진 종양유전자 융합 단백질 bcr-abl, 수용체 티로신-단백질 키나제 ERBB2 (HER2/neu), β-인간 융모성 고나도트로핀, 알파태아단백질 (AFP), 역형성 림프종 키나제 (ALK), CD19, CD123, 시클린 B1, 렉틴-반응성 AFP, Fos-관련 항원 1, 아드레날린수용체 베타 3 (ADRB3), 티로글로불린, 티로시나제; 에프린 유형-A 수용체 2 (EphA2), 진행성 당화 최종산물에 대한 수용체 (RAGE-1), 신장 유비퀴토스 1 (RU1), 신장 유비퀴토스 2 (RU2), 활막 육종, X 절단점 2 (SSX2), A 키나제 앵커 단백질 4 (AKAP-4), 림프구-특이적 단백질 티로신 키나제 (LCK), 프로아크로신 결합 단백질 sp32 (OY-TES1), 쌍형성 박스 단백질 Pax-5 (PAX5), T 세포 3에 의해 인식되는 편평 세포 암종 항원 (SART3), C-유형 렉틴-유사 분자-1 (CLL-1 또는 CLECL1), 푸코실 GM1, globoH 글리코세라미드의 헥사사카라이드 부분 (GloboH), MN-CA IX, 상피 세포 부착 분자 (EPCAM), EVT6-AML, 트랜스글루타미나제 5 (TGS5), 인간 텔로머라제 역전사효소 (hTERT), 폴리시알산, 태반-특이적 1 (PLAC1), 장 카르복실 에스테라제, 루이스Y 항원, 시알릴 루이스 부착 분자 (sLe), 림프구 항원 6 착물, 로커스 K 9 (LY6K), 돌연변이된 열 쇼크 단백질 70-2 (mut hsp70-2), M-CSF, v-myc 조류 골수구종증 바이러스 종양유전자 신경모세포종 유도된 상동체 (MYCN), Ras 상동체 패밀리 구성원 C (RhoC), 티로시나제-관련 단백질 2 (TRP-2), 시토크롬 P450 1B1 (CYP1B1), CCCTC-결합 인자 (아연 핑거 단백질)-유사 (BORIS 또는 각인된 부위의 조절제의 Brother), 프로스타제, 전립선-특이적 항원 (PSA), 쌍형성 박스 단백질 Pax-3 (PAX3), 전립선 산 포스파타제 (PAP), 암/고환 항원 1 (NY-ESO-1), 암/고환 항원 2 (LAGE-1a), LMP2, 신경 세포 부착 분자 (NCAM), 종양 단백질 p53 (p53), p53 돌연변이체, 래트 육종 (Ras) 돌연변이체, 당단백질 100 (gp100), 프로스테인, OR51E2, 파넥신 3 (PANX3), 전립선-특이적 막 항원 (PSMA), 전립선 줄기 세포 항원 (PSCA), , 고분자량-흑색종-연관 항원 (HMWMAA), A형 간염 바이러스 세포 수용체 1 (HAVCR1), 혈관 내피 성장 인자 수용체 2 (VEGFR2), 혈소판-유래 성장 인자 수용체 베타 (PDGFR-베타), 레구마인, 인간 유두종 바이러스 E6 (HPV E6), 인간 유두종 바이러스 E7 (HPV E7), 서바이빈, 텔로머라제, 정자 단백질 17 (SPA17), 단계-특이적 배아 항원-4 (SSEA-4), 티로시나제, TCR 감마 대안적 리딩 프레임 단백질

(TARP), 윌름스 종양 단백질 (WT1), 전립선-암종 종양 항원-1 (PCTA-1), 흑색종 아폽토시스 억제제 (ML-IAP), MAGE, 흑색종-연관 항원 1 (MAGE-A1), 흑색종 암 고환 항원-1 (MAD-CT-1), 흑색종 암 고환 항원-2 (MAD-CT-2), T 세포 1에 의해 인식되는 흑색종 항원 (MelanA/MART1), X 항원 패밀리, 구성원 1A (XAGE1), 돌연변이된 신장 인자 2 (ELF2M), ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), N-아세틸 글루코사미닐-트랜스퍼라제 V (NA17), 호중구 엘라스타제, 육종 전위 절단점, 유선 분화 항원 (NY-BR-1), 에프린B2, CD20, CD22, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44v6, CD97, CD171, CD179a, 안드로겐 수용체, 인슐린 성장 인자 (IGF)-I, IGF-II, IGF-I 수용체, 강글리오시드 GD2 (GD2), o-아세틸-GD2 강글리오시드 (OAcGD2), 강글리오시드 GD3 (aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer), 강글리오시드 GM3 (aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer), G 단백질-커플링된 수용체 부류 C 군 5, 구성원 D (GPRC5D), G 단백질-커플링된 수용체 20 (GPR20), 염색체 X 오픈 리딩 프레임 61 (CXORF61), 폴레이트 수용체 (FRa), 폴레이트 수용체 베타, 수용체 티로신 키나제-유사 고아 수용체 1 (ROR1), Fms-유사 티로신 키나제 3 (Flt3), 종양-연관 당단백질 72 (태그72), Tn 항원 (TN Ag 또는 (GalNAcα-Ser/Thr)), 안지오포이에틴-결합 세포 표면 수용체 2 (Tie 2), 종양 내피 마커 1 (TEM1 또는 CD248), 종양 내피 마커 7-관련 (TEM7R), 클라우딘 6 (CLDN6), 갑상선 자극 호르몬 수용체 (TSHR), 우로플라킨 2 (UPK2), 메소텔린, 프로테아제 세린 21 (테스티신 또는 PRSS21), 표피 성장 인자 수용체 (EGFR), 섬유모세포 활성화 단백질 알파 (FAP), 후각 수용체 51E2 (OR51E2), 염색체 12p 상에 위치한 ETS 전위-변이체 유전자 6 (ETV6-AML), CD79a; CD79b; CD72; 백혈구-연관 이뮤노글로불린-유사 수용체 1 (LAIR1); IgA 수용체의 Fc 단편 (FCAR 또는 CD89); 백혈구 이뮤노글로불린-유사 수용체 서브패밀리 A 구성원 2 (LILRA2); CD300 분자-유사 패밀리 구성원 f (CD300LF); C-유형 렉틴 도메인 패밀리 12 구성원 A (CLEC12A); 골수 기질 세포 항원 2 (BST2); EGF-유사 모듈-함유 뮤신-유사 호르몬 수용체-유사 2 (EMR2); 림프구 항원 75 (LY75); 글리피칸-3 (GPC3); Fc 수용체-유사 5 (FCRL5); 및 이뮤노글로불린 람다-유사 폴리펩티드 1 (IGLL1)로부터 선택된다. 바람직한 실시양태에서, 종양 항원은 폴레이트 수용체 (FRa), 메소텔린, EGFRvIII, IL-13Ra, CD123, CD19, CD33, BCMA, GD2, CLL-1, CA-IX, MUC1, HER2, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0364] 한 실시양태에서, 종양 항원은 악성 종양과 연관된 1개 이상의 항원 암 에피토프를 포함한다. 악성 종양은 면역 공격에 대한 표적 항원으로서 역할을 할 수 있는 다수의 단백질을 발현한다. 이들 분자는 흑색종에서의 조직-특이적 항원, 예컨대 MART-1, 티로시나제 및 GP 100 및 전립선암에서의 전립선 산 포스파타제 (PAP) 및 전립선-특이적 항원 (PSA)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 다른 표적 항원은 변환-관련 분자, 예컨대 종양유전자 HER-2/Neu/ErbB-2를 포함한다. 표적 항원의 또 다른 군은 종양태아성 항원, 예컨대 암배아성 항원 (CEA)이다. B-세포 림프종에서, 종양-특이적 이디오타입 이뮤노글로불린은 개별 종양에 대해 고유한, 진정한 종양-특이적 이뮤노글로불린 항원을 구성한다. B-세포 분화 항원, 예컨대 CD19, CD20 및 CD37은 B-세포 림프종에서의 표적 항원에 대한 다른 후보이다.

[0365] 종양 항원의 비제한적 예는 분화 항원, 예컨대 MART-1/MelanA (MART-I), gp100 (Pmel 17), 티로시나제, TRP-1, TRP-2 및 종양-특이적 다계열 항원, 예컨대 MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15; 과다발현된 배아 항원, 예컨대 CEA; 과다발현된 종양유전자 및 돌연변이된 종양-억제 유전자, 예컨대 p53, Ras, HER-2/neu; 염색체 전위로부터 생성된 고유 종양 항원; 예컨대 BCR-ABL, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR; 및 바이러스 항원, 예컨대 엡스타인 바르 바이러스 항원 EBVA 및 인간 유두종바이러스 (HPV) 항원 E6 및 E7을 포함한다. 다른 큰, 단백질-기반 항원은 TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, RAGE, NY-ESO, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23H1, 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 15-3₩CA 27.29₩BCAA, CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68₩P1, CO-029, FGF-5, G250, Ga733₩EpCAM, HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90/Mac-2 결합 단백질/시클로필린 C-연관 단백질, TAAL6, TAG72, TLP, 및 TPS를 포함한다.

[0366] 표적화될 목적 항원에 따라, 본 발명의 CAR은 목적 항원 표적에 특이적인 적절한 항원 결합 도메인을 포함하도록 조작될 수 있다.

[0367] 항체 분자로부터 유래된 항원 결합 도메인

[0368] 항원 결합 도메인은 항체 분자, 예를 들어 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 재조합 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 단일-도메인 항체, 예를 들어 인간 또는 낙타류 기원으로부터의 예를 들어 중쇄 가변 도메인 (VH), 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 가변 도메인 (VHH) 중 1종 이상으로부터 유래될 수 있다. 일부 경우에, 항원 결합 도메인은 CAR이 궁극적으로 사용될 동일한 종으로부터 유래되는 것이 유익하고, 예를 들어 인간에서의 사용을 위해, CAR, 예를 들어 본원에 기재된, 예를 들어 KIR-CAR의 항원 결합 도메인은 인간 또는 인간화 항원 결합 도메인을

포함하는 것이 유익할 수 있다. 항체는 관련 기술분야에 공지된, 공지된 기술을 사용하여 수득될 수 있다.

[0369] 특정 측면에서, scFv는 리더 서열과 인접하여 동일한 리딩 프레임 내에 존재한다. 한 측면에서 리더 서열은 서열식별번호: 1로 제공된 아미노산 서열이다.

[0370] 한 측면에서, 항원 결합 도메인은 단편, 예를 들어 단일 쇄 가변 단편 (scFv)이다. 한 측면에서, 항원 결합 도메인은 Fv, Fab, (Fab')2, 또는 이중-기능적 (예를 들어 이중-특이적) 하이브리드 항체이다 (예를 들어, Lanzavecchia et al., Eur. J. Immunol. 17, 105 (1987)). 한 측면에서, 본 발명의 항체 및 그의 단편은 종양 항원 단백질 또는 그의 단편에 야생형 또는 증진된 친화도로 결합한다.

[0371] 일부 경우에, scFv는 관련 기술분야에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Bird et al., (1988) Science 242:423-426 및 Huston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883] 참조). 상기 및 다른 곳에서 기재된 바와 같이, scFv 분자는 VH 및 VL 쇄를 가요성 폴리펩티드 링커를 사용하여 함께 연결시킴으로써 생성될 수 있다. 일부 실시양태에서, scFv 분자는 최적 길이 및/또는 아미노산 조성을 갖는 가요성 폴리펩티드 링커를 포함한다. 가요성 폴리펩티드 링커 길이는 scFv의 가변 영역이 폴딩하고 상호작용하는 방식에 크게 영향을 미칠 수 있다. 실제로, 짧은 폴리펩티드 링커가 사용된 경우에 (예를 들어, 5-10개 아미노산), 쇄내 폴딩이 방지된다. 쇄간 폴딩은 또한 2개의 가변 영역을 함께 모아 기능적 에피토프 결합 부위를 형성하기 위해 필요하다. 링커 배향 및 크기의 예에 대해서는, 예를 들어 본원에 참조로 포함된 문헌 [Hollinger et al. 1993 Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448], 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0100543, 2005/0175606, 2007/0014794, 및 PCT 공개 번호 WO2006/020258 및 WO2007/024715를 참조한다.

[0372] scFv는 그의 VL 및 VH 영역 사이에 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50개, 또는 그 초과의 아미노산 잔기의 링커를 포함할 수 있다. 링커 서열은 임의의 자연 발생 아미노산을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, scFv의 펩티드 링커는 가변 중쇄 및 가변 경쇄 영역을 함께 연결하기 위해 단독으로 또는 조합되어 사용되는 아미노산, 예컨대 글리신 및/또는 세린 잔기로 이루어진다. 한 실시양태에서, 가요성 폴리펩티드 링커는 Gly/Ser 링커이고, 예를 들어 아미노산 서열 (Gly-Gly-Gly-Ser)n을 포함하며, 여기서 n은 1 이상의 양의 정수이다 (서열식별번호: 40). 예를 들어, n=1, n=2, n=3. n=4, n=5 및 n=6, n=7, n=8, n=9 및 n=10. 한 실시양태에서, 가요성 폴리펩티드 링커는 (Gly4 Ser)4 (서열식별번호: 27) 또는 (Gly4 Ser)3 (서열식별번호: 28)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 또 다른 실시양태에서, 링커는 (Gly2Ser), (GlySer) 또는 (Gly3Ser)의 다중 반복을 포함한다 (서열식별번호: 29).

[0373] 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 단일 도메인 항원 결합 (SDAB) 분자이다. SDAB 분자는 상보성 결정 영역이 단일 도메인 폴리펩티드의 일부인 분자를 포함한다. 예는 중쇄 가변 도메인, 자연적으로 경쇄가 결여된 결합 분자, 통상적인 4-쇄 항체로부터 유래된 단일 도메인, 조작된 도메인 및 항체로부터 유래된 것 이외의 단일 도메인 스캐폴드 (예를 들어, 하기에 보다 상세하게 기재됨)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. SDAB 분자는 임의의 관련 기술분야의 것, 또는 임의의 향후 단일 도메인 분자일 수 있다. SDAB 분자는 마우스, 인간, 낙타, 라마, 어류, 상어, 염소, 토끼 및 소를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 이 용어는 또한 낙타과 및 상어 이외의 종으로부터의 자연 발생 단일 도메인 항체 분자를 포함한다.

[0374] 한 측면에서, SDAB 분자는 어류에서 발견된 이뮤노글로불린의, 예컨대 예를 들어 상어의 혈청에서 발견된 신규 항원 수용체 (NAR)로서 공지된 이뮤노글로불린 이소형으로부터 유래된 가변 영역으로부터 유래될 수 있다. NAR의 가변 영역으로부터 유래된 단일 도메인 분자 ("IgNAR")를 생산하는 방법은 WO 03/014161 및 문헌 [Streltsov (2005) Protein Sci. 14:2901-2909]에 기재되어 있다.

[0375] 또 다른 측면에 따르면, SDAB 분자는 경쇄가 결여된 중쇄로서 공지된 자연 발생 단일 도메인 항원 결합 분자이다. 이러한 단일 도메인 분자는 예를 들어 WO 9404678 및 문헌 [Hamers-Casterman, C. et al. (1993) Nature 363:446-448]에 개시되어 있다. 명확성을 위해, 자연적으로 경쇄가 결여된 중쇄 분자로부터 유래된 이러한 가변 도메인은 4쇄 이뮤노글로불린의 통상적인 VH와 구별하기 위해 본원에서 VHH 또는 나노바디로 공지된다. 이러한 VHH 분자는 낙타과 종으로부터, 예를 들어 낙타, 라마, 단봉낙타, 알파카 및 구아나코에서 유래될 수 있다. 낙타과 외에도 다른 종이 자연적으로 경쇄가 결여된 중쇄 분자를 생산할 수 있고; 이러한 VHH는 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0376] 특정 실시양태에서, SDAB 분자는 상보적 가변 도메인 또는 이뮤노글로불린 불변, 예를 들어 Fc 영역이 결여된, 1개 이상의 단일 도메인 분자 (예를 들어, 나노바디)를 포함하는 단일 쇄 융합 폴리펩티드이고, 이는 1개 이상의 표적 항원에 결합한다.

[0377] SDAB 분자는 재조합, CDR-그라프팅, 인간화, 낙타화, 탈-면역화 및/또는 시험관내 생성될 (예를 들어, 파지 디스플레이에 의해 선택될) 수 있다.

[0378] 한 실시양태에서, 항원 결합 도메인 부분은 인간 항체 또는 그의 단편을 포함한다.

[0379] 일부 실시양태에서, 비-인간 항체는 인간화되고, 항체의 특정 서열 또는 영역은 인간에서 자연적으로 생산되는 항체에 대한 유사성을 증가시키도록 변형된다. 한 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 인간화된다.

[0380] 비 인간 항체는 다양한 관련 기술분야에 공지된 기술, 예를 들어 CDR-그라프팅 (예를 들어, 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 유럽 특허 번호 EP 239,400; 국제 공개 번호 WO 91/09967; 및 미국 특허 번호 5,225,539, 5,530,101, 및 5,585,089 참조), 베니어링 또는 재표면화 (예를 들어, 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 유럽 특허 번호 EP 592,106 및 EP 519,596; 문헌 [Padlan, 1991, Molecular Immunology, 28(4/5):489-498; Studnicka et al., 1994, Protein Engineering, 7(6):805-814; 및 Roguska et al., 1994, PNAS, 91:969-973] 참조), 쇄 셔플링 (예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 5,565,332 참조), 및 예를 들어 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 공개 번호 US2005/0042664, 미국 특허 출원 공개 번호 US2005/0048617, 미국 특허 번호 6,407,213, 미국 특허 번호 5,766,886, 국제 공개 번호 WO 9317105, 문헌 [Tan et al., 2002, J. Immunol., 169:1119-25; Caldas et al., 2000, Protein Eng., 13(5):353-60; Morea et al., 2000, Methods, 20:267-79; Baca et al., 1997, J. Biol. Chem., 272:10678-84; Roguska et al., 1996, Protein Eng., 9(10):895-904; Couto et al., 1995, Cancer Res., 55 :5973s-5977; Couto et al., 1995, Cancer Res., 55(8):1717-22; Sandhu 1994 Gene, 150(2):409-10; and Pedersen et al., 1994, J. Mol. Biol., 235(3):959-73]에 개시된 기술을 사용하여 인간화될 수 있다. 종종, 프레임워크 영역 내의 프레임워크 잔기는 항원 결합을 변경하기 위해, 예를 들어 개선시키기 위해 CDR 공여자 항체로부터의 상응하는 잔기로 치환될 것이다. 이들 프레임워크 치환은 관련 기술분야에 널리 공지된 방법, 예를 들어 항원 결합에 중요한 프레임워크 잔기를 확인하기 위한 CDR과 프레임워크 잔기의 상호작용의 모델링 및 특정한 위치에서 비통상적인 프레임워크 잔기를 확인하기 위한 서열 비교에 의해 확인된다. (예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 5,585,089 (Queen et al.); 및 문헌 [Riechmann et al., 1988, Nature, 332:323] 참조). 바람직한 실시양태에서, 인간화 항체 분자는 본원에 기재된 서열, 예를 들어 본원에 기재된 가변 경쇄 및/또는 가변 중쇄, 예를 들어 표 4에 기재된 인간화 가변 경쇄 및/또는 가변 중쇄를 포함한다.

[0381] 인간화 항체는 비인간인 공급원으로부터의 것에 도입된 1개 이상의 아미노산 잔기를 갖는다. 이들 비인간 아미노산 잔기는 종종 "유입" 잔기로 지칭되고, 전형적으로 "유입" 가변 도메인으로부터 유래된다. 따라서, 인간화 항체는 비인간 이뮤노글로불린 분자로부터의 1개 이상의 CDR 및 인간으로부터의 프레임워크 영역을 포함한다. 항체의 인간화는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 설치류 CDR 또는 CDR 서열로 인간 항체의 상응하는 서열을 치환함으로써, 즉 CDR-그라프팅 (EP 239,400; PCT 공개 번호 WO 91/09967; 및 미국 특허 번호 4,816,567; 6,331,415; 5,225,539; 5,530,101; 5,585,089; 6,548,640, 그의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 의해 본질적으로 윈터(Winter)와 그의 동료들의 방법에 따라 수행될 수 있다 (Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988)). 이러한 인간화 키메라 항체에서, 무손상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 더 작은 부분이 비인간 종으로부터의 상응하는 서열에 의해 치환된 바 있다. 실제로, 인간화 항체는 전형적으로 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 프레임워크 (FR) 잔기가 설치류 항체의 유사한 부위로부터의 잔기에 의해 치환된 인간 항체이다. 항체의 인간화는 또한 베니어링 또는 재표면화 (EP 592,106; EP 519,596; 문헌 [Padlan, 1991, Molecular Immunology, 28(4/5):489-498; Studnicka et al., Protein Engineering, 7(6):805-814 (1994); 및 Roguska et al., PNAS, 91:969-973 (1994)]) 또는 쇄 셔플링 (미국 특허 번호 5,565,332)에 의해 달성될 수 있고, 상기 참고문헌의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0382] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 추가로 본원에 개시된 VH 및/또는 VL 서열 중 1개 이상을 갖는 항체를 사용하여 제조되고, 이는 변형된 항체를 조작하기 위해 출발 물질로서 사용될 수 있으며, 변형된 항체는 출발 항체와 비교하여 변경된 특성을 가질 수 있다. 다양한 실시양태에서, 항체는 하나 또는 둘 다의 가변 영역 (즉, VH 및/또는 VL) 내의, 예를 들어 1개 이상의 CDR 영역 내 및/또는 1개 이상의 프레임워크 영역 내의 1개 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 조작된다.

[0383] 또 다른 측면에서, 항원 결합 도메인은 T 세포 수용체 ("TCR") 또는 그의 단편, 예를 들어 단일 쇄 TCR (scTCR)이다. 이러한 TCR의 제조 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Willemsen RA et al, Gene Therapy 7: 1369-1377 (2000); Zhang T et al, Cancer Gene Ther 11: 487-496 (2004); Aggen et al,

Gene Ther. 19(4):365-74 (2012)]을 참조한다 (참고문헌은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). 예를 들어, 링커 (예를 들어, 가요성 펩티드)에 의해 연결된 T 세포 클론으로부터의 Vα 및 Vβ 유전자를 함유하는 scTCR이 조작될 수 있다. 이러한 접근법은 그 자체는 세포내에 있지만 이러한 항원의 단편 (펩티드)이 MHC에 의해 암 세포의 표면 상에 제시되는 암 연관 표적에 대해 매우 유용하다.

[0384] 실시양태에서, 본원에 기재된 NKR-CAR 또는 TCAR 분자는 본원에 기재된 종양 항원에 특이적으로 결합하는 scFv를 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 본원에 기재된 종양 항원에 특이적으로 결합하는 scFv의 아미노산 서열이 표 4에 제공된다. 일부 실시양태에서, 표 4에 제공된 scFv 서열의 CDR을 밑줄표시한다. 주어진 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 카바트(Kabat) 또는 코티아(Chothia), 또는 카바트 및 코티아 넘버링 스킴의 조합에 의해 기재된 것을 포함한 다수의 널리-공지된 넘버링 스킴 중 임의의 것을 사용하여 결정될 수 있다.

[0385] 표 4에 제공된 scFv 서열은 scFv의 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 연결하는 링커 서열을 포함한다. 링커 서열은 본원에 기재된 임의의 링커 서열, 예를 들어 표 5에 제공된 링커 서열일 수 있다.

[0386] 또한, 표 4에 제공된 scFv 서열 중 일부가 리더 서열, 예를 들어 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 반면에, 표 4에 제공된 scFv 서열 중 일부는 리더 서열, 예를 들어 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하지 않는다는 것을 주목한다. 리더 서열, 예를 들어 서열식별번호: 1이 있거나 없는 표 4에 제공된 scFv 서열이 또한 본 발명에 포괄된다. 통상의 기술자는 표 4에 제공된 서열을 용이하게 사용하여 리더 서열, 예를 들어 서열식별번호: 1의 아미노산 서열이 있거나 없는 CAR의 scFv 또는 항원 결합 도메인을 생성할 수 있다.

[0387] Table 4: 예시적인 항원 결합 도메인

[0388]

표적 항원	명칭	아미노산 서열	SEQ ID NO:
CD19	huscFv1	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLH SGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGG GSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGK GLEWIGVIWGSETTYYSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS	161
CD19	huscFv2	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlh sgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggg gsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgk glewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakh	162

		yyyggsyamdywgqgtlvtvss	
CD19	huscFv3	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdyw gqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdis kylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfav yfcqqgntlpytfgqgtkleik	163
CD19	huscFv4	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdyw gqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdis kylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfav yfcqqgntlpytfgqgtkleik	164
CD19	huscFv5	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlh sgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggg gsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswir qppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavy ycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss	165
CD19	huscFv6	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlh sgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggg gsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswir qppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavy ycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss	166
CD19	huscFv7	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdyw gqgtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscra sqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqp edfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik	167
CD19	huscFv8	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdyw gqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscra sqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqp edfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik	168
CD19	huscFv9	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlh sgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggg gsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswir qppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavy ycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss	169
CD19	Hu scFv10	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdyw gqgtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscra sqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqp edfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik	170
CD19	Hu scFv11	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlh sgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggg gsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgk glewigviwgsettyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakh yyyggsyamdywgqgtlvtvss	171
CD19	Hu scFv12	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdyw gqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdis kylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfav yfcqqgntlpytfgqgtkleik	172
CD19	muCTL 019	Diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlh sgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqggntlpytfgggtkleitggg gsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprk glewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakh yyyggsyamdywgqgtsvtvss	173

[0389]

CD123	Mu1172	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNTFMHWYQQKPGQPPKL LIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPPTF GAGTKLELKGGGGSGGGGSSGGGSQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASG YIFTNYGMNWVKQAPGKSFKWMGWINTYTGESTYSADFKGRFAFSLETS ASTAYLHINDLKNEDTATYFCARSGGYDPMDYWGQGTSVTVSS	174
CD123	Mu1176	DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKDLAWYQEKPGKTNKLLIYSGS TLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYYCQQHNKYPYTFGGGTK LEIKGGGGSGGGGSSGGGSQVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTS YWMNWVKQRPDQGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKSSSTAY MQLSSLTSEDSAVYYCARGNWDDYWGQGTTLTVSS	175
CD123	huscFv1	DivltqspdslavslgeratincrasesvdnygntfmhwyqqkpgqppkllIyrasnlesgvpdrfsgsgsrtdftl tisslqaedvavyycqqsnedpptfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqiqlvqsgselkkpgasvkv sckasgyiftnygmnwvrqapgqglewmgwintytgestysadfkgrfvfsldtsvstaylqinalkaedtavy ycarsggydpmdywgqgttvtvss	176
CD123	huscFv2	DivltqspdslavslgeratincrasesvdnygntfmhwyqqkpgqppkllIyrasnlesgvpdrfsgsgsrtdftl tisslqaedvavyycqqsnedpptfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqiqlvqsgaevkkpgasvk vsckasgyiftnygmnwvrqapgqrlewmgwintytgestysadfkgrvtitldtsastaymelsslrsedtavy ycarsggydpmdywgqgttvtvss	177
CD123	huscFv3	Eivltqspatlslspgeratlscrasesvdnygntfmhwyqqkpgqaprlliyrasnlesgiparfsgsgsrtdftltis slepedvavyycqqsnedpptfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqiqlvqsgselkkpgasvkvsc kasgyiftnygmnwvrqapgqglewmgwintytgestysadfkgrfvfsldtsvstaylqinalkaedtavyyc arsggydpmdywgqgttvtvss	178
CD123	huscFv4	Eivltqspatlslspgeratlscrasesvdnygntfmhwyqqkpgqaprlliyrasnlesgiparfsgsgsrtdftltis slepedvavyycqqsnedpptfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqiqlvqsgaevkkpgasvkvs ckasgyiftnygmnwvrqapgqrlewmgwintytgestysadfkgrvtitldtsastaymelsslrsedtavyyc arsggydpmdywgqgttvtvss	179
CD123	huscFv5	Qiqlvqsgselkkpgasvkvsckasgyiftnygmnwvrqapgqglewmgwintytgestysadfkgrfvfsl dtsvstaylqinalkaedtavyycarsggydpmdywgqgttvtvssggggsggggsggggsggggsdivltqs pdslavslgeratincrasesvdnygntfmhwyqqkpgqppkllIyrasnlesgvpdrfsgsgsrtdftltisslqae dvavyycqqsnedpptfgqgtkleik	180
CD123	huscFv6	Qiqlvqsgselkkpgasvkvsckasgyiftnygmnwvrqapgqglewmgwintytgestysadfkgrfvfsl dtsvstaylqinalkaedtavyycarsggydpmdywgqgttvtvssggggsggggsggggsggggseivltqsp atlslspgeratlscrasesvdnygntfmhwyqqkpgqaprlliyrasnlesgiparfsgsgsrtdftltisslepedv avyycqqsnedpptfgqgtkleik	181
CD123	huscFv7	Qiqlvqsgaevkkpgasvkvsckasgyiftnygmnwvrqapgqrlewmgwintytgestysadfkgrvtitld tsastaymelsslrsedtavyycarsggydpmdywgqgttvtvssggggsggggsggggsggggsdivltqsp dslavslgeratincrasesvdnygntfmhwyqqkpgqppkllIyrasnlesgvpdrfsgsgsrtdftltisslqaed vavyycqqsnedpptfgqgtkleik	182
CD123	huscFv8	Qiqlvqsgaevkkpgasvkvsckasgyiftnygmnwvrqapgqrlewmgwintytgestysadfkgrvtitld tsastaymelsslrsedtavyycarsggydpmdywgqgttvtvssggggsggggsggggsggggseivltqspa tlslspgeratlscrasesvdnygntfmhwyqqkpgqaprlliyrasnlesgiparfsgsgsrtdftltisslepedva vyycqqsnedpptfgqgtkleik	183
CD123	인간 123-1	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDMN ILATVPFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISTYLNWYQQKPGKAPNLLIYAAFSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFATYY CQQGDSVPLTFGGGTKLEIK	184
CD123	인간 123-2	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYMELSRLRSDDTAVYYCARDMN ILATVPFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYY CQQGDSVPLTFGGGTRLEIK	185
CD123	인간 123-3	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTGYYIHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSGLRSDDPAVYYCARDMN ILATVPFDIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYY CQQGDSVPLTFGGGTKVEIK	186

[0390]

CD123	인간 123-4	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGAEVKKSGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWLRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYMELSRLRSDDTAVYYCARDMN ILATVPFDIWGQGTMVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQGDSVPLTFGGGTKVEIK	187
CD123	hzCAR-1	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQA PGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNW DDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASK SISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC QQHNKYPYTFGGGTKVEIK	188
CD123	hzCAR-2	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	189
CD123	hzCAR-3	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	190
CD123	hzCAR-4	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	191
CD123	hzCAR-5	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	192
CD123	hzCAR-6	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	193
CD123	hzCAR-7	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	194
CD123	hzCAR-8	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	195
CD123	hzCAR-9	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	196
CD123	hzCAR-10	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	197
CD123	hzCAR-11	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	198
CD123	hzCAR-12	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG	199

[0391]

		NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	
CD123	hzCAR-13	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	200
CD123	hzCAR-14	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	201
CD123	hzCAR-15	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	202
CD123	hzCAR-16	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	203
CD123	hzCAR-17	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	204
CD123	hzCAR-18	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	205
CD123	hzCAR-19	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	206
CD123	hzCAR-20	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	207
CD123	hzCAR-21	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	208
CD123	hzCAR-22	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	209
CD123	hzCAR-23	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	210
CD123	hzCAR-24	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA	211

[0392]

		MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	
CD123	hzCAR-25	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	212
CD123	hzCAR-26	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	213
CD123	hzCAR-27	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	214
CD123	hzCAR-28	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK	215
CD123	hzCAR-29	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	216
CD123	hzCAR-30	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	217
CD123	hzCAR-31	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	218
CD123	hzCAR32	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS	219
EGFR vIII	huscFv1	Eiqlvqsgaevkkpgatvkisckgsgfniedyyihwvqqapgkglewmgridpendetkygpifqgrvtitad tstntvymelsslrsedtavyycafrggvywgqgttvtvssggggsggggsggggsggggsdvvmtqspdsla vslgeratinckssqslldsdgktylnwlqqkpgqppkrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftltisslqaedvavy ycwqgthfpgtfgggtkveik	220
EGFR vIII	huscFv2	Dvvmtqspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwlqqkpgqppkrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdf tltisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkveikggggsggggsggggsggggseiqlvqsgaevkkpgatv kisckgsgfniedyyihwvqqapgkglewmgridpendetkygpifqgrvtitadtstntvymelsslrsedtav yycafrggvywgqgttvtvss	221
EGFR vIII	huscFv3	Eiqlvqsgaevkkpgeslrisckgsgfniedyyihwvrqmpgkglewmgridpendetkygpifqghvtisad tsintvylqwsslkasdtamyycafrggvywgqgttvtvssggggsggggsggggsggggsdvvmtqsplslp vtlgqpasisckssqslldsdgktylnwlqqrpgqsprrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgv yycwqgthfpgtfgggtkveik	222
EGFR vIII	huscFv4	Dvvmtqsplslpvtlgqpasisckssqslldsdgktylnwlqqrpgqsprrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftl kisrveaedvgvyycwqgthfpgtfgggtkveikggggsggggsggggsggggseiqlvqsgaevkkpgeslr isckgsgfniedyyihwvrqmpgkglewmgridpendetkygpifqghvtisadtsintvylqwsslkasdta myycafrggvywgqgttvtvss	223
EGFR vIII	huscFv5	Eiqlvqsgaevkkpgatvkisckgsgfniedyyihwvqqapgkglewmgridpendetkygpifqgrvtitad tstntvymelsslrsedtavyycafrggvywgqgttvtvssggggsggggsggggsggggsdvvmtqsplslpv tlgqpasisckssqslldsdgktylnwlqqrpgqsprrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgvy	224

[0393]

		ycwqgthfpgtfgggtkveik	
EGFR vIII	huscFv6	Eiqlvqsgaevkkpgeslrisckgsgfniedyyihwvrqmpgkglewmgridpendetkygpifqghvtisadtsintvylqwsslkasdtamyycafrggvywgqgttvtvssggggsggggsggggsggggsdvvmtqspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwlqqkpgqppkrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftltisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkveik	225
EGFR vIII	huscFv7	Dvvmtqspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwlqqkpgqppkrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftltisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkveikggggsggggsggggsggggseiqlvqsgaevkkpgeslrisckgsgfniedyyihwvrqmpgkglewmgridpendetkygpifqghvtisadtsintvylqwsslkasdtamyycafrggvywgqgttvtvss	226
EGFR vIII	huscFv8	Dvvmtqsplslpvtlgqpasisckssqslldsdgktylnwlqqrpgqsprrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgvyycwqgthfpgtfgggtkveikggggsggggsggggsggggseiqlvqsgaevkkpgatvkisckgsgfniedyyihwvqqapgkglewmgridpendetkygpifqgrvtitadtstntvymelsslrsedtavyycafrggvywgqgttvtvss	227
EGFR vIII	Mu310C	eiqlqqsgaelvkpgasvklsctgsgfniedyyihwvkqrteqglewigridpendetkygpifqgratitadtssntvylqlssltsedtavyycafrggvywgpgttltvssggggsggggsggggshmdvvmtqspltlsvaigqsasisckssqslldsdgktylnwllqrpgqspkrlislvskldsgvpdrftgsgsgtdftlrisrveaedlgiyycwqgthfpgtfgggtkleik	228
메소텔린	ss1 (mu)	Q V Q L Q Q S G P E L E K P G A S V K I S C K A S G Y S F T G Y T M N W V K Q S H G K S L E W I G L I T P Y N G A S S Y N Q K F R G K A T L T V D K S S S T A Y M D L L S L T S E D S A V Y F C A R G G Y D G R G F D Y W G Q G T T V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S D I E L T Q S P A I M S A S P G E K V T M T C S A S S S V S Y M H W Y Q Q K S G T S P K R W I Y D T S K L A S G V P G R F S G S G S G N S Y S L T I S S V E A E D D A T Y Y C Q Q W S G Y P L T F G A G T K L E I	229
메소텔린	M5 (인간)	QVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCASGWDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYYLSWYQQKPGKAPKLLIYTASILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQTYTTPDFGPGTKVEIK	234
메소텔린	M11 (인간)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQNFQGRVTMTRDTSISTAYMELRRLRSDDTAVYYCASGWDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYYLSWYQQKPGKAPKLLIYTASILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQTYTTPDFGPGTKVEIK	240
메소텔린	M1 (인간)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARGRYYGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSNFAWYQQRPGQAPRLLIYDASNRATGIPPRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAAYYCHQRSNWLYTFGQGTKVDIK	230
메소텔린	M2 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDLRRTVVTPRAYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQDISNSLNWYQQKAGKAPKLLIYDASTLETGVPSRFSGSGSGTDFSFTISSLQPEDIATYYCQQHDNLPLTFGQGTKVEIK	231
메소텔린	M3 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGAPVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGEWDGSYYYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSINTYLNWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFSPLTFGGGTKLEIK	232
메소텔린	M4 (인간)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQVPGKGLVWVSRINTDGSTTTYADSVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRDDDTAVYYCVGGHWAVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISD	233

[0394]

		RLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFAVY YCQQYGHLPMYTFGQGTKVEIK	
메소텔린	M6 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSG GSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARYRLIAVAGDYYY YGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRV TITCRASQGVGRWLAWYQQKPGTAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT INNLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTRLEIK	235
메소텔린	M7 (인간)	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDG SNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWKVSSSSPAFDY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAILSCR ASQSVYTKYLGWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRL EPEDFAVYYCQHYGGSPLITFGQGTRLEIK	236
메소텔린	M8 (인간)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYPFTGYSLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNS GGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDHYGGNSLFYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSISASVGDTVSITCRAS QDSGTWLAWYQQKPGKAPNLLMYDASTLEDGVPSRFSGSASGTEFTLTVNRLQPE DSATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVDIK	237
메소텔린	M9 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSG GSTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVHMELSSLRSEDTAVYYCARGGYSSSSDAFDI WGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPPSLSASVGDRVTITCR ASQDISSALAWYQQKPGTPPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQFSSYPLTFGGGTRLEIK	238
메소텔린	M10 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYN GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARVAGGIYYYYGMD VWGQGTTITVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPDSLAVSLGERATISC KSSHSVLYNRNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLFYWASTRKSGVPDRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYFCQQTQTFPLTFGQGTRLEIN	239
메소텔린	M12 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNS GGTNYAQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARTTTSYAFDIWGQ GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPNLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDD FATYYCQQYNTYSPYTFGQGTKLEIK	241
메소텔린	M13 (인간)	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCEASGFIFSDYYMGWIRQAPGKGLEWVSYIGRSG SSMYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAASPVVAATEDFQH WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPATLSLSPGERATLSCR ASQSVTSNYLAWYQQKPGQAPRLLLFGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRL EPEDFAMYYCQQYGSAPVTFGQGTKLEIK	242
메소텔린	M14 (인간)	QVQLVQSGAEVRAPGASVKISCKASGFTFRGYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSG GSRAYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSDDTAMYYCARTASCGGDCYYLD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPPTLSASVGDRVTITC RASENVNIWLAWYQQKPGKAPKLLIYKSSSLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYQSYPLTFGGGTKVDIK	243
메소텔린	M15 (인간)	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNS GSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGSSSWSWGYFD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDALR SYYASWYQQKPGQAPMLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSDSGDTASLTITGAQAEDEA DYYCNSRDSSGYPVFGTGTKVTVL	244
메소텔린	M16 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNS GSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSSSWYGGGSAF DIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQEPAVSVALGQTVRITCQGDSL RSYYASWYQQKPGQAPVLVIFGRSRRPSGIPDRFSGSSSGNTASLIITGAQAEDE ADYYCNSRDNTANHYVFGTGTKLTVL	245
메소텔린	M17 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNS GSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSSSWYGGGSAF DIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSL RSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDE	246

[0395]

		ADYYCNSRGSSGNHYVFGTGTKVTVL	
메소텔린	M18 (인간)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDG SSTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRTGWVGSYYYYMD VWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC RASQSVSSNYLAWYQQKPGQPPRLLIYDVSTRATGIPARFSGGGSGTDFTLTISS LEPEDFAVYYCQQRSNWPPWTFGQGTKVEIK	247
메소텔린	M19 (인간)	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDG SNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGYSRYYYYGMDV WGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERAILSCR ASQSVYTKYLGWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRL EPEDFAVYYCQHYGGSPLITFGQGTKVDIK	248
메소텔린	M20 (인간)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKREAAAGHDWYFD LWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIRVTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSYSIPLTFGQGTKVEIK	249
메소텔린	M21 (인간)	QVQLVQSWAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSG GSTSYAQKFQGRVTMIRDTSTSTVYMELSNLRSEDTAVYYCARSPRVTTGYFDYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRA SQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP DDFATYYCQQYSSYPLTFGGGTRLEIK	250
메소텔린	M22 (인간)	QVQLVQSGAEVRRPGASVKISCRASGDTSTRHYIHWLRQAPGQGPEWMGVINPTT GPATGSPAYAQMLQGRVTMTRDTSTRTVYMELRSLRFEDTAVYYCARSVVGRSAP YYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQGISDYSAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISYLQSEDFATYYCQQYYSYPLTFGGGTKVDIK	251
메소텔린	M23 (인간)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSG GYTTYAQKFQGRLTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARIRSCGGDCYYFD NWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITC RASENVNIWLAWYQQKPGKAPKLLIYKSSSLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYQSYPLTFGGGTKVDIK	252
메소텔린	M24 (인간)	QITLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGVHVGWIRQPPGKALEWLALISW ADDKRYRPSLRSRLDITRVTSKDQVVLSMTNMQPEDTATYYCALQGFDGYEANWG PGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASAGDRVTITCRAS RGISSALAWYQQKPGKPPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTIDSLEPE DFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVDIK	253
CLL-1	139115 (인간)	EVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYA QKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDLEMATIMGGYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKL MIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLDVVFGGGTKL TVL	254
CLL-1	139116 (인간)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISGDGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCARVFDSYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG SGGGGSGSGGSEIVLTQSPLSLPVTPGQPASISCRSSQSLVYTDGNTYLNWFQQRPGQSPR RLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQGTHWSFTFGQGTRLEI K	255
CLL-1	139118 (인간)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYY NPSLKSRVSISVDTSKNQFSLKLKYVTAADTAVYYCATPGTYYDFLSGYYPFYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKA PKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPYTFGQGTKL EIK	256
CLL-1	139122 (인간)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINEDGSAKFYV DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFCARDLRSGRYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGGRATLSCRASQSISGSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGA SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPTFGLGTKLEIK	257
CLL-1	139117 (인간)	EVQLQQSGPGLVRPSETLSLTCTVSGGPVRSGSHYWNWIRQPPGRGLEWIGYIYYSGSTNY NPSLENRVTISIDTSNNHFSLKLSSVTAADTALYFCARGTATFDWNFPFDSWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGSGSGGSDIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK	258

[0396]

		LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKLEIK	
CLL-1	139119 (인간)	QVQLQESGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWVGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGSGLVVYAIRVGSGWFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGDSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLMYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPWTFGQGTKVDIK	259
CLL-1	139120 (인간)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPSSSGSYYMEDSYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPTTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNQVVFGGGTKLTVL	260
CLL-1	139121 (인간)	QVNLRESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYEMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREALGSSWEWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKLEIK	261
CLL-1	146259 (인간)	QVQLVQSGAEVKEPGASVKVSCKAPANTFSDHVMHWVRQAPGQRFEWMGYIHAANGGTHYSQKFQDRVTITRDTSANTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGYNSDAFDIWGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQDISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFNGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK	262
CLL-1	146261 (인간)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLSVRAIDAFDIWGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQQAYSTPFTFGPGTKVEIK	263
CLL-1	146262 (인간)	EVQLVQSGGGVVRSGRSLRLSCAASGFTFNSYGLHWVRQAPGKGLEWVALIEYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDKSKSTLYLQMDNLRAEDTAVYYCAREGNEDLAFDIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQFIKKNLNWYQHKPGKAPKLLIYDASSLQTGVPSRFSGNRSGTTFSFTISSLQPEDVATYYCQQHDNLPLTFGGGTKVEIK	264
CLL-1	146263 (인간)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVSSNYMTWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGATYYGDSVKGRFTVSRDNSKNTVYLQMNRLTAEDTAVYYCARDRLYCGNNCYLYYYYGMDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQVTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPLTFGQGTKVEIK	265
CLL-1	146264 (인간)	QVQLVQSGAEVKKSGASVKVSCKASGYPFTGYYIQWVRQAPGQGLEWMGWIDPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCASDSYGYYYGMDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTFTCRASQGISSALAWYQQKPGKPPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIK	266
CLL-1	181268 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYEMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPYSSSWHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVDIK	267
BCMA	139103 (인간)	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYYGGMDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKLEIK	268
BCMA	139105 (인간)	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCSVHSFLAYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKVEIK	269
BCMA	139111 (인간)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPPQLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGAYYCMQNIQFPSFGGGTKLEIK	270
BCMA	139100 (인간)	QVQLVQSGAEVRKTGASVKVSCKASGYIFDNFGINWVRQAPGQGLEWMGWINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCARGPYYYQSYMDVWGQGTMVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLNWYLQKPG	271

[0397]

		QSPQLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSGTDFTLHITRVGAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGT KLEIK	
BCMA	139101 (인간)	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGTTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLDSSGYYYARGPRYWGQGTLVTVS SASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYGASTLASGVPARFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFGQGTKVE IK	272
BCMA	139102 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYA QKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPYYYYMDVWGKGTMVTVSSASGG GGSGGRASGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFKLQISRVEAEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQGTKV EIK	273
BCMA	139104 (인간)	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAA SVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGRASGGGGSEIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGA STRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSLTFGGGTKVEIK	274
BCMA	139106 (인간)	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAA SVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGRASGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSKLAWYQQKPGQAPRLLMYGA SIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCQQYGSSSWTFGQGTKVEIK	275
BCMA	139107 (인간)	EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAA SVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPWTFGQGTKVEIK	276
BCMA	139108 (인간)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARESGDGMDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTLAFGQGTKVDIK	277
BCMA	139109 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAA SVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK	278
BCMA	139110 (인간)	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTIYYA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSTMVREDYWGQGTLVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSDIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPGQSP RRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPGTFGQGTKLE IK	279
BCMA	139112 (인간)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAA SVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGRASGGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDINKFLNWYHQTPGKAPKLLIYDA STLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYYCQQYESLPLTFGGGTKVEIK	280
BCMA	139113 (인간)	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAA SVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGRASGGGGSETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIYGA STRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVTFGQGTKVEIK	281
BCMA	139114 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAA SVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYG ASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPFTFGQGTKVEIK	282
BCMA	149362 (인간)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSAYY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARHWQEWPDAFDIWGQGTMVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSETTLTQSPAFMSATPGDKVIISCKASQDIDDAMNWYQQKPGEAPLFI IQSATSPVPGIPPRFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFPLTFGQGTKLEIK	283
BCMA	149363 (인간)	VNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCVSWIRQPPGKALEWLARIDWDEDKFYS TSLKTRLTISKDTSDNQVVLRMTNMDPADTATYYCARSGAGGTSATAFDIWGPGTMVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNNLAWFQLKPGSAPRS LMYAANKSQSGVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSFGQGTKLEIK	284
BCMA	149364 (인간)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTIAAVYAFDIWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPEEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLE IK	285

[0398]

[0399]

BCMA	149365 (인간)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLRGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSSYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNIGTKSVHWYQQKPGQAPLLVIRDDS VRPSKIPGRFSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYCQVWDSDSEHVVFGGGTKLTVL	286
BCMA	149366 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYTVTSHYIHWVRRAPGQGLEWMGMINPSGGVTAYS QTLQGRVTMTSDTSSSTVYMELSSLRSEDTAMYYCAREGSGSGWYFDFWGRGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKAGQSPVVLIS RDKERPSGIPDRFSGSNSADTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDDTTVVFGGGTKLTVL	287
BCMA	149367 (인간)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYY NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARAGIAARLRGAFDIWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVIITCRASQGIRNWLAWYQQKPGKAPN LLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGADFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNSAPFTFGPGTKVDI K	288
BCMA	149368 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYA QKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYQLLRWDVGLLRSAFDIWGQG TMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKP GQAPVLVLYGKNNRPSGVPDRFSGSRSGTTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGDHLRVF GTGTKVTVL	289
BCMA	149369 (인간)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYS FYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYYCARSSPEGLFLYWFDPWGQGTLVT VSSGGDGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTIRITCQGDSLGNYYATWYQQKPGQAP VLVIYGTNNRPSGIPDRFSASSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGHHLLFGTGTK VTVL	290
BCMA	EBB-C1978-A4 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVEGSGSLDYWGQGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKPGQPPRLLIS GASTRAIGIPDRFGGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFNGSSLFTFGQGTRLE IK	291
BCMA	EBB-C1978-G1 (인간)	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWVRQAPGKGLEWVSGISDSG VSTYYADSAKGRFTISRDNSKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVTRAGSEASDIWGQ GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNSL AWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQ FGTSSGLTFGGGTKLEIK	292
BCMA	EBB-C1979-C1 (인간)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQGTMVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQA PRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTR LEIK	293
BCMA	EBB-1978-C7 (인간)	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQGTTVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSTLSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQA PRLLIYGSSNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTK VEIK	294
BCMA	EBB-1978-D10	EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARVGKAVPDVWGQGTTVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSDIVMTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYSFGQGTRLEIK	295
BCMA	EBB-1979-C12 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPGKGLEWVASINWKGNSLAYG DSVKGRFAISRDNAKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYCASHQGVAYYNYAMDVWGRGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPR LLIYGASQRATGIPDRFSGRGSGTDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSWTFGQGTKVE IK	296
BCMA	EBB-1980-G4 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVVRDGMDVWG QGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSY LAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QYGSPPRFTFGPGTKVDIK	297
BCMA	EBB-1980-D2 (인간)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKIPQTGTFDYWGQGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSWTFGQGTRLEIK	298

BCMA	EBB-1978-A10 (인간)	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYYCARANYKRELRYYY GMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGESATLSCR ASQRVASNYLAWYQHKPGQAPSLLISGASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLAISRLEP EDSAVYYCQHYDSSPSWTFGQGTKVEIK	299
BCMA	EBB-1978-D4	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKALVGATGAFDIWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQKPGQAPGLL IYGASNWATGTPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQYYGTSPMYTFGQGTKVEIK	300
BCMA	EBB-1980-A2 (인간)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVLWFGEGFDPWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSDIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVDIK	301
BCMA	EBB-1981-C3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVGYDSSGYYRDYYGMDVWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGTSSRATGISDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPKFTFGP GTKLEIK	302
BCMA	EBB-1978-G4 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKMGWSSGYLGAFDIWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPR LLIYGASGRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGSPRLTFGGGTKVD IK	303
BCMA	인간화 huscFv BCMA1	Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S N Y W M H W V R Q A P G Q G L E W M G A T Y R G H S D T Y Y N Q K F K G R V T I T A D K S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G A I Y N G Y D V L D N W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C S A S Q D I S N Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y Y T S N L H S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y R K L P W T F G Q G T K L E I K R	304
BCMA	인간화 huscFv BCMA2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSNLHSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YRKLPWTFGQ GTKLEIKRGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSQV QLVQSGAEVK KPGSSVKVSC KASGGTFSNY WMHWVRQAPG QGLEWMGATYRGHSDTYYNQ KFKGRVTITA DKSTSTAYME LSSLRSEDTA VYYCARGAIYNGYDVLDNWGQGTLVTVSS	305
CD33	141643 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYS PSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARLGGSLPDYGMDVWGQGTMVTVSSA SGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTLITFGQG TKVDIK	306
CD33	141644 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYIFTNYYVHWVRQAPGQGLEWMGIISPSGGSPTYA QRLQGRVTMTRDLSTSTVYMELSSLTSEDTAVYFCARESRLRGNRLGLQSSIFDHWGQGTL VTVSSASGGGGSGGGGSGGGGSDIRMTQSPPSLSASVGDRVTIPCQASQDINNHLNWYQQK PGKAPQLLIYDTSNLEIGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYENLPLTFGG GTKVEIK	307
CD33	141645 (인간)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEDTIRGPNYYYYGMDVWGQGTTVT VSSASGGGGSGGGGSGGGGSETTLTQSPSSVSASVGDRVSITCRASQDIDTWLAWYQLKPG KAPKLLMYAASNLQGGVPSRFSGSGSGTDFILTISSLQPEDFATYYCQQASIFPPTFGGGT KVDIK	308
CD33	141646 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYS PSFQGQVTISADKSITTAYLQWSSLRASDSAMYYCARGGYSDYDYYFDFWGQGTLVTVSSA SGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPFTFGGG TKVEIK	309
CD33	141647 (인간)	QVQLVQSGGDLAQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWPDGGQKYYG DSVKGRFTVSRDNPKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCVRHFNAWDYWGQGTLVTVSSASGGGG SGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSAYVGGRVTITCQASQGISQFLNWFQQKPGKAPKLLISD	310

[0400]

		ASNLEPGVPSRFSGSGSGTDFTFTITNLQPEDIATYYCQQYDDLPLTFGGGTKVEIK	
CD33	141648 (인간)	QVQLVQSGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSIFAMHWVRQAPGKGLEWVATISYDGSNAFYA DSVEGRFTISRDNSKDSLYLQMDSLRPEDTAVYYCVKAGDGGYDVFDSWGQGTLVTVSSAS GGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPTFGPGTK VDIK	311
CD33	141649 (인간)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKETDYYGSGTFDYWGQGTLVTVSSA SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQGIGIYLAWYQQRSGKPPQ LLIHGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFASYWCQQSNNFPPTFGQGTKVEI K	312
CD33	141650 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYMFTDFFIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGVTKYA QKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCATWYSSGWYGIANIWGQGTMVTVSSA SGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASHDISNYLHWYQQKPGKAPK LLIYDASNLETGVPSRFTGSGSGTDFTLTIRSLQPEDVAAYYCQQSDDLPHTFGQGTKVDI K	313
CD33	141651 (인간)	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYS PSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHGPSSWGEFDYWGQGTLVTVSSAS GGGGSGGGGSGGGGSDIRLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVDIK	314
CD33	2213 (인간화)	NIMLTQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSVFFSSSQKNYLAWYQQIPGQSPKLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQSEDLAIYYCHQYLSSRTFGGGTKLE IKRGGGGSGGGGSSGGGSQVQLQQPGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYYIHWI KQTPGQGLEWVGVIYPGNDDISYNQKFKGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSEDSA VYYCAREVRLRYFDVWGAGITVTVSS	315
CD33	My96 (인간화)	EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSSQKNYLAWYQQIPGQSPRLLIY WASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQPEDLAIYYCHQYLSSRTFGQGTKLE IKRGGGGSGGGGSSGGGSQVQLQQPGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYYIHWI KQTPGQGLEWVGVIYPGNDDISYNQKFQGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSEDSA VYYCAREVRLRYFDVWGQGTTVTVSS	316
클라우딘6	muMA B 64A	EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGLINPYN GGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQG TTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSS VSYMHWFQQKPGTSPKLCIYSTSNLASGVPARFSGRGSGTSYSLTISRVAAEDAA TYYCQQRSNYPPWTFGGGTKLEIK	317
클라우딘6	mAb20 6-LCC	EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGLINPYN GGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQG TTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSS VSYLHWFQQKPGTSPKLWVYSTSNLPSGVPARFGGSGSGTSYSLTISRMEAEDAA TYYCQQRSIYPPWTFGGGTKLEIK	318
클라우딘6	mAb20 6-SUBG	EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGLINPYN GGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQG TTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSS VSYMHWFQQKPGTSPKLGIYSTSNLASGVPARFSGRGSGTSYSLTISRVAAEDAA TYYCQQRSNYPPWTFGGGTKLEIK	319
WT1	ESK-1	QAVVTQPPSA SGTPGQRVTI SCSGSSSNIG SNTVNWYQQV PGTAPKLLIY SNNQRPSGVPDRFSGSKSGT SASLAISGLQ SEDEADYYCA AWDDSLNGWV FGGGTKLTVL GSRGGGGSGG GGSGGGGSLE MAQMQLVQSG AEVKEPGESL RISCKGSGYS FTNFWISWVR QMPGKGLEWM	320
WT1	WT1-2	QTVVTQPPSA SGTPGQRVTI SCSGSSSNIG SNYVYWYQQL PGTAPKLLIYRSNQRPSGVP DRFSGSKSGT SASLAISGPR SVDEADYYCA AWDDSLNGVV FGGGTKLTVL GSRGGGGSGG GGSGGGSLEM AQVQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGGTF SSYAISWVRQ APGQGLEWMG GIIPIFGTAN YAQKFQGRVT ITADESTSTA YMELSSLRSE DTAVYYCARR IPPYYGMDVW GQGTTVTVSS	321
WT1	WT1-3	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ SYSTPLTFGG GTKVDIKRSR GGGGSGGGGS GGGGSLEMAQ VQLQQSGPGL VKPSQTLSLT CAISGDSVSS NSAAWNWIRQ SPSRGLEWLG RTYYGSKWYN DYAVSVKSRI TINPDTSKNQ FSLQLNSVTP EDTAVYYCAR GRLGDAFDIW GQGTMVTVSS	322
WT1	WT1-4	DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQNIN KWLAWYQQRP GKAPQLLIYK	323

[0401]

		ASSLESGVPS RFSGSGSGTE YTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNSYATFGQG TKVEIKRSRG GGGSGGGGSG GGGSLEMAQV QLVQSGAEVK KPGESLKISC KGSGYNFSNK WIGWVRQLPG RGLEWIAIIY PGYSDITYSP SFQGRVTISA DTSINTAYLH WHSLKASDTA MYYCVRHTAL AGFDYWGLGT LVTVSS	
WT1	WT1-5	QSVVTQPPSV SVAPGKTARI TCGRNNIGSK SVHWYQQKPG QAPVLVVYDD SDRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISRVEAG DEADYYCQVW DSSSDHVVFG GGTKLTVLGS RGGGGSGGGG SGGGSLEMAEV QLVQSGGGVV RPGGSLRLSC AASGFTFDDY GMSWVRQAPG KGLEWVSGIN WNGGSTGYAD SVRGRFTISR DNAKNSLYLQ MNSLRAEDTA LYYCARERGY GYHDPHDYWG QGTLVTVSS	324
WT1	WT1-6	QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG AGYDVHWYQQ LPGTAPKLLI YGNSNRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAISGL QSEDEADYYC AAWDDSLNGY VFGTGTKLTV LGSRGGGGSG GGGSGGGGSL EMAEVQLVET GGGLLQPGGS LRLSCAASGF SVSGTYMGWV RQAPGKGLEW VALLYSGGGT YHPASLQGRF IVSRDSSKNM VYLQMNSLKA EDTAVYYCAK GGAGGGHFDS WGQGTLVTVS S	325
WT1	WT1-7	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSQ IDPWGQETLY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKLT GRFDYWGQGT LVTVSSGGGG SGGGGSGGGG STDIQMTQSP SSLSASVGDR VTITCRASQS ISSYLNWYQQ KPGKAPKLLI YSASQLQSGV PSRFSGSGSG TDFTLTISSL QPEDFATYYC QQGPGTPNTF GQGTKVEIKR A	326

[0402]

[0403] 한 실시양태에서, 메소텔린에 대한 항원 결합 도메인은 표 4에 기재된 항-메소텔린 결합 도메인의 항원 결합 부

분, 예를 들어 CDR, 예를 들어 ss1, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, 10, M11, M12, M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19, M20, M21, M22, M23, 또는 M24, 예를 들어 ss1, M5 또는 M11이다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 대한 항원 결합 도메인은 표 4에 기재된 인간 항-메소텔린 결합 도메인의 인간 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR, 예를 들어 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, 10, M11, M12, M13, M14, M15, M16, M17, M18, M19, M20, M21, M22, M23, 또는 M24, 예를 들어 M5 또는 M11이다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 항원 결합 도메인은 본원에 참조로 포함된 WO 2015/090230의 표 2-3에 따른 항원 결합 도메인이다.

[0404] 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 인간 항원 결합 도메인은 뮤린 항원 결합 도메인 SS1에 의해 결합되는 에피토프 (표 4에 제공됨)와 동일한 에피토프에 결합한다. 한 실시양태에서, 메소텔린에 결합하는 인간 항원 결합 도메인은 뮤린 항원 결합 도메인 SS1 (표 4에 제공됨)에 의해 결합되는 에피토프와 상이한 에피토프에 결합한다. 본원에 참조로 포함되는 WO 2015/090230에 기재된 바와 같이, 표 4에 기재된 M-5 및 M-11 인간 항-메소텔린 결합 도메인은 SS1과 상이한 에피토프에 결합한다.

[0405] 한 실시양태에서, CLL-1에 대한 항원 결합 도메인은 알앤디(R&D), 이바이오사이언스(ebiosciences), 압캠(Abcam)으로부터 입수가능한 항체의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR, 예를 들어 PE-CLL1-hu Cat# 353604 (바이오레전드(BioLegend)); 및 PE-CLL1 (CLEC12A) Cat# 562566 (BD)이다. 한 실시양태에서, CLL-1에 대한 항원 결합 부분은 표 4에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR, 예를 들어 139115, 139116, 139117, 139118, 139119, 139120, 139121, 139121, 139122, 146259, 146261, 146262, 146263, 146264 또는 181286이다.

[0406] 한 실시양태에서, CD123에 대한 항원 결합 도메인은 표 4에 기재된 항-CD123 결합 도메인의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR, 예를 들어 CD123-1, CD123-2, CD123-3, CD123-4, 또는 hzCAR1-32이다. 한 실시양태에서, CD123에 대한 항원 결합 도메인은 본원에 참조로 포함된 WO 2014/130635의 표 1-2에 따른 항원 결합 도메인이다. 한 실시양태에서, CD33에 대한 항원 결합 도메인은 예를 들어 문헌 [Bross et al., Clin Cancer Res 7(6):1490-1496 (2001) (겜투주맙 오조가미신, hP67.6), Caron et al., Cancer Res 52(24):6761-6767 (1992) (린투주맙, HuM195), Lapusan et al., Invest New Drugs 30(3):1121-1131 (2012) (AVE9633), Aigner et al., Leukemia 27(5): 1107-1115 (2013) (AMG330, CD33 BiTE), Dutour et al., Adv hematol 2012:683065 (2012), 및 Pizzitola et al., Leukemia doi:10.1038/Lue.2014.62 (2014)]에 기재된 항체의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR이다. 한 실시양태에서, CD33에 대한 항원 결합 부분은 표 4에 기재된 항-CD33 결합 도메인의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR, 예를 들어 141643, 141644, 141645, 141646, 141647, 141648, 141649, 141650, 141651, 2213 또는 My96이다.

[0407] 한 실시양태에서, GD2에 대한 항원 결합 도메인은 예를 들어 문헌 [Mujoo et al., Cancer Res. 47(4):1098-1104 (1987); Cheung et al., Cancer Res 45(6):2642-2649 (1985), Cheung et al., J Clin Oncol 5(9):1430-1440 (1987), Cheung et al., J Clin Oncol 16(9):3053-3060 (1998), Handgretinger et al., Cancer Immunol Immunother 35(3):199-204 (1992)]에 기재된 항체의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR이다. 일부 실시양태에서, GD2에 대한 항원 결합 도메인은 mAb 14.18, 14G2a, ch14.18, hu14.18, 3F8, hu3F8, 3G6, 8B6, 60C3, 10B8, ME36.1, 및 8H9로부터 선택된 항체의 항원 결합 부분이고, 예를 들어, WO2012033885, WO2013040371, WO2013192294, WO2013061273, WO2013123061, WO2013074916, 및 WO201385552를 참조한다. 일부 실시양태에서, GD2에 대한 항원 결합 도메인은 미국 공개 번호 20100150910 또는 PCT 공개 번호 WO 2011160119에 기재된 항체의 항원 결합 부분이다.

[0408] 한 실시양태에서, BCMA에 대한 항원 결합 도메인은 예를 들어 WO2012163805, WO200112812, 및 WO2003062401에 기재된 항체의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR이다. 한 실시양태에서, bcma에 대한 항원 결합 부분은 표 4에 기재된 항-bcma 결합 도메인의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR, 예를 들어, 139100, 139101, 139102, 139103, 139104, 139105, 139106, 139107, 139108, 139109, 139110, 139111, 139112, 139113, 139114, 149362, 149363, 149364, 149365, 149366, 149367, 149368, 149369, EB c1978-A4, EB C1978-G1, EBB C1978-C7, EBB C1978-D10, EBB C1978-A10, EBB C1978-D4, EBB C1978-G4, EBB C1979-C1, EBB C1979-C12, EBB C1980-G4, EBB C1980-D2, EBB C1980-A2, EBB C1981- C3, huscFvBCMA1, 또는 huscFvBCMA2이다.

[0409] 한 실시양태에서, WT-1에 대한 항원 결합 도메인은 예를 들어 문헌 [Dao et al., Sci Transl Med 5(176):176ra33 (2013)]; 또는 WO2012/135854에 기재된 항체의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR이다. 한 실시양태에서, WT1에 대한 항원 결합 도메인은 표 4에 기재된 항-WT1 결합 도메인의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR, 예를 들어 ESK1, WT1-2, WT1-3, WT1-4, WT1-5, WT1-6 또는 WT1-7이다.

[0410] 한 실시양태에서, CLDN6에 대한 항원 결합 도메인은 항체 IMAB027 (가니메드 파마슈티칼스(Ganymed Pharmaceuticals))의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR이고, 예를 들어 clinicaltrial.gov/show/NCT02054351을 참조한다. 한 실시양태에서, CLDN6에 대한 항원 결합 도메인은 표 4에 기재된 항-CLDN6 결합 도메인의 항원 결합 부분, 예를 들어 CDR, 예를 들어 muMAB64A, mAb206-LCC 또는 mAb206-SUBG이다.

[0411] 한 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 상기 열거된 항체로부터의 1, 2, 3 (예를 들어, 모든 3)개의 중쇄 CDR, HC CDR1, HC CDR2 및 HC CDR3 및/또는 상기 열거된 항체로부터의 1, 2, 3 (예를 들어, 모든 3)개의 경쇄 CDR, LC CDR1, LC CDR2 및 LC CDR3을 포함한다. 한 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 상기 열거된 항체의 중쇄 가변 영역 및/또는 가변 경쇄 영역을 포함한다.

[0412] 비-항체 스캐폴드

[0413] 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 비 항체 스캐폴드, 예를 들어 피브로넥틴, 안키린, 도메인 항체, 리포칼린, 소형 모듈 면역제약, 맥시바디, 단백질 A 또는 아필린을 포함한다. 비 항체 스캐폴드는 세포 상의 표적 항원에 결합하는 능력을 갖는다. 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 세포 상에 발현된 자연 발생 단백질의 폴리펩티드 또는 그의 단편이다. 일부 실시양태에서, 항원 결합 도메인은 비-항체 스캐폴드를 포함한다. 생성된 폴리펩티드가 표적 세포 상의 표적 항원에 특이적으로 결합하는 적어도 1개의 결합 영역을 포함하는 한, 매우 다양한 비-항체 스캐폴드가 사용될 수 있다.

[0414] 비-항체 스캐폴드는 피브로넥틴 (노파르티스(Novartis), 매사추세츠주), 안키린 (몰레큘라 파트너스 아게(Molecular Partners AG), 스위스 취리히), 도메인 항체 (도만티스, 리미티드(Domantis, Ltd.), 매사추세츠주 캠브리지 및 아블링스 엔브이(Ablynx nv), 벨기에 츠뷔나아르드), 리포칼린 (피에리스 프로테오랩 아게(Pieris Proteolab AG), 독일 프라이징), 소형 모듈 면역제약 (트루비온 파마슈티칼스 인크.(Trubion Pharmaceuticals Inc.), 워싱턴주 시애틀), 맥시바디 (아비디아, 인크.(Avidia, Inc.), 캘리포니아주 마운틴 뷰), 단백질 A (아피바디 아게(Affibody AG), 스웨덴), 및 아필린 (감마-결정질 또는 유비퀴틴) (실 프로테인스 게엠베하(Scil Proteins GmbH), 독일 할레)을 포함한다.

[0415] 피브로넥틴 스캐폴드는 피브로넥틴 유형 III 도메인 (예를 들어 피브로넥틴 유형 III의 제10 모듈 (^{10} Fn3 도메인))을 기반으로 할 수 있다. 피브로넥틴 유형 III 도메인은 단백질의 코어를 형성하도록 그 자체가 서로에 대해 패킹된 2개의 베타 시트 사이에 분포된 7 또는 8개의 베타 가닥을 갖고, 베타 가닥을 서로 연결하고 용매 노출되는 루프 (CDR과 유사)를 추가로 함유한다. 베타 시트 샌드위치의 각 가장자리에는 적어도 3개의 이러한 루프가 존재하며, 여기서 가장자리는 베타 가닥의 방향에 수직인 단백질의 경계이다 (US 6,818,418 참조). 이러한 구조로 인해, 이러한 비-항체 스캐폴드는 속성 및 친화도가 항체의 그것과 유사한 항원 결합 특성을 모방한다. 이들 스캐폴드는 생체내 항체의 친화도 성숙 과정과 유사한 시험관내 루프 무작위화 및 셔플링 전략에 사용될 수 있다.

[0416] 안키린 기술은 상이한 표적에 대한 결합에 사용될 수 있는 가변 영역을 보유하도록 안키린 유래의 반복 모듈을 갖는 단백질을 스캐폴드로서 사용하는 것을 기반으로 한다. 안키린 반복 모듈은 2개의 역평행 α-헬릭스 및 β-턴으로 이루어진 33개의 아미노산 폴리펩티드이다. 가변 영역의 결합은 리보솜 디스플레이를 사용함으로써 대부분 최적화된다.

[0417] 아비머는 천연 A-도메인 함유 단백질, 예컨대 HER3으로부터 유래된다. 이들 도메인은 본래 단백질-단백질 상호작용을 위해 사용되고, 인간에서는 250종 초과의 단백질이 구조적으로 A-도메인을 기반으로 한다. 아비머는 아미노산 링커를 통해 연결된 다수의 상이한 "A-도메인" 단량체 (2-10개)로 이루어진다. 예를 들어 미국 특허 출원 공개 번호 20040175756; 20050053973; 20050048512; 및 20060008844에 기재된 방법론을 사용하여 표적 항원에 결합할 수 있는 아비머를 생성할 수 있다.

[0418] 아피바디 친화성 리간드는 단백질 A의 IgG-결합 도메인 중 1개의 스캐폴드를 기반으로 하는 3-헬릭스 다발로 구성된 소형의 단순 단백질이다. 단백질 A는 박테리아 스타필로코쿠스 아우레우스(Staphylococcus aureus)로부터의 표면 단백질이다. 이 스캐폴드 도메인은 58개의 아미노산으로 이루어지며, 이 중 13개는 무작위화되어 다수의 리간드 변이체를 갖는 아피바디 라이브러리를 생성한다 (예를 들어, US 5,831,012 참조). 아피바디 분자는 항체를 모방하고, 이는 항체의 분자량이 150 kDa인 것과 비교하여 6 kDa의 분자량을 갖는다. 아피바디 분자는 작은 크기에도 불구하고 그의 결합 부위가 항체의 결합 부위와 유사하다.

[0419] 단백질 에피토프 모방체 (PEM)는 단백질-단백질 상호작용에 수반되는 주요 2차 구조인 단백질의 베타-헤어핀 2

차 구조를 모방하는 중간 크기의, 시클릭, 펩티드-유사 분자 (MW 1-2kDa)이다.

[0420] 미스매칭된 항원 결합 도메인

[0421] 각각 항원 결합 도메인을 포함하는 키메라 막 포매된 수용체 (CMER)의 항원 결합 도메인 사이에서 상호작용하는 복수개의 CMER을 갖는 세포는, 예를 들어 그것이 항원 결합 도메인 중 1개 이상의 그의 동족 항원에 결합하는 능력을 억제하기 때문에, 바람직하지 않을 수 있는 것으로 발견된 바 있다. 따라서, 동일한 세포에서 발현되었을 때 이러한 상호작용을 최소화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 및 제2 비-자연 발생 CMER이 본원에 개시된다. 한 실시양태에서, 복수개의 CMER은 2개의 TCAR을 포함한다. 한 실시양태에서 복수개의 CMER은 TCAR 및 또 다른 CMER을 포함한다. 한 실시양태에서 복수개의 CMER은 2개의 NKR-CAR을 포함한다. 한 실시양태에서 복수개의 CMER은 NKR-CAR 및 또 다른 CMER을 포함한다. 한 실시양태에서 복수개의 CMER은 TCAR 및 NKR-CAR을 포함한다.

[0422] 일부 실시양태에서, 청구되는 본 발명은 제1 및 제2 CMER을 포함하며, 여기서 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER 중 1개의 항원 결합 도메인은 가변 경쇄 도메인 및 가변 중쇄 도메인을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv가 아니다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER 중 1개의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER 중 1개의 항원 결합 도메인은 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER 중 1개의 항원 결합 도메인은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0423] 일부 실시양태에서, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0424] 일부 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 CMER의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 CMER의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않는다. 일부 실시양태에서, 상기 제2 CMER의 존재 하에서의 상기 제1 CMER의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 CMER의 부재 하에서의 상기 제1 CMER의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합의 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다.

[0425] 일부 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER의 항원 결합 도메인은 둘 다 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 더 낮은 정도로 서로 회합한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 CMER 상기 제2 CMER의 항원 결합 도메인은 둘 다 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 더 낮은 정도로 서로 회합한다.

[0426] 일부 실시양태에서, 청구되는 본 발명은 제1 및 제2 KIR-CAR을 포함하며, 여기서 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 가변 경쇄 도메인 및 가변 중쇄 도메인을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv가 아니다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0427] 일부 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0428] 일부 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 KIR-CAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않는다. 일부 실시양태에서, 상기 제2

KIR-CAR의 존재 하에서의 상기 제1 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 KIR-CAR의 부재 하에서의 상기 제1 KIR-CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합의 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다.

[0429] 일부 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR의 항원 결합 도메인은 둘 다 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 더 낮은 정도로 서로 회합한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 KIR-CAR 상기 제2 KIR-CAR의 항원 결합 도메인은 둘 다 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 더 낮은 정도로 서로 회합한다.

[0430] 일부 실시양태에서, 청구되는 본 발명은 제1 및 제2 TCAR을 포함하며, 여기서 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 가변 경쇄 도메인 및 가변 중쇄 도메인을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 것은 scFv가 아니다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인 또는 비-항체 스캐폴드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0431] 일부 실시양태에서, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타류, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 나노바디를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR 중 1개의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 것은 낙타류 VHH 도메인을 포함한다.

[0432] 일부 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 TCAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 TCAR의 존재에 의해 실질적으로 감소되지 않는다. 일부 실시양태에서, 상기 제2 TCAR의 존재 하에서의 상기 제1 TCAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합은 상기 제2 TCAR의 부재 하에서의 상기 제1 TCAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에 대한 결합의 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다.

[0433] 일부 실시양태에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR의 항원 결합 도메인은 둘 다 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 더 낮은 정도로 서로 회합한다. 일부 실시양태에서, 상기 제1 TCAR 상기 제2 TCAR의 항원 결합 도메인은 둘 다 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 더 낮은 정도로 서로 회합한다.

[0434] 이중특이적 CAR

[0435] 한 실시양태에서, 예를 들어 본원에 기재된 NKR-CAR 또는 TCAR에 대한 본원에 기재된 항원 결합 도메인은 다중특이적 항체 분자, 예를 들어 이중특이적 항체 분자를 포함한다. 이중특이적 항체는 2개 이하의 항원에 대해 특이성을 갖는다. 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제1 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다. 한 실시양태에서, 제1 및 제2 에피토프는 동일한 항원, 예를 들어 동일한 단백질 (또는 다량체 단백질의 서브유닛) 상에 존재한다. 한 실시양태에서, 제1 및 제2 에피토프는 중첩된다. 한 실시양태에서, 제1 및 제2 에피토프는 중첩되지 않는다. 한 실시양태에서, 제1 및 제2 에피토프는 상이한 항원, 예를 들어 상이한 단백질 (또는 다량체 단백질의 상이한 서브유닛) 상에 존재한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 중쇄 가변 도메인 서열 및 경쇄 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 중쇄 가변 도메인 서열 및 경쇄 가변 도메인 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체를 포함한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 또는 그의 단편, 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 또는 그의 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 scFv 또는 그의 단편, 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 scFv 또는 그의 단편을 포함한다.

[0436] 특정 실시양태에서, 항체 분자는 다중-특이적 (예를 들어, 이중특이적 또는 삼중특이적) 항체 분자이다. 이중특이적 또는 이종이량체 항체 분자를 생성하기 위한 프로토콜은 관련 기술분야에 공지되어 있고; 예를 들어 US

5731168에 기재된 "노브 인 홀" 접근법; 예를 들어 WO 09/089004, WO 06/106905 및 WO 2010/129304에 기재된 정전기적 스티어링 Fc 쌍형성; 예를 들어 WO 07/110205에 기재된 바와 같은 가닥 교환 조작된 도메인 (SEED) 이종이량체 형성; 예를 들어 WO 08/119353, WO 2011/131746, 및 WO 2013/060867에 기재된 바와 같은 Fab 아암 교환; 예를 들어 US 4433059에 기재된 바와 같은, 아민-반응성 기 및 술프히드릴 반응성 기를 갖는 이종이관능성 시약을 사용하여 이중특이적 구조를 생성하는 항체 가교에 의한 이중 항체 접합체; 예를 들어 US 4444878에 기재된 바와 같은, 2개의 중쇄 사이의 디술피드 결합의 환원 및 산화 주기를 통해 상이한 항체로부터 절반 항체 (중쇄-경쇄 쌍 또는 Fab)를 재조합시킴으로써 생성된 이중특이적 항체 결정기; 삼관능성 항체, 예를 들어 US5273743에 기재된 바와 같은, 예를 들어 술프히드릴 반응성 기를 통해 가교된 3개의 Fab' 단편; 생합성 결합 단백질, 예를 들어 US5534254에 기재된 바와 같은, 예를 들어 C-말단 꼬리를 통해, 바람직하게는 디술피드 또는 아민-반응성 화학적 가교를 통해 가교된 scFv의 쌍; 이중기능적 항체, 예를 들어 US5582996에 기재된 바와 같은, 예를 들어 불변 도메인을 대체한 류신 지퍼 (예를 들어, c-fos 및 c-jun)를 통해 이량체화된 상이한 결합 특이성을 갖는 Fab 단편; 이중특이적 및 올리고특이적 1가- 및 올리고가 수용체, 예를 들어 US5591828에 기재된 바와 같은, 예를 들어 한 항체의 CH1 영역과 전형적으로 경쇄와 회합된 다른 항체의 VH 영역 사이에 폴리펩티드 스페이서를 통해 연결된 2개의 항체 (2개의 Fab 단편)의 VH-CH1 영역; 이중특이적 DNA-항체 접합체, 예를 들어 US5635602에 기재된 바와 같은, 예를 들어 DNA의 이중 가닥 조각을 통한 항체 또는 Fab 단편의 가교; 이중특이적 융합 단백질, 예를 들어 US5637481에 기재된 바와 같은, 예를 들어 2개의 scFv를, 이들과 전체 불변 영역 사이의 친수성 나선 펩티드 링커와 함께 함유하는 발현 구축물; 다가 및 다중특이적 결합 단백질, 예를 들어 US5837242에 기재된 바와 같은, 예를 들어 일반적으로 디아바디로 불리는, Ig 중쇄 가변 영역의 결합 영역을 갖는 제1 도메인, 및 Ig 경쇄 가변 영역의 결합 영역을 갖는 제2 도메인을 갖는 폴리펩티드의 이량체 (이중특이적, 삼중특이적 또는 사중특이적 분자를 생성하는 보다 고차원의 구조가 또한 포괄됨); 예를 들어 US5837821에 기재된 바와 같은, 연결된 VL 및 VH 쇄가, 이량체화되어 이중특이적/다가 분자를 형성할 수 있는 항체 힌지 영역 및 CH3 영역에 펩티드 스페이서에 의해 추가로 연결된, 미니바디 구축물; 예를 들어 US5844094에 기재된 바와 같은, 이중특이적 디아바디를 형성하기 위한 이량체, 삼량체 및 사량체를 형성할 수 있는, 짧은 펩티드 링커 (예를 들어, 5 또는 10개 아미노산)를 사용하거나 또는 링커가 전혀 없이 어느 하나의 배향으로 연결된 VH 및 VL 도메인; 예를 들어 US5864019에 기재된 바와 같은, 일련의 FV (또는 scFv)를 형성하기 위해 VL 도메인과 추가로 회합된, C-말단에서 가교가능한 기에 의해 펩티드 연결에 의해 연결된 VH 도메인 (또는 패밀리 구성원 내의 VL 도메인)의 스트링; 및 예를 들어 US5869620에 기재된 바와 같은, scFV 또는 디아바디 유형 포맷 둘 다를 사용하여, 예를 들어 동종2가, 이종2가, 3가 및 4가 구조를 형성하기 위해 비-공유 또는 화학적 가교를 통해 다가 구조로 조합된, 펩티드 링커를 통해 연결된 VH 및 VL 도메인 둘 다를 갖는 단일 쇄 결합 폴리펩티드를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 추가의 예시적인 다중특이적 및 이중특이적 분자 및 그의 제조 방법은, 예를 들어 US5910573, US5932448, US5959083, US5989830, US6005079, US6239259, US6294353, US6333396, US6476198, US6511663, US6670453, US6743896, US6809185, US6833441, US7129330, US7183076, US7521056, US7527787, US7534866, US7612181, US2002004587A1, US2002076406A1, US2002103345A1, US2003207346A1, US2003211078A1, US2004219643A1, US2004220388A1, US2004242847A1, US2005003403A1, US2005004352A1, US2005069552A1, US2005079170A1, US2005100543A1, US2005136049A1, US2005136051A1, US2005163782A1, US2005266425A1, US2006083747A1, US2006120960A1, US2006204493A1, US2006263367A1, US2007004909A1, US2007087381A1, US2007128150A1, US2007141049A1, US2007154901A1, US2007274985A1, US2008050370A1, US2008069820A1, US2008152645A1, US2008171855A1, US2008241884A1, US2008254512A1, US2008260738A1, US2009130106A1, US2009148905A1, US2009155275A1, US2009162359A1, US2009162360A1, US2009175851A1, US2009175867A1, US2009232811A1, US2009234105A1, US2009263392A1, US2009274649A1, EP346087A2, WO0006605A2, WO02072635A2, WO04081051A1, WO06020258A2, WO2007044887A2, WO2007095338A2, WO2007137760A2, WO2008119353A1, WO2009021754A2, WO2009068630A1, WO9103493A1, WO9323537A1, WO9409131A1, WO9412625A2, WO9509917A1, WO9637621A2, WO9964460A1에서 발견된다. 상기 참조된 출원의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0437] 이중특이적 항체 분자의 각각의 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv) 내에서, VH는 VL의 상류 또는 하류일 수 있다. 일부 실시양태에서, 상류 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv)은 그의 VL (VL_1)의 상류의 그의 VH (VH_1)와 배열되고, 하류 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv)은 그의 VH (VH_2)의 상류의 그의 VL (VL_2)과 함께 배열되어, 전체적인 이중특이적 항체 분자는 배열 VH_1-VL_1-VL_2-VH_2를 갖는다. 다른 실시양태에서, 상류 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv)은 그의 VH (VH_1)의 상류의 그의 VL (VL_1)과 배열되고, 하류 항체 또는 항체

단편 (예를 들어, scFv)은 그의 VL (VL_2)의 상류의 그의 VH (VH_2)와 배열되어, 전체적인 이중특이적 항체 분자는 배열 VL_1-VH_1-VH_2-VL_2를 갖는다. 임의로, 링커는 2개의 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, scFv) 사이, 예를 들어 구축물이 VH_1-VL_1-VL_2-VH_2로 배열된 경우에 VL_1과 VL_2 사이, 또는 구축물이 VL_1-VH_1-VH_2-VL_2로 배열된 경우에 VH_1과 VH_2 사이에 배치된다. 링커는 본원에 기재된 바와 같은 링커, 예를 들어 (Gly_4-Ser)n 링커일 수 있고, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 4 (서열식별번호: 63)이다. 일반적으로, 2개의 scFv 사이의 링커는 2개의 scFv의 도메인 사이의 쌍형성오류를 피하기 위해 충분히 길어야 한다. 임의로, 링커는 제1 scFv의 VL과 VH 사이에 배치된다. 임의로, 링커는 제2 scFv의 VL과 VH 사이에 배치된다. 다중 링커를 갖는 구축물에서, 링커 중 임의의 2개 이상은 동일하거나 상이할 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 이중특이적 CAR은 VL, VH, 및 임의로 1개 이상의 링커를 본원에 기재된 바와 같은 배열로 포함한다.

[0438] 한 측면에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열 (예를 들어 본원에 기재된 종양 항원에 대해 결합 특이성을 갖는 scFv, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은, 예를 들어 표 4에 기재된 바와 같은 scFv 포함, 또는 본원에 기재된 scFv로부터의 경쇄 CDR 및/또는 중쇄 CDR 포함), 및 상이한 항원 상의 제2 에피토프에 대해 결합 특이성을 갖는 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다. 일부 측면에서 제2 이뮤노글로불린 가변 도메인 서열은 종양 상에서 발현된 항원, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원에 대해 결합 특이성을 갖는다.

[0439] 예시적인 CAR 서열

[0440] 실시양태에서, 본원에 기재된 NKR-CAR 또는 TCAR은 표 5에 제공된 1개 이상의 서열을 포함할 수 있다.

[0441] 표 5. CAR의 다양한 성분의 서열 (aa - 아미노산 서열, na - 핵산 서열)

SEQ ID NO	설명	서열
11	EF-1 프로모터 (na)	CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAA GTTGGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAA CTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGT ATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACAC AGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGC GTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTT GGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTG AGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGC GCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGA CGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTT CGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGC GAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGG CCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAA GGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGC TGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACC CACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGT ACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAG GTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGA AGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGA TCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTC GTGA
1	리더 (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARP
12	리더 (na)	ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGCCGCTAGA CCC
2	CD 8 힌지 (aa)	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD
13	CD8 힌지 (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCT GTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGG GCTGGACTTCGCCTGTGAT
3	Ig4 힌지 (aa)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM
14	Ig4 힌지 (na)	GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCC AGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGA GGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCA ATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGC AAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCA TCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAA GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAG

[0442]

		CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACC CCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAA GAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCAC AACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG
4	IgD 힌지 (aa)	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPE CPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLE RHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASS DPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVP APPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH
15	IgD 힌지 (na)	AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGCACAGCCCCAGGC AGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTG GCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAGAGGGAGAC CAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGC AGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGA CCTGAAGGATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTT GAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCAC CCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTACTCTAAATCATCCTAG CCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGC TTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCG AAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAA GTGAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATTC TGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGCCCCCAGCCAGCCACATACAC CTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGG TTTCCTACGTGACTGACCATT
6	CD8 막횡단 (aa)	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
17	CD8 막횡단 (na)	ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATC ACCCTTTACTGC
7	4-1BB 세포내 도메인 (aa)	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
18	4-1BB 세포내 도메인 (na)	AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACA AACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGA TGTGAACTG
8	CD27 (aa)	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP
19	CD27 (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCC CGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCG CTCC
9	CD3-제타 (aa) (Q/K 돌연변이체)	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
20	CD3-제타	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGC TCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGT

[0443]

	(na) (Q/K 돌연변이체)	GGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTG TACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAG GCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCAC CAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC
10	CD3-제타 (aa) (NCBI 참조 서열 NM_000734 .3)	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
21	CD3-제타 (na) (NCBI 참조 서열 NM_000734 .3)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGC TCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGT GGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTG TACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAG GCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCAC CAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC
36	CD28 세포내 도메인 (아미노산 서열)	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
37	CD28 세포내 도메인 (뉴클레오티드 서열)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCC CGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCG CTCC
38	ICOS 세포내 도메인 (아미노산 서열)	T K K K Y S S S V H D P N G E Y M F M R A V N T A K K S R L T D V T L
39	ICOS 세포내 도메인 (뉴클레오티드 서열)	ACAAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACGGTGAATACATGTTCATGAG AGCAGTGAACACAGCCAAAAAATCCAGACTCACAGATGTGACCCTA
5	GS 힌지/링커 (aa)	GGGGSGGGGS
16	GS 힌지/링커 (na)	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC
356	GS	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGGGGTTCC

[0444]

	힌지/링커 (na)	
25	링커	GGGGS
26	링커	(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)n, 여기서 n = 1-6, 예를 들어, GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS
27	링커	(Gly4 Ser)4
28	링커	(Gly4 Ser)3
29	링커	(Gly3Ser)
40	링커	(Gly-Gly-Gly-Ser)n 여기서 n은 1이상의 양의 정수임
41	링커	(Gly-Gly-Gly-Ser)n, 여기서 n = 1-10, 예를 들어, GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS
42	링커	GSTSGSGKPGSGEGSTKG
30	폴리A	$(A)_{5000}$ 이 서열은 50-5000개의 아데닌을 포괄할 수 있음.
31	폴리T	$(T)_{100}$
32	폴리T	$(T)_{5000}$ 이 서열은 50-5000개의 티민을 포괄할 수 있음.
33	폴리A	$(A)_{5000}$ 이 서열은 100-5000개의 아데닌을 포괄할 수 있음.
34	폴리A	$(A)_{400}$ 이 서열은 100-400개의 아데닌을 포괄할 수 있음.
35	폴리A	$(A)_{2000}$ 이 서열은 50-2000개의 아데닌을 포괄할 수 있음.
22	PD1 CAR (aa)	pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrf rvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtttp aprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfm rpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggk prrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
23	PD-1 CAR (na) (PD1 ECD 밑줄표시)	atggccctccctgtcactgccctgcttctccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccggatggtttctgga ctctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataatgcgaccttc acgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaa gctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggca gagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcg cctaagcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgca catccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgaccactccggcgccgcgcccaccgact ccggccccaactatcgcgagccagcccctgtcgctgaggccggaagcatgccgccctgccgccggaggtgctgtgc atacccggggattggacttcgcatgcgacatctacatttgggctcctctcgccggaacttgtggcgtgctccttctgtcc ctggtcatcaccctgtactgcaagcggggtcggaaaaagcttctgtacattttcaagcagcccttcatgaggcccgtg caaaccacccaggaggaggacggttgctcctgccggttccccgaagaggaagaaggaggttgcgagctgcgcgtg aagttctcccggagcgccgacgcccccgcctataagcagggccagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggac ggcgggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcggccgggaccccgaaatgggcgggaagcctagaagaaag aaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgaggcctactccgaaattgggatgaag ggagagcggcggaggggaaaggggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccgccaccaaggacacatacga

[0445]

		tgccctgcacatgcaggcccttcccccctcgc
24	PD-1 CAR (aa), 신호 존재 (PD1 ECD 밑줄표시)	Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqt dklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevpta hpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllsl vitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrre eydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydal hmqalppr
338	PD1의 세포질 도메인 (아미노산 192-288)	CSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEY ATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL
339	CTLA-4 의 세포질 도메인 (아미노산 183-223)	AVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPTEPECEKQFQPYFIPIN
340	인간 CD8 힌지	TTTPAPRPPT PAPTIASQPL SLRPEACRPA AGGAVHTRGL DFA

[0446]

[0447] NKR-CAR의 예시적인 서열, 및 NKR-CAR의 성분이 본원에 추가로 제공된다.

[0448] 메소텔린에 결합하는 항원 결합 도메인 및 KIR2DS2 도메인을 포함하는 세포질 도메인을 포함하는 KIR-CAR의 핵산 서열이 하기 제공된다. 본원에 기재된 임의의 항원 결합 도메인은 하기 제공된 메소텔린 항원 결합 도메인을 대체할 수 있다.

[0449] SS1 KIR2DS2 유전자 서열 (서열식별번호: 327)

[0450] gtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttt taaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggtt gagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgc ggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttg ggaaccggagctgaatgaagccatacccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaa ctggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttc cggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcc cgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagca

ttggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatc
tcatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgc
gcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaa
ctggcttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacat
acctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataa
ggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgt
gagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcac
gagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcag
gggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgtta
tcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcagtga
gcgaggaagcggaagagcgcccaatacgcaaaccgcctctccccgcgcgttggccgattcattaatgcagctggcacgacaggtttccc
gactggaaagcgggcagtgagcgcaacgcaattaatgtgagttagctcactcattaggcaccccaggctttacactttatgcttccggctcgt
atgttgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaacagctatgaccatgattacgccaagcgcgcaattaaccctcactaaagg
gaacaaaagctggagctgcaagcttaatgtagtcttatgcaatactcttgtagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgccttacaa
ggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattggtggaagtaaggtggtacgatcgtgccttattaggaaggcaacagacgggtctgacatgg
attggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgtatttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctggttagaccagatct
gagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgtt
gtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacctgaaagcgaa
agggaaaccagagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtacgcc
aaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaa
aaattcggttaaggccaggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtatgggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcct
ggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattata
taatacagtagcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaac
aaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaattatataa
atataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaa
taggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattg
tctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagct
ccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgctctggaaaactcatttgcaccactg
ctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatctctggaacagattggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaatta
cacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagttt
gtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagttttgctgtac
tttctatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccgacaggcccgaagga
atagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatctcgacggtatcgattagactgtagcccagga
atatggcagctagattgtacacatttagaaggaaaagttatcttggtagcagttcatgtagccagtggatatatagaagcagaagtaattccag
cagagacagggcaagaaacagcatacttcctcttaaaattagcaggaagatggccagtaaaaacagtacatacagacaatggcagcaattt
caccagtactacagttaaggccgcctgttggtgggcggggatcaagcaggaatttggcattccctacaatccccaaagtcaaggagtaata
gaatctatgaataaagaattaaagaaaattataggacaggtaagagatcaggctgaacatcttaagacagcagtacaaatggcagtattcatc
cacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaaga
attacaaaaacaaattacaaaaattcaaaattttcgggtttattacagggacagcagagatccagtttggctgcatacgcgtcgtgaggctccg
gtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaag
gtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtc
gccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacgggttat
ggcccttgcgtgccttgaattacttccacctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgagg
ccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttc
gcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcg
ggccaagatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcg

[0451]

gggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgt
atcgccccgccctgggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgctgcaggga
gctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgc
ttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagttctcgtgcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggaggg
gttttatgcgatggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttt
gagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttttcttccatttcaggtgtcgtgagctagaATGGGGGGAC
TTGAACCCTGCAGCAGGCTCCTGCTCCTGCCTCTCCTGCTGGCTGTAAGTGGTCTCCG
TCCTGTCCAGGCCCAGGCCCAGAGCGATTGCAGTTGCTCTACGGTGAGCCCCGGGCGT
GCTGGCAGGGATCGTGATGGGAGACCTGGTGCTGACAGTGCTCATTGCCCTGGCCGT
GTACTTCCTGGGCCGGCTGGTCCCTCGGGGGCGAGGGGCTGCGGAGGCAGCGACCC
GGAAACAGCGTATCACTGAGACCGAGTCGCCTTATCAGGAGCTCCAGGGTCAGAGG
TCGGATGTCTACAGCGACCTCAACACACAGAGGCCGTATTACAAAgTCGAGGGCGG
CGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGCC
CTAGGatggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccgggatcccaggtacaactgca
gcagtctgggcctgagctggagaagcctggcgcttcagtgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaccatgaactg
ggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggacttattactccttacaatggtgcttctagctacaaccagaagttcaggggca
aggccacattaactgtagacaagtcatccagcacagcctacatggacctcctcagtctgacatctgaagactctgcagtctatttctgtgcaag
gggggttacgacgggaggggttttgactactggggccaagggaccacggtcaccgtctcctcaggtggaggcggttcaggcggcggt
ggctctagcggtggtggatcggacatcgagctcactcagtctccagcaatcatgtctgcatctccaggggagaaggtcaccatgacctgca
gtgccagctcaagtgtaagttacatgcactggtaccagcagaagtcaggcacctccccaaaagatggatttatgacacatccaaactggct
tctggagtcccaggtcgcttcagtggcagtgggtctggaaactcttactctctcacaatcagcagcgtggaggctgaagatgatgcaacttat
tactgccagcagtggagtaagcaccctctcacgtacggtgctgggacaaagttggaaatcaaagctagcACGCGTggtggcggagg
ttctggaggtgggggttcccaggggcctggccacatgagggagtccacagaaaaccttccctcctggcccacccaggtcccctggtgaa
atcagaagagacagtcatcctgcaatgttggtcagatgtcaggtttgagcacttccttctgcacagagaggggaagtataaggacactttgca
cctcattggagagcaccatgatggggtctccaaggccaacttctccatcggtcccatgatgcaagaccttgcagggacctacagatgctacg
gttctgttactcactcccccatcagttgtcagctcccagtgaccctctggacatcgtcatcacaggtctatatgagaaaccttctctctcagccc
agccgggccccacggttttggcaggagagagcgtgaccttgtcctgcagctcccggagctcctatgacatgtaccatctatccagggagg
gggaggcccatgaacgtaggttctctgcagggcccaaggtcaacggaacattccaggccgactttcctctgggccctgccacccacggag
gaacctacagatgcttcggctctttccgtgactctccctatgagtggtcaaactcgagtgacccactgcttgtttctgtcacaggaaaccccttca
aatagttggccttcacccactgaaccaagctccaaaaccggtaaccccagacacctgcatgttctgattgggacctcagtggtcaaaatccct
ttcaccatcctcctcttctttctccttcatcgctggtgctccaacaaaaaaaatgctgctgtaatggaccaagagcctgcagggaacagaacag
tgaacagcgaggattctgatgaacaagaccatcaggaggtgtcatacgcataaGtcgacaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaaga
ttgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcatttct
cctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaa
ccccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttcccctcccctattgccacggcggaactcatcgccg
cctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcggggaagctgacgtccttccatggctg
ctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctg
ctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctcccttgggccgcctccccgcctggaattcgagct
cggtacctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactccc
aacgaagacaagatctgcttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccact
gcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttta
gtcagtgtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggaa
cttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtcc
aaactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccgcccctaactccgcccagttccgcccattctccgccccatggctgactaatttt
ttttatttatgcagaggccgaggccgcctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggcttttttggaggcctacgctttgcgtcgag
acgtacccaattcgccctatagtgagtcgtattacgcgcgctcactggccgtcgttttacaacgtcgtgactgggaaaaccctggcgttaccc

[0452]

aacttaatcgccttgcagcacatccccctttcgccagctggcgtaatagcgaagaggcccgcaccgatcgcccttcccaacagttgcgcag
cctgaatggcgaatggcgcgacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgaccgctacacttg
ccagcgccctagcgcccgctcctttcgctttcttcccttcctttctcgccacgttcgccggctttccccgtcaagctctaaatcgggggctccctt
tagggttccgatttagtgctttacggcacctcgaccccaaaaaacttgattagggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacgg
tttttcgcccttgacgttggagtccacgttctttaatagtggactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcggtctattcttttgattt
ataagggattttgccgatttcggcctattggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaattttaacaaaatattaacgtttacaattt
cccaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataacc
ctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgt
ttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgg

[0453]

[0454] 메소텔린에 결합하는 항원 결합 도메인 및 KIRS2 도메인을 포함하는 세포질 도메인을 포함하는 KIR-CAR의 핵산 서열이 하기 제공된다. 본원에 기재된 임의의 항원 결합 도메인은 하기 제공된 메소텔린 항원 결합 도메인을 대체할 수 있다.

[0455] SS1 KIRS2 유전자 서열 (서열식별번호: 328)

gtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttt
taaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggtt
gagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgc
ggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttg
ggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaa
ctggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttc
cggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcc
cgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagca
ttggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatc
tcatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgc
gcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaa
ctggcttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacat
acctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataa
ggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgt
gagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcac
gagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcag
gggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgtta
tcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcagtga
gcgaggaagcggaagagcgcccaatacgcaaaccgcctctccccgcgcgttggccgattcattaatgcagctggcacgacaggtttccc
gactggaaagcgggcagtgagcgcaacgcaattaatgtgagttagctcactcattaggcaccccaggctttacactttatgcttccggctcgt
atgttgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaacagctatgaccatgattacgccaagcgcgcaattaaccctcactaaagg
gaacaaaagctggagctgcaagcttaatgtagtcttatgcaatactcttgtagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgccttacaa
ggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattggtggaagtaaggtggtacgatcgtgccttattaggaaggcaacagacgggtctgacatgg
attggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgtatttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctggttagaccagatct
gagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgtt
gtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacctgaaagcgaa
agggaaaccagagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtacgcc
aaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaa
aaattcggttaaggccaggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtatgggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcct

[0456]

ggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattata
taatacagtagcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaac
aaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaattatataa
atataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaa
taggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattg
tctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagct
ccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgctctggaaaactcatttgcaccactg
ctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatctctggaacagattggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaatta
cacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagttt
gtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtac
tttctatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccgacaggcccgaagga
atagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatctcgacggtatcgattagactgtagcccagga
atatggcagctagattgtacacatttagaaggaaaagttatcttggtagcagttcatgtagccagtggatatatagaagcagaagtaattccag
cagagacagggcaagaaacagcatacttcctcttaaaattagcaggaagatggccagtaaaaacagtacatacagacaatggcagcaattt
caccagtactacagttaaggccgcctgttggtgggcggggatcaagcaggaatttggcattccctacaatccccaaagtcaaggagtaata
gaatctatgaataaagaattaaagaaaattataggacaggtaagagatcaggctgaacatcttaagacagcagtacaaatggcagtattcatc
cacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaaga
attacaaaaacaaattacaaaaattcaaaattttcgggtttattacagggacagcagagatccagtttggctgcatacgcgtcgtgaggctccg
gtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaag
gtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtc
gccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacgggttat
ggcccttgcgtgccttgaattacttccacctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgagg
ccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttc
gcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcg
ggccaagatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcg
gggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgt
atcgccccgccctgggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgctgcaggga
gctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgc
ttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagttctcgtgcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggaggg
gttttatgcgatggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttt
gagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttttcttccatttcaggtgtcgtgagctagaATGGGGGGAC
TTGAACCCTGCAGCAGGCTCCTGCTCCTGCCTCTCCTGCTGGCTGTAAGTGGTCTCCG
TCCTGTCCAGGCCCAGGCCCAGAGCGATTGCAGTTGCTCTACGGTGAGCCCGGGCGT
GCTGGCAGGGATCGTGATGGGAGACCTGGTGCTGACAGTGCTCATTGCCCTGGCCGT
GTACTTCCTGGGCCGGCTGGTCCCTCGGGGGCGAGGGGCTGCGGAGGCAGCGACCC
GGAAACAGCGTATCACTGAGACCGAGTCGCCTTATCAGGAGCTCCAGGGTCAGAGG
TCGGATGTCTACAGCGACCTCAACACACAGAGGCCGTATTACAAAgTCGAGGGCGG
CGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGCC
CTAGGatggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccgggatcccaggtacaactgca
gcagtctgggcctgagctggagaagcctggcgcttcagtgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaccatgaactg
ggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggacttattactccttacaatggtgcttctagctacaaccagaagttcaggggca
aggccacattaactgtagacaagtcatccagcacagcctacatggacctcctcagtctgacatctgaagactctgcagtctatttctgtgcaag
gggggttacgacgggaggggttttgactactggggccaagggaccacggtcaccgtctcctcaggtggaggcggttcaggcggcggt
ggctctagcggtggtggatcggacatcgagctcactcagtctccagcaatcatgtctgcatctccaggggagaaggtcaccatgacctgca
gtgccagctcaagtgtaagttacatgcactggtaccagcagaagtcaggcacctcccccaaaagatggatttatgacacatccaaactggct
tctggagtcccaggtcgcttcagtggcagtgggtctggaaactcttactctctcacaatcagcagcgtggaggctgaagatgatgcaacttat

[0457]

tactgccagcagtggagtaagcaccctctcacgtacggtgctgggacaaagttggaaatcaaagctagcggtggcggaggttctggaggt
gggggttcctcacccactgaaccaagctccaaaaccggtaaccccagacacctgcatgttctgattgggacctcagtggtcaaaatccctttt
caccatcctcctcttctttctccttcatcgctggtgctccaacaaaaaaaatgctgctgtaatggaccaagagcctgcagggaacagaacagt
gaacagcgaggattctgatgaacaagaccatcaggaggtgtcatacgcataaGtcgacaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagat
tgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttct
cctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaa
cccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttcccctccctattgccacggcggaactcatcgccg
cctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcggggaagctgacgtcctttccatggctg
ctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctg
ctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggccgcctccccgcctggaattcgagct
cggtacctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactccc
aacgaagacaagatctgctttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccact
gcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttta
gtcagtgtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggaa
cttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtcc
aaactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccgcccctaactccgcccagttccgcccattctccgccccatggctgactaatttt
ttttatttatgcagaggccgaggccgcctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggctttttggaggcctacgcttttgcgtcgag
acgtacccaattcgccctatagtgagtcgtattacgcgcgctcactggccgtcgttttacaacgtcgtgactgggaaaaccctggcgttaccc
aacttaatcgccttgcagcacatccccctttcgccagctggcgtaatagcgaagaggcccgcaccgatcgcccttcccaacagttgcgcag
cctgaatggcgaatggcgcgacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgaccgctacacttg
ccagcgccctagcgcccgctcctttcgctttcttcccttcctttctcgccacgttcgccggctttccccgtcaagctctaaatcgggggctccctt
tagggttccgatttagtgctttacggcacctcgaccccaaaaaacttgattagggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacgg
tttttcgccctttgacgttggagtccacgttctttaatagtggactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcggtctattcttttgattt
ataagggattttgccgatttcggcctattggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaattttaacaaaatattaacgtttacaattt
cccaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataacc
ctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgt
ttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgg

[0458]

[0459] 메소텔린에 결합하는 항원 결합 도메인 및 KIR2DL3 도메인을 포함하는 세포질 도메인을 포함하는 KIR-CAR의 핵산 서열이 하기 제공된다. 본원에 기재된 임의의 항원 결합 도메인은 하기 제공된 메소텔린 항원 결합 도메인을 대체할 수 있다.

[0460] SS1 KIR2DL3 유전자 서열 (서열식별번호: 329)

gtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttt
taaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggtt
gagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgc
ggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttg
ggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaa
ctggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttc
cggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcc
cgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagca
ttggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatc
tcatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgc

[0461]

gcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaa
ctggcttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacat
acctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataa
ggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgt
gagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcac
gagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcag
gggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgtta
tcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcagtga
gcgaggaagcggaagagcgcccaatacgcaaaccgcctctccccgcgcgttggccgattcattaatgcagctggcacgacaggtttccc
gactggaaagcgggcagtgagcgcaacgcaattaatgtgagttagctcactcattaggcaccccaggctttacactttatgcttccggctcgt
atgttgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaacagctatgaccatgattacgccaagcgcgcaattaaccctcactaaagg
gaacaaaagctggagctgcaagcttaatgtagtcttatgcaatactcttgtagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgccttacaa
ggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattggtggaagtaaggtggtacgatcgtgccttattaggaaggcaacagacgggtctgacatgg
attggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgtatttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctggttagaccagatct
gagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgtt
gtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacctgaaagcgaa
agggaaaccagagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtacgcc
aaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaa
aaattcggttaaggccaggggaaagaaaaatataaattaaaacatatagtatgggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcct
ggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattata
taatacagtagcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaac
aaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaattatataa
atataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaa
taggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattg
tctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagct
ccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgctctggaaaactcatttgcaccactg
ctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatctctggaacagattggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaatta
cacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagttt
gtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtac
tttctatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccgacaggcccgaagga
atagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatctcgacggtatcgattagactgtagcccagga
atatggcagctagattgtacacatttagaaggaaaagttatcttggtagcagttcatgtagccagtggatatatagaagcagaagtaattccag
cagagacagggcaagaaacagcatacttcctcttaaaattagcaggaagatggccagtaaaaacagtacatacagacaatggcagcaattt
caccagtactacagttaaggccgcctgttggtgggcggggatcaagcaggaatttggcattccctacaatccccaaagtcaaggagtaata
gaatctatgaataaagaattaaagaaaattataggacaggtaagagatcaggctgaacatcttaagacagcagtacaaatggcagtattcatc
cacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaaga
attacaaaaacaaattacaaaaattcaaaattttcgggtttattacagggacagcagagatccagtttggctgcatacgcgtcgtgaggctccg
gtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaag
gtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtc
gccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacgggttat
ggcccttgcgtgccttgaattacttccacctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgagg
ccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttc
gcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcg
ggccaagatctgcacactggtatttcggttttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcg
gggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgt
atcgccccgccctgggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgctgcaggga

[0462]

gctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgc
ttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagttctcgtgcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggaggg
gttttatgcgatggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttt
gagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttttcttccatttcaggtgtcgtgagctagaATGGGGGGAC
TTGAACCCTGCAGCAGGCTCCTGCTCCTGCCTCTCCTGCTGGCTGTAAGTGGTCTCCG
TCCTGTCCAGGCCCAGGCCCAGAGCGATTGCAGTTGCTCTACGGTGAGCCCGGGCGT
GCTGGCAGGGATCGTGATGGGAGACCTGGTGCTGACAGTGCTCATTGCCCTGGCCGT
GTACTTCCTGGGCCGGCTGGTCCCTCGGGGGCGAGGGGCTGCGGAGGCAGCGACCC
GGAAACAGCGTATCACTGAGACCGAGTCGCCTTATCAGGAGCTCCAGGGTCAGAGG
TCGGATGTCTACAGCGACCTCAACACACAGAGGCCGTATTACAAAgTCGAGGGCGG
CGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGCC
CTAGGatggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccgggatcccaggtacaactgca
gcagtctgggcctgagctggagaagcctggcgcttcagtgaagatatcctgcaaggcttctggttactcattcactggctacaccatgaactg
ggtgaagcagagccatggaaagagccttgagtggattggacttattactccttacaatggtgcttctagctacaaccagaagttcaggggca
aggccacattaactgtagacaagtcatccagcacagcctacatggacctcctcagtctgacatctgaagactctgcagtctatttctgtgcaag
gggggttacgacgggaggggttttgactactggggccaagggaccacggtcaccgtctcctcaggtggaggcggttcaggcggcggt
ggctctagcggtggtggatcggacatcgagctcactcagtctccagcaatcatgtctgcatctccaggggagaaggtcaccatgacctgca
gtgccagctcaagtgtaagttacatgcactggtaccagcagaagtcaggcacctcccccaaaagatggatttatgacacatccaaactggct
tctggagtcccaggtcgcttcagtggcagtgggtctggaaactcttactctctcacaatcagcagcgtggaggctgaagatgatgcaacttat
tactgccagcagtggagtaagcaccctctcacgtacggtgctgggacaaagttggaaatcaaagCTAGCggtggcggaggttctgga
ggtggggttccCAGGGGGCCTGGCCACATGAGGGAGTCCACAGAAAACCTTCCCTCCTGG
CCCACCCAGGTCCCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAATGTTGGTCA
GATGTCAGGTTTCAGCACTTCCTTCTGCACAGAGAAGGGAAGTTTAAGGACACTTTG
CACCTCATTGGAGAGCACCATGATGGGGTCTCCAAGGCCAACTTCTCCATCGGTCCC
ATGATGCAAGACCTTGCAGGGACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTACTCACTCCCCC
TATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGACCCTCTGGACATCGTCATCACAGGTCTATATGAG
AAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTTCTGGCAGGAGAGAGCGTGAC
CTTGTCCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTATCCAGGGAGGGGGA
GGCCCATGAACGTAGGTTCTCTGCAGGGCCCAAGGTCAACGGAACATTCCAGGCCG
ACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGAACCTACAGATGCTTCGGCTCTTTCC
GTGACTCTCCATACGAGTGGTCAAACTCGAGTGACCCACTGCTTGTTTCTGTCACAG
GAAACCCTTCAAATAGTTGGCTTTCACCCACTGAACCAAGCTCCGAAACCGGTAACC
CCAGACACCTGCATGTTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCATCATCCTCTTCATCCTCCT
CCTCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTGCAACAAAAAAAATGCTGTTGTAATGGAC
CAAGAGCCTGCAGGGAACAGAACAGTGAACAGGGAGGACTCTGATGAACAAGACC
CTCAGGAGGTGACATATGCACAGTTGAATCACTGCGTTTTCACACAGAGAAAAATC
ACTCACCCTTCTCAGAGGCCCAAGACACCCCCAACAGATATCATCGTGTACACGGA
ACTTCCAAATGCTGAGCCCTGAGtcgacaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattcttaacta
tgttgctccttttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttctcctccttgtataaatcctg
gttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccccactggttggggc
attgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttcccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgctgct
ggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcggggaagctgacgtcctttccatggctgctcgcctgtgttgccacct
ggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctgctgccggctctgcggcct
cttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggccgcctccccgcctggaattcgagctcggtacctttaagaccaat
gacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactcccaacgaagacaagatctgc
ttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagc

[0463]

ttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctcta
gcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggaacttgtttattgcagcttataat
ggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttat
catgtctggctctagctatcccgcccctaactccgcccagttccgcccattctccgccccatggctgactaatttttttttatttatgcagaggccg
aggccgcctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggcttttttggaggcctacgctttgcgtcgagacgtacccaattcgcccta
tagtgagtcgtattacgcgcgctcactggccgtcgttttacaacgtcgtgactgggaaaaccctggcgttacccaacttaatcgccttgcagc
acatccccctttcgccagctggcgtaatagcgaagaggcccgcaccgatcgcccttcccaacagttgcgcagcctgaatggcgaatggcg
cgacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgaccgctacacttgccagcgccctagcgcccg
ctcctttcgctttcttcccttcctttctcgccacgttcgccggctttccccgtcaagctctaaatcgggggctccctttagggttccgatttagtgct
ttacggcacctcgaccccaaaaaacttgattagggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacggtttttcgccctttgacgttgg
agtccacgttctttaatagtggactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcggtctattcttttgatttataagggattttgccgattt
cggcctattggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaattttaacaaaatattaacgtttacaatttcccaggtggcacttttcgg
ggaaatgtgcgcggaaccccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataata
ttgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcacccagaaacgct
ggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgg

[0464]

[0465] CD19에 결합하는 항원 결합 도메인 및 KIR2DS2 도메인을 포함하는 세포질 도메인을 포함하는 KIR-CAR의 핵산 서

열이 하기 제공된다.

[0466] CD19 KIR2DS2 구축물 서열 (서열식별번호: 330)

gtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttt
taaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtattgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggtt
gagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgc
ggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttg
ggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaa
ctggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttc
cggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcc
cgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagca
ttggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatc
tcatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgc
gcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaa
ctggcttcagcagagcgcagataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacat
acctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataa
ggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgt
gagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcac
gagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcag
gggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgtta
tcccctgattctgtggataaccgtattaccgcctttgagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtcagtga
gcgaggaagcggaagagcgcccaatacgcaaaccgcctctccccgcgcgttggccgattcattaatgcagctggcacgacaggtttccc
gactggaaagcgggcagtgagcgcaacgcaattaatgtgagttagctcactcattaggcaccccaggctttacactttatgcttccggctcgt
atgttgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaacagctatgaccatgattacgccaagcgcgcaattaaccctcactaaagg
gaacaaaagctggagctgcaagcttaatgtagtcttatgcaatactcttgtagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgccttacaa
ggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattggtggaagtaaggtggtacgatcgtgccttattaggaaggcaacagacgggtctgacatgg
attggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgtatttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctggttagaccagatct
gagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgtt

[0467]

gtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacctgaaagcgaa
agggaaaccagagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtacgcc
aaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaa
aaattcggttaaggccaggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtatgggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcct
ggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattata
taatacagtagcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaac
aaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaattatataa
atataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaa
taggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattg
tctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagct
ccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgctctggaaaactcatttgcaccactg
ctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatctctggaacagattggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaatta
cacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagttt
gtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtac
tttctatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccgacaggcccgaagga
atagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatctcgacggtatcgattagactgtagcccagga
atatggcagctagattgtacacatttagaaggaaaagttatcttggtagcagttcatgtagccagtggatatatagaagcagaagtaattccag
cagagacagggcaagaaacagcatacttcctcttaaaattagcaggaagatggccagtaaaaacagtacatacagacaatggcagcaattt
caccagtactacagttaaggccgcctgttggtgggcggggatcaagcaggaatttggcattccctacaatccccaaagtcaaggagtaata
gaatctatgaataaagaattaaagaaaattataggacaggtaagagatcaggctgaacatcttaagacagcagtacaaatggcagtattcatc
cacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaaga
attacaaaaacaaattacaaaaattcaaaattttcgggtttattacagggacagcagagatccagtttggctgcatacgcgtcgtgaggctccg
gtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggagggtcggcaattgaaccggtgcctagagaag
gtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtc
gccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacgggttat
ggcccttgcgtgccttgaattacttccacctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgagg
ccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttc
gcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcg
ggccaagatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcg
gggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgt
atcgccccgcccctgggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgctgcaggga
gctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgc
ttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagttctcgtgcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggaggg
gttttatgcgatggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttt
gagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttttcttccatttcaggtgtcgtgagctagaATGGGGGGAC
TTGAACCCTGCAGCAGGCTCCTGCTCCTGCCTCTCCTGCTGGCTGTAAGTGGTCTCCG
TCCTGTCCAGGCCCAGGCCCAGAGCGATTGCAGTTGCTCTACGGTGAGCCCGGGCGT
GCTGGCAGGGATCGTGATGGGAGACCTGGTGCTGACAGTGCTCATTGCCCTGGCCGT
GTACTTCCTGGGCCGGCTGGTCCCTCGGGGGCGAGGGGCTGCGGAGGCAGCGACCC
GGAAACAGCGTATCACTGAGACCGAGTCGCCTTATCAGGAGCTCCAGGGTCAGAGG
TCGGATGTCTACAGCGACCTCAACACACAGAGGCCGTATTACAAAgTCGAGGGCGG
CGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGCC
CTAGGatggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccgggatccGACATCCA
GATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAG
TTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG
ATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCAT

[0468]

CAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGG
AGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGT
TCGGAGGGGGGACTAAGTTGGAAATAACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGG
TCGGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGC
GCCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTA
TGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAA
TATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCA
TCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATG
GACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAgctagcACGCGTggtggcggaggtt
ctggaggtgggggttcccaggggggcctggccacatgagggagtccacagaaaaccttcccctcctggcccacccaggtcccctggtgaaa
tcagaagagacagtcatcctgcaatgttggtcagatgtcaggtttgagcacttccttctgcacagagagggggaagtataaggacactttgcac
ctcattggagagcaccatgatggggtctccaaggccaacttctccatcggtcccatgatgcaagaccttgcagggacctacagatgctacg
gttctgttactcactcccccctatcagttgtcagctcccagtgaccctctggacatcgtcatcacaggtctatatgagaaaccttctctctcagccc
agccgggccccacggttttggcaggagagagcgtgaccttgtcctgcagctcccggagctcctatgacatgtaccatctatccagggagg
gggaggcccatgaacgtaggttctctgcagggcccaaggtcaacggaacattccaggccgactttcctctgggccctgccacccacggag
gaacctacagatgcttcggctctttccgtgactctccctatgagtggtcaaactcgagtgacccactgcttgtttctgtcacaggaaaccctca
aatagttggccttcacccactgaaccaagctccaaaaccggtaaccccagacacctgcatgttctgattgggacctcagtggtcaaaatccct
ttcaccatcctcctcttctttctccttcatcgctggtgctccaacaaaaaaaatgctgctgtaatggaccaagagcctgcagggaacagaacag
tgaacagcgaggattctgatgaacaagaccatcaggaggtgtcatacgcataaGtcgacaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaaga
ttgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttct
cctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaa
ccccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttcccctccctattgccacggcggaactcatcgccg
cctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcggggaagctgacgtcctttccatggctg
ctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctg
ctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctcccttgggccgcctccccgcctggaattcgagct
cggtacctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactccc
aacgaagacaagatctgcttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccact
gcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttta
gtcagtgtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggaa
cttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtcc
aaactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccgcccctaactccgcccagttccgcccattctccgccccatggctgactaatttt
ttttatttatgcagaggccgaggccgcctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggctttttggaggcctacgctttgcgtcgag
acgtacccaattcgccctatagtgagtcgtattacgcgcgctcactggccgtcgttttacaacgtcgtgactgggaaaaccctggcgttaccc
aacttaatcgccttgcagcacatccccctttcgccagctggcgtaatagcgaagaggcccgcaccgatcgcccttcccaacagttgcgcag
cctgaatggcgaatggcgcgacgcgccctgtagcggcgcattaagcgcggcgggtgtggtggttacgcgcagcgtgaccgctacacttg
ccagcgccctagcgcccgctcctttcgctttcttcccttcctttctcgccacgttcgccggctttccccgtcaagctctaaatcgggggctccctt
tagggttccgatttagtgctttacggcacctcgaccccaaaaaacttgattagggtgatggttcacgtagtgggccatcgccctgatagacgg
tttttcgccctttgacgttggagtccacgttctttaatagtggactcttgttccaaactggaacaacactcaaccctatctcggtctattcttttgattt
ataagggattttgccgatttcggcctattggttaaaaaatgagctgatttaacaaaaatttaacgcgaattttaacaaaatattaacgtttacaattt
cccaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataacc
ctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgt
ttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgg

[0469]

[0470] CD19에 결합하는 항원 결합 도메인 및 PD1 도메인을 포함하는 세포질 도메인을 포함하는 억제 CAR의 핵산 서열이 하기 제공된다.

[0471] CD19-PD1 키메라 CAR 서열 (서열식별번호: 331)

TGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATATGGTGCAC
TCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAAC
ACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGC
TGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCACCGTCATCACCGAAACG
CGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAT
AATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTAT
TTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGA
TAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTC
GCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCT
GGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAAC
TGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAA
TGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCG
GGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACT
CACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGT
GCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGA
GGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTT
GATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCAC
GATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTAC
TCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGAC
CACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCG
GTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCC
GTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGA
CAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTT
TACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGG
TGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCT
GCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTT
GCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCA
GATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTC
TGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAG
TGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGC
GCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGA
CCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCC
GAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGC
GCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTC
GCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTAT
GGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTG
CTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTT
TGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGA
GCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCG
ATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCG
CAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTAT
GCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAA
CAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTAATACGACTCACTATAGGGAGACAAGCT
TGCATGCCTGCAGGTCGACATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGC

[0472]

CTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCT
GTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTA
GTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCT
ACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTG
GAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACT
TTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACTAAGTTGGAA
ATAACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGCGGATCTGAGGT
GAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTCA
CATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGC
CTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATAC
TATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCA
AGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGC
CAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTC
AGTCACCGTCTCCTCAgctagcACGCGTggtggcggaggttctggaggtgggggttccaccctggtggttggtgtcgt
gggcggcctgctgggcagcctggtgctgctagtctgggtcctggccgtcatctgctcccgggccgcacgagggacaataggagccaggc
gcaccggccagcccctgaaggaggacccctcagccgtgcctgtgttctctgtggactatggggagctggatttccagtggcgagagaaga
ccccggagccccccgtgccctgtgtccctgagcagacggagtatgccaccattgtctttcctagcggaatgggcacctcatcccccgcccg
caggggctcagctgacggccctcggagtgcccagccactgaggcctgaggatggacactgctcttggcccctctgaGGATCCCC
GGGTACCGAGCTCGAATTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACTAGTGGCGCC

[0473]

[0474] 본 발명은 또한 본원에 기재된 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 포함하고 추가로 NKR-CAR과 상호작용하여 신호 전달을 용이하게 하여 CAR-발현 세포를 활성화시키는, 예를 들어 CAR-발현 세포의 증식 또는 세포독성 활성을 증가시키는 어댑터 분자를 포함하는 핵산 분자 및 코딩된 아미노산 서열을 제공한다. 본원에 기재된 임의의 항원 결합 도메인은 하기 제공된 NKR-CAR 구축물 내의 항원 결합 도메인을 대체할 수 있다.

[0475] DAP12의 핵산 서열은 하기와 같다:

ATGGGGGGACTTGAACCCTGCAGCAGGTTCCTGCTCCTGCCTCTCCTGCTGGCTGTAAGTGGTCTCCGTC
CTGTCCAGGTCCAGGCCCAGAGCGATTGCAGTTGCTCTACGGTGAGCCCGGGCGTGCTGGCAGGGATCGT
GATGGGAGACCTGGTGCTGACAGTGCTCATTGCCCTGGCCGTGTACTTCCTGGGCCGGCTGGTCCCTCGG
GGGCGAGGGGCTGCGGAGGCAGCGACCCGGAAACAGCGTATCACTGAGACCGAGTCGCCTTATCAGGAGC
TCCAGGGTCAGAGGTCGGATGTCTACAGCGACCTCAACACACAGAGGCCGTATTACAAATGA
(SEQ ID NO: 367)

[0476]

[0477] DAP12의 아미노산 서열은 하기와 같다:

MGGLEPCSRFLLLPLLLAVSGLRPVQVQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIALA
VYFLGRLVPRGRGAAEAATRKQRITETESPYQELQGQRSDVYSDLNTQRPYYK

[0478] (SEQ ID NO: 368)

[0479] FceRg의 핵산 서열은 하기와 같다:

ATGATTCCAGCAGTGGTCTTGCTCTTACTCCTTTTGGTTGAACAAGCAGCGGCCCTGGGAGAGCCTCAGC
TCTGCTATATCCTGGATGCCATCCTGTTTCTGTATGGAATTGTCCTCACCCTCCTCTACTGCCGACTGAA
GATCCAAGTGCGAAAGGCAGCTATAACCAGCTATGAGAAATCAGATGGTGTTTACACGGGCCTGAGCACC
AGGAACCAGGAGACTTACGAGACTCTGAAGCATGAGAAACCACCACAGTAG

[0480] (SEQ ID NO: 369)

[0481] FceRg의 아미노산 서열은 하기와 같다:

MIPAVVLLLLLLVEQAAALGEPQLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSYEK
SDGVYTGLSTRNQETYETLKHEKPPQ

[0482] (SEQ ID NO: 370)

[0483] NKR-CAR 및 어댑터 분자를 포함하는 다중-쇄 NKR-CAR에 대한 핵산 서열이 또한 본원에 제공된다. 이러한 구축물에서, NKR-CAR 및 어댑터 분자의 핵산 서열은 펩티드 절단 부위, 예를 들어 T2A를 코딩하는 핵산 서열에 의해 연결된다. 이들 핵산 분자는 절단 전에 단일 쇄 폴리펩티드로서 번역되고, 단일 쇄 폴리펩티드의 아미노산 서열이 또한 본원에 제공된다.

[0484] 메소텔린에 결합하는 항원 결합 도메인, 예를 들어 SS1, 및 KIRS2 세포질 도메인, 뿐만 아니라 펩티드 절단 부위 T2A를 통해 연결된 DAP12 어댑터 분자를 포함하는 NKR-CAR의 핵산 및 아미노산 서열이 하기 제공된다:

[0485] DAP12-T2A-SS1-KIRS2 (서열식별번호: 332)

[0486] 1464 bp DNA

[0487] 특색 위치

[0488] DAP12 1..339

[0489] T2A 서열 352..408

[0490] SS1-scFv 481..1200

[0491] GS-링커 1207..1236

[0492] KIR2DS2-유래 서열 1237..1464

[0493]
ATGGGGGGAC TTGAACCCTG CAGCAGGTTC CTGCTCCTGC CTCTCCTGCT GGCTGTAAGT
GGTCTCCGTC CTGTCCAGGT CCAGGCCCAG AGCGATTGCA GTTGCTCTAC GGTGAGCCCG
GGCGTGCTGG CAGGGATCGT GATGGGAGAC CTGGTGCTGA CAGTGCTCAT TGCCCTGGCC
GTGTACTTCC TGGGCCGGCT GGTCCCTCGG GGGCGAGGGG CTGCGGAGGC AGCGACCCGG
AAACAGCGTA TCACTGAGAC CGAGTCGCCT TATCAGGAGC TCCAGGGTCA GAGGTCGGAT
GTCTACAGCG ACCTCAACAC ACAGAGGCCG TATTACAAAG TCGAGGGCGG CGGAGAGGGC
AGAGGAAGTC TTCTAACATG CGGTGACGTG GAGGAGAATC CCGGCCCTAG GATGGCCTTA
CCAGTGACCG CCTTGCTCCT GCCGCTGGCC TTGCTGCTCC ACGCCGCCAG GCCGGGATCC
CAGGTACAAC TGCAGCAGTC TGGGCCTGAG CTGGAGAAGC CTGGCGCTTC AGTGAAGATA
TCCTGCAAGG CTTCTGGTTA CTCATTCACT GGCTACACCA TGAACTGGGT GAAGCAGAGC
CATGGAAAGA GCCTTGAGTG GATTGGACTT ATTACTCCTT ACAATGGTGC TTCTAGCTAC
AACCAGAAGT TCAGGGGCAA GGCCACATTA ACTGTAGACA AGTCATCCAG CACAGCCTAC
ATGGACCTCC TCAGTCTGAC ATCTGAAGAC TCTGCAGTCT ATTTCTGTGC AAGGGGGGGT
TACGACGGGA GGGGTTTTGA CTACTGGGGC CAAGGGACCA CGGTCACCGT CTCCTCAGGT
GGAGGCGGTT CAGGCGGCGG TGGCTCTAGC GGTGGTGGAT CGGACATCGA GCTCACTCAG
TCTCCAGCAA TCATGTCTGC ATCTCCAGGG GAGAAGGTCA CCATGACCTG CAGTGCCAGC
TCAAGTGTAA GTTACATGCA CTGGTACCAG CAGAAGTCAG GCACCTCCCC CAAAAGATGG
ATTTATGACA CATCCAAACT GGCTTCTGGA GTCCCAGGTC GCTTCAGTGG CAGTGGGTCT
GGAAACTCTT ACTCTCTCAC AATCAGCAGC GTGGAGGCTG AAGATGATGC AACTTATTAC
TGCCAGCAGT GGAGTAAGCA CCCTCTCACG TACGGTGCTG GGACAAAGTT GGAAATCAAA
GCTAGCGGTG GCGGAGGTTC TGGAGGTGGG GGTTCCTCAC CCACTGAACC AAGCTCCAAA
ACCGGTAACC CCAGACACCT GCATGTTCTG ATTGGGACCT CAGTGGTCAA AATCCCTTTC
ACCATCCTCC TCTTCTTTCT CCTTCATCGC TGGTGCTCCA ACAAAAAAAA TGCTGCTGTA
ATGGACCAAG AGCCTGCAGG GAACAGAACA GTGAACAGCG AGGATTCTGA TGAACAAGAC
CATCAGGAGG TGTCATACGC ATAA

[0494] DAP12-T2A-SS1-KIRS2 (서열식별번호: 333)

[0495] 488 aa 단백질

[0496] 특색 위치

[0497] DAP12 1..113

[0498] T2A seq 118..136

[0499] CD8알파로부터의 신호_펩티드 138..158

[0500] SS1-scFv 161..400

[0501] GS-링커 403..412

[0502] KIR2DS2-유래 seq 413..487

[0503] 서열

[0504]
MGGLEPCSRF LLLPLLLAVS GLRPVQVQAQ SDCSCSTVSP GVLAGIVMGD LVLTVLIALA
VYFLGRLVPR GRGAAEAATR KQRITETESP YQELQGQRSD VYSDLNTQRP YYKVEGGGEG
RGSLLTCGDV EENPGPRMAL PVTALLLPLA LLLHAARPGS QVQLQQSGPE LEKPGASVKI
SCKASGYSFT GYTMNWVKQS HGKSLEWIGL ITPYNGASSY NQKFRGKATL TVDKSSSTAY
MDLLSLTSED SAVYFCARGG YDGRGFDYWG QGTTVTVSSG GGGSGGGGSS GGGSDIELTQ
SPAIMSASPG EKVTMTCSAS SSVSYMHWYQ QKSGTSPKRW IYDTSKLASG VPGRFSGSGS
GNSYSLTISS VEAEDDATYY CQQWSKHPLT YGAGTKLEIK ASGGGGSGGG GSSPTEPSSK
TGNPRHLHVL IGTSVVKIPF TILLFFLLHR WCSNKKNAAV MDQEPAGNRT VNSEDSDEQD
HQEVSYA

[0505] 메소텔린에 결합하는 항원 결합 도메인, 예를 들어 SS1, 및 TNKp46 세포질 도메인, 뿐만 아니라 펩티드 절단 부

위 T2A를 통해 연결된 FcεRγ 어댑터 분자를 포함하는 NKR-CAR의 핵산 및 아미노산 서열이 하기 제공된다:

[0506] FCERG-T2A-SS1-TNKp46 (서열식별번호: 334)

[0507] 1365 bp DNA

[0508] 특색 위치

[0509] FCERG 1..258

[0510] T2A 271..327

[0511] CD8알파로부터의 신호 펩티드 331..393

[0512] SS1-scFv 400..1119

[0513] GS-링커 1126..1155

[0514] NKp46-유래 서열 1156..1365

[0515] 서열

ATGATTCCAG CAGTGGTCTT GCTCTTACTC CTTTTGGTTG AACAAGCAGC GGCCCTGGGA
GAGCCTCAGC TCTGCTATAT CCTGGATGCC ATCCTGTTTC TGTATGGAAT TGTCCTCACC
CTCCTCTACT GCCGACTGAA GATCCAAGTG CGAAAGGCAG CTATAACCAG CTATGAGAAA
TCAGATGGTG TTTACACGGG CCTGAGCACC AGGAACCAGG AGACTTACGA GACTCTGAAG
CATGAGAAAC CACCACAGTC CGGAGGCGGC GGAGAGGGCA GAGGAAGTCT TCTAACATGC
GGTGACGTGG AGGAGAATCC CGGCCCTAGG ATGGCCTTAC CAGTGACCGC CTTGCTCCTG
CCGCTGGCCT TGCTGCTCCA CGCCGCCAGG CCGGGATCCC AGGTACAACT GCAGCAGTCT
GGGCCTGAGC TGGAGAAGCC TGGCGCTTCA GTGAAGATAT CCTGCAAGGC TTCTGGTTAC
TCATTCACTG GCTACACCAT GAACTGGGTG AAGCAGAGCC ATGGAAAGAG CCTTGAGTGG
ATTGGACTTA TTACTCCTTA CAATGGTGCT TCTAGCTACA ACCAGAAGTT CAGGGGCAAG
GCCACATTAA CTGTAGACAA GTCATCCAGC ACAGCCTACA TGGACCTCCT CAGTCTGACA
TCTGAAGACT CTGCAGTCTA TTTCTGTGCA AGGGGGGGTT ACGACGGGAG GGGTTTTGAC
TACTGGGGCC AAGGGACCAC GGTCACCGTC TCCTCAGGTG GAGGCGGTTC AGGCGGCGGT
GGCTCTAGCG GTGGTGGATC GGACATCGAG CTCACTCAGT CTCCAGCAAT CATGTCTGCA
TCTCCAGGGG AGAAGGTCAC CATGACCTGC AGTGCCAGCT CAAGTGTAAG TTACATGCAC
TGGTACCAGC AGAAGTCAGG CACCTCCCCC AAAAGATGGA TTTATGACAC ATCCAAACTG
GCTTCTGGAG TCCCAGGTCG CTTCAGTGGC AGTGGGTCTG GAAACTCTTA CTCTCTCACA
ATCAGCAGCG TGGAGGCTGA AGATGATGCA ACTTATTACT GCCAGCAGTG GAGTAAGCAC
CCTCTCACGT ACGGTGCTGG GACAAAGTTG GAAATCAAAG CTAGCGGTGG CGGAGGTTCT
GGAGGTGGGG GTTCCTTAAC CACAGAGACG GGACTCCAGA AAGACCATGC CCTCTGGGAT
CACACTGCCC AGAATCTCCT TCGGATGGGC CTGGCCTTTC TAGTCCTGGT GGCTCTAGTG
TGGTTCCTGG TTGAAGACTG GCTCAGCAGG AAGAGGACTA GAGAGCGAGC CAGCAGAGCT
TCCACTTGGG AAGGCAGGAG AAGGCTGAAC ACACAGACTC TTTGA

[0516]

[0517] FCERG-T2A-SS1-TNKp46 (서열식별번호: 335)

[0518] 455aa 단백질

[0519] 특색 위치

[0520] FCERG 1..86

[0521] T2A 91..109

[0522] CD8알파로부터의 신호 펩티드 111..131

[0523] SS1-scFv 134..373

[0524] GS-링커 376..385

[0525] NKp46-유래 서열 386..454

[0526] 서열

MIPAVVLLLL LLVEQAAALG EPQLCYILDA ILFLYGIVLT LLYCRLKIQV RKAAITSYEK
SDGVYTGLST RNQETYETLK HEKPPQSGGG GEGRGSLLTC GDVEENPGPR MALPVTALLL
PLALLLHAAR PGSQVQLQQS GPELEKPGAS VKISCKASGY SFTGYTMNWV KQSHGKSLEW
IGLITPYNGA SSYNQKFRGK ATLTVDKSSS TAYMDLLSLT SEDSAVYFCA RGGYDGRGFD
YWGQGTTVTV SSGGGGSGGG GSSGGGSDIE LTQSPAIMSA SPGEKVTMTC SASSSVSYMH
WYQQKSGTSP KRWIYDTSKL ASGVPGRFSG SGSGNSYSLT ISSVEAEDDA TYYCQQWSKH
PLTYGAGTKL EIKASGGGGS GGGGSLTTET GLQKDHALWD HTAQNLLRMG LAFLVLVALV
[0527] WFLVEDWLSR KRTRERASRA STWEGRRRLN TQTL

[0528] CD19에 결합하는 항원 결합 도메인 및 KIRS2 세포질 도메인, 뿐만 아니라 펩티드 절단 부위 T2A를 통해 연결된 DAP12 어댑터 분자를 포함하는 NKR-CAR의 핵산 및 아미노산 서열이 하기 제공된다:

[0529] DAP12-T2A-CD19-KIRS2 (서열식별번호: 336)

[0530] 1470 bp DNA

[0531] 특색 위치

[0532] DAP12 1..339

[0533] T2A 서열 352..408

[0534] CD19-scFv 481.. 481

[0535] GS-링커 1213..1242

[0536] KIR2DS2-유래 서열 1243..1470

[0537] 서열

ATGGGGGGAC TTGAACCCTG CAGCAGGTTC CTGCTCCTGC CTCTCCTGCT GGCTGTAAGT
GGTCTCCGTC CTGTCCAGGT CCAGGCCCAG AGCGATTGCA GTTGCTCTAC GGTGAGCCCG
GGCGTGCTGG CAGGGATCGT GATGGGAGAC CTGGTGCTGA CAGTGCTCAT TGCCCTGGCC
GTGTACTTCC TGGGCCGGCT GGTCCCTCGG GGGCGAGGGG CTGCGGAGGC AGCGACCCGG
AAACAGCGTA TCACTGAGAC CGAGTCGCCT TATCAGGAGC TCCAGGGTCA GAGGTCGGAT
GTCTACAGCG ACCTCAACAC ACAGAGGCCG TATTACAAAG TCGAGGGCGG CGGAGAGGGC
AGAGGAAGTC TTCTAACATG CGGTGACGTG GAGGAGAATC CCGGCCCTAG GATGGCCTTA
CCAGTGACCG CCTTGCTCCT GCCGCTGGCC TTGCTGCTCC ACGCCGCCAG GCCGGGATCC
GACATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT CTCTGGGAGA CAGAGTCACC
ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA GGACATTAGT AAATATTTAA ATTGGTATCA GCAGAAACCA
GATGGAACTG TTAAACTCCT GATCTACCAT ACATCAAGAT TACACTCAGG AGTCCCATCA
AGGTTCAGTG GCAGTGGGTC TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTAGCAA CCTGGAGCAA
GAAGATATTG CCACTTACTT TTGCCAACAG GGTAATACGC TTCCGTACAC GTTCGGAGGG
GGGACTAAGT TGGAAATAAC AGGTGGCGGT GGCTCGGGCG GTGGTGGGTC GGGTGGCGGC
GGATCTGAGG TGAAACTGCA GGAGTCAGGA CCTGGCCTGG TGGCGCCCTC ACAGAGCCTG
TCCGTCACAT GCACTGTCTC AGGGGTCTCA TTACCCGACT ATGGTGTAAG CTGGATTCGC
CAGCCTCCAC GAAAGGGTCT GGAGTGGCTG GGAGTAATAT GGGGTAGTGA AACCACATAC
TATAATTCAG CTCTCAAATC CAGACTGACC ATCATCAAGG ACAACTCCAA GAGCCAAGTT
TTCTTAAAAA TGAACAGTCT GCAAACTGAT GACACAGCCA TTTACTACTG TGCCAAACAT
TATTACTACG GTGGTAGCTA TGCTATGGAC TACTGGGGTC AAGGAACCTC AGTCACCGTC
TCCTCAGCTA GCGGTGGCGG AGGTTCTGGA GGTGGGGGTT CCTCACCCAC TGAACCAAGC
TCCAAAAACG GTAACCCCAG ACACCTGCAT GTTCTGATTG GGACCTCAGT GGTCAAAATC
CCTTTCACCA TCCTCCTCTT CTTTCTCCTT CATCGCTGGT GCTCCAACAA AAAAAATGCT
GCTGTAATGG ACCAAGAGCC TGCAGGGAAC AGAACAGTGA ACAGCGAGGA TTCTGATGAA
[0538] CAAGACCATC AGGAGGTGTC ATACGCATAA

[0539] DAP12-T2A-CD19-KIRS2 (서열식별번호: 337)

[0540] 489 aa 단백질

[0541] 특색 위치

[0542] DAP12 1..113

[0543] T2A seq 118..136

[0544] CD8알파로부터의 신호_펩티드 138..158

[0545] CD19-scFv 161.. 402

[0546] GS-링커 405..414

[0547] KIR2DS2-유래 seq 415..489

[0548] 서열

[0549]
MGGLEPCSRF LLLPLLLAVS GLRPVQVQAQ SDCSCSTVSP GVLAGIVMGD LVLTVLIALA
VYFLGRLVPR GRGAAEAATR KQRITETESP YQELQGQRSD VYSDLNTQRP YYKVEGGGEG
RGSLLTCGDV EENPGPRMAL PVTALLLPLA LLLHAARPGS DIQMTQTTSS LSASLGDRVT
ISCRASQDIS KYLNWYQQKP DGTVKLLIYH TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ
EDIATYFCQQ GNTLPYTFGG GTKLEITGGG GSGGGGSGGG GSEVKLQESG PGLVAPSQSL
SVTCTVSGVS LPDYGVSWIR QPPRKGLEWL GVIWGSETTY YNSALKSRLT IIKDNSKSQV
FLKMNSLQTD DTAIYYCAKH YYYGGSYAMD YWGQGTSVTV SSASGGGGSG GGGSSPTEPS
SKTGNPRHLH VLIGTSVVKI PFTILLFFLL HRWCSNKKNA AVMDQEPAGN RTVNSEDSDE
QDHQEVSYA*

[0550] 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 KIR2DS2 막횡단 도메인이다. KIR2DS2 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 하기와 같다:

[0551] VLIGTSVVKIPFTILLFFLL (SEQ ID NO: 357)

[0552] 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 KIR2DL3 막횡단 도메인이다. KIR2DL3 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 하기와 같다:

[0553] VLIGTSVVIILFILLLFFLL (SEQ ID NO: 358)

[0554] 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 NKp46 막횡단 도메인이다. NKp46 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 하기와 같다:

[0555] LLRMGLAFLVLVALVWFLVEDWLS (SEQ ID NO: 359)

[0556] 한 실시양태에서, 세포질 도메인은 KIR2DS2, 예를 들어 도 29에 제시된 바와 같은 자연 발생 KIRS2DS2로부터 유래된다. 본원에서 KIRS2 도메인으로도 지칭되는 KIR2DS2-유래 세포질 도메인의 아미노산 서열은 하기와 같다:

[0557] HRWCSNKKNAAVMDQEPAGNRTVNSEDSDEQDHQEVSYA (SEQ ID NO: 360)

[0558] 한 실시양태에서, 세포질 도메인은 KIR2DL3, 예를 들어 도 30에 제시된 바와 같은 자연 발생 KIR2DL3으로부터 유래된다. 본원에서 KIRL3 도메인으로도 지칭되는 KIR2DL3-유래 세포질 도메인의 아미노산 서열은 하기와 같다:

[0559]
HRWCCNKKNAVVMDQEPAGNRTVNREDSDEQDPQEVTYAQLNHCVFTQRKITHPSQRPKTPPTDIIVYTE
LPNAEP (SEQ ID NO: 361)

[0560] 한 실시양태에서, 세포질 도메인은 NKp46, 예를 들어 도 31에 제시된 바와 같은 자연 발생 NKp46으로부터 유래된다. 본원에서 tNKp46 또는 TNKp46 도메인으로도 지칭되는 NKp46-유래 세포질 도메인의 아미노산 서열은 하기와 같다:

[0561] RKRTRERASRASTWEGRRRLNTQTL (SEQ ID NO: 362)

[0562] 한 실시양태에서, 막횡단 및 세포질 도메인은, 집합적으로, 하기 제공된 아미노산 서열을 포함한다:

[0563]
VLIGTSVVKIPFTILLFFLLHRWCSNKKNAAVMDQEPAGNRTVNSEDSDEQDHQEVSYA (SEQ ID
NO: 371)

[0564] 메소텔린에 결합하는 인간 항원 결합 도메인을 포함하는 KIR-CAR에 대한 핵산 및 아미노산 서열이 또한 본원에 제공된다. 예를 들어, 리더 서열, 인간 메소텔린-특이적 항원 결합 도메인 M5, 및 KIRS2 세포질 도메인을 포함하는 KIR-CAR의 핵산 서열이 하기 제공된다. 밑줄표시된 서열은 M5 scFv의 서열을 지정하고, 이는 임의의 다른 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 인간 항-메소텔린 scFv와 용이하게 상호교환될 수 있다.

Atggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccgggatccc
aagtccaactcgttcaatcaggcgcagaagtcgaaaagcccggagcatcagtcaaagtctcttgcaaggc
ttccggctacaccttcacggactactacatgcactgggtgcgccaggctccaggccagggactggagtgg
atgggatggatcaacccgaattccgggggaactaactacgcccagaagtttcagggccgggtgactatga
ctcgcgatacctcgatctcgactgcgtacatggagctcagccgcctccggtcggacgataccgccgtgta
ctattgtgcgtcgggatgggacttcgactactgggggcagggcactctggtcactgtgtcaagcggagga
ggtggatcaggtggaggtggaagcgggggaggaggttccggcggcggaggatcagatatcgtgatgacgc
aatcgccttcctcgttgtccgcatccgtgggagacagggtgaccattacttgcagagcgtcccagtccat
tcggtactacctgtcgtggtaccagcagaagccggggaaagccccaaaactgcttatctatactgcctcg
atcctccaaaacggcgtgccatcaagattcagcggttcgggcagcgggaccgactttaccctgactatca
gcagcctgcagccggaagatttcgccacgtactactgcctgcaaacctacaccaccccggacttcggacc
tggaaccaaggtggagatcaaggctagcggtggcggaggttctggaggtgggggttcctcacccactgaa
ccaagctccaaaaccggtaaccccagacacctgcatgttctgattgggacctcagtggtcaaaatccctt
tcaccatcctcctcttctttctccttcatcgctggtgctccaacaaaaaaaatgctgctgtaatggacca
agagcctgcagggaacagaacagtgaacagcgaggattctgatgaacaagaccatcaggaggtgtcatac
gcataa

(SEQ ID NO: 363)

[0565]

[0566] 리더 서열, 인간 메소텔린-특이적 항원 결합 도메인 M5, 및 KIRS2 세포질 도메인을 포함하는 KIR-CAR의 아미노산 서열이 하기 제공된다. 밑줄표시된 서열은 M5 scFv의 서열을 지정하고, 이는 임의의 다른 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 인간 항-메소텔린 scFv와 용이하게 상호교환될 수 있다.

MALPVTALLLPLALLLHAARPGSQVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEW
MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCASGWDFDYWGQGTLVTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYYLSWYQQKPGKAPKLLIYTAS
ILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQTYTTPDFGPGTKVEIKASGGGGSGGGGSSPTE
PSSKTGNPRHLHVLIGTSVVKIPFTILLFFLLHRWCSNKKNAAVMDQEPAGNRTVNSEDSDEQDHQEVSY
A

(SEQ ID NO: 364)

[0567]

[0568] 또 다른 예에서, 리더 서열, 인간 메소텔린-특이적 항원 결합 도메인 M5, 및 KIRS2 세포질 도메인을 포함하고 추가로 펩티드 절단 부위 및 어댑터 분자 DAP12 서열을 포함하는 다중-쇄 KIR-CAR의 핵산 서열이 하기 제공된다. 밑줄표시된 서열은 M5 scFv의 서열을 지정하고, 이는 임의의 다른 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 인간 항-메소텔린 scFv와 용이하게 상호교환될 수 있다. 볼드체 서열은 DAP12 서열을 지정하고, 이탤릭체 서열은 펩티드 절단 부위 T2A를 지정한다.

ATGGGGGGACTTGAACCCTGCAGCAGGTTCCTGCTCCTGCCTCTCCTGCTGGCTGTAAGTGGTCTCCGTC
CTGTCCAGGTCCAGGCCCAGAGCGATTGCAGTTGCTCTACGGTGAGCCCGGGCGTGCTGGCAGGGATCGT
GATGGGAGACCTGGTGCTGACAGTGCTCATTGCCCTGGCCGTGTACTTCCTGGGCCGGCTGGTCCCTCGG
GGGCGAGGGGCTGCGGAGGCAGCGACCCGGAAACAGCGTATCACTGAGACCGAGTCGCCTTATCAGGAGC
TCCAGGGTCAGAGGTCGGATGTCTACAGCGACCTCAACACACAGAGGCCGTATTACAAA*Tccggaggcag*
*cggagagggcagaggaagtcttctaacatgcggtgacgtggaggagaatcccggcc*CTAGGatggcctta
ccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccggGATCCcaagtccaac
tcgttcaatcaggcgcagaagtcgaaaagcccggagcatcagtcaaagtctcttgcaaggcttccggcta
caccttcacggactactacatgcactgggtgcgccaggctccaggccagggactggagtgggatgggatgg
atcaacccgaattccgggggaactaactacgcccagaagtttcagggccgggtgactatgactcgcgata
cctcgatctcgactgcgtacatggagctcagccgcctccggtcggacgataccgccgtgtactattgtgc
gtcgggatgggacttcgactactgggggcagggcactctggtcactgtgtcaagcggaggaggtggatca
ggtggaggtggaagcgggggaggaggttccggcggcggaggatcagatatcgtgatgacgcaatcgcctt
cctcgttgtccgcatccgtgggagacagggtgaccattacttgcagagcgtcccagtccattcggtacta
cctgtcgtggtaccagcagaagccggggaaagccccaaaactgcttatctatactgcctcgatcctccaa
aacggcgtgccatcaagattcagcggttcgggcagcgggaccgactttaccctgactatcagcagcctgc
agccggaagatttcgccacgtactactgcctgcaaacctacaccaccccggacttcggacctggaaccaa
ggtggagatcaagGctagcggtggcggaggttctggaggtgggggttcctcacccactgaaccaagctcc
aaaaccggtaaccccagacacctgcatGTTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCAAAATCCCTTTCACCATCC
TCCTCTTCTTTCTCCTTcatcgctggtgctccaacaaaaaaaatgctgctgtaatggaccaagagcctgc
agggaacagaacagtgaacagcgaggattctgatgaacaagaccatcaggaggtgtcatacgcataa

(SEQ ID NO: 365)

[0569]

[0570] 리더 서열, 인간 메소텔린-특이적 항원 결합 도메인 M5, 및 KIRS2 세포질 도메인을 포함하고 추가로 펩티드 절단 부위 및 어댑터 분자 DAP12 서열을 포함하는 다중-쇄 KIR-CAR의 아미노산 서열이 하기 제공된다. 밑줄표시된 서열은 M5 scFv의 서열을 지정하고, 이는 임의의 다른 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 인간 항-메소텔린 scFv와 용이하게 상호교환될 수 있다. 볼드체 서열은 DAP12 서열을 지정하고, 이탤릭체 서열은 펩티드 절단 부위 T2A를 지정한다.

MGGLEPCSRFLLLPLLLAVSGLRPVQVQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPR
GRGAAEAATRKQRITETESPYQELQGQRSDVYSDLNTQRPYYKS*GGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPR*MAL
PVTALLLPLALLLHAARPGSQVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGW
INPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCASGWDFDYWGQGTLVTVSSGGGGS
GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYYLSWYQQKPGKAPKLLIYTASILQ
NGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQTYTTPDFGPGTKVEIKASGGGGSGGGGSSPTEPSS
KTGNPRHLHVLIGTSVVKIPFTILLFFLLHRWCSNKKNAAVMDQEPAGNRTVNSEDSDEQDHQEVSYA
(SEQ ID NO: 366)

[0571]

[0572] 세포질 도메인

[0573] 본원에 기재된 CAR, 예를 들어 NKR-CAR 또는 TCAR의 세포질 도메인은 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 신호전달 도메인은 CAR이 도입된 면역 이펙터 세포의 정상 이펙터 기능 중 적어도 1종을 활성화할 수 있다.

[0574] 본 발명의 CAR에 사용하기 위한 세포내 신호전달 도메인의 예는 항원 수용체 연관 후에 신호 전달을 개시하기 위해 함께 작용하는 T 세포 수용체 (TCR) 및 보조-수용체의 세포질 서열, 뿐만 아니라 동일한 기능적 능력을 갖는 이들 서열의 임의의 유도체 또는 변이체 및 임의의 재조합 서열을 포함한다.

[0575] TCR을 통해 생성된 신호 단독은 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 완전한 활성화를 위해 불충분하고 2차 및/또는 공동자극 신호가 또한 필요한 것으로 공지되어 있다. 따라서, 면역 이펙터 세포 활성화, 예를 들어 T 세포 활성화 또는 NK 세포 활성화는 세포질 신호전달 서열의 2개의 별개의 부류에 의해 매개된다고 언급될 수 있다: TCR을 통해 항원-의존성 1차 활성화를 개시하는 것 (1차 세포내 신호전달 도메인) 및 2차 또는 공동자극 신호를 제공하기 위해 항원-비의존성 방식으로 작용하는 것 (2차 세포질 도메인, 예를 들어 공동자극 도메인).

[0576] 1차 세포내 신호전달 도메인

[0577] 일부 실시양태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 융합된 세포외 도메인, 예를 들어 항원 결합 도메인이 동족 항원에 결합한 경우에 세포내 신호를 생성한다. 이는 1차 자극 분자로부터 유래되고, 예를 들어 이는 1차 자극 분자의 세포내 서열을 포함한다. 예를 들어 융합된 항원 결합 도메인이 동족 항원에 결합한 경우에 세포내 신호를 생성하는데 충분한 1차 자극 분자 서열을 포함한다.

[0578] 1차 자극 분자는 동족 리간드에의 결합 시, 예를 들어 그것이 발현된 세포에서 면역 이펙터 반응을 매개하는 분자이다. 전형적으로, 이는 항원을 포함하는 동족 리간드에의 결합에 의존하여 세포내 신호를 생성한다. TCR/CD3 복합체는 예시적인 1차 자극 분자이고; 이는 동족 리간드, 예를 들어 펩티드가 로딩된 MHC 분자에의 결합 시 세포내 신호를 생성한다. 전형적으로, 예를 들어 TCR/CD3 1차 자극 분자의 경우에, 1차 세포내 신호전달 도메인에 의한 세포내 신호의 생성은 항원에의 1차 자극 분자의 결합에 의존한다.

[0579] 1차 자극은 특정 분자의 변경된 발현, 예컨대 TGF-β의 하향조절, 및/또는 세포골격 구조의 재구성 등을 매개할 수 있다. 자극은 예를 들어 공동자극의 존재 하에, T 세포의 면역 이펙터 기능에서의 최적화, 예를 들어 증가를 발생시킬 수 있다. 자극은, 예를 들어 T 세포와 관련하여, T 세포 반응, 예를 들어 증식, 활성화, 분화 등을 매개할 수 있다.

[0580] 한 실시양태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 신호전달 모티프, 예를 들어 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM을 포함한다. 1차 세포내 신호전달 도메인은 TCR 제타 (CD3 제타), FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"로도 공지됨), FcεRI, DAP10, DAP12, 및 CD66d로부터의 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM을 포함할 수 있다.

[0581] 예시적인 ITAM-함유 1차 세포내 신호전달 도메인이 표 2에 제공된다.

표 2: 1차 세포내 신호전달 도메인(예를 들어, ITAM-함유 도메인)	
CD3 제타	CD5
FcR 감마	CD22
FcR 베타	CD278 (“ICOS”)
CD3 감마	Fc 엡실론 RI (FcεRI)
CD3 델타	CD66d
CD3 엡실론	DAP10
CD79a	DAP12
CD79b	

[0582]

[0583] 한 실시양태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 변형된 ITAM 도메인, 예를 들어 천연 ITAM 도메인과 비교하여 변경된 (예를 들어, 증가된 또는 감소된) 활성을 갖는 돌연변이된 ITAM 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 변형된 ITAM-함유 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 최적화된 및/또는 말단절단된 ITAM-함유 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 1, 2, 3, 4개 또는 그 초과의 ITAM 모티프를 포함한다.

[0584] 1차 세포내 신호전달 도메인은 1차 자극 분자 (예를 들어, CD3 제타 - 진뱅크 수탁 번호 BAG36664.1)의 기능적 단편 또는 유사체를 포함한다. 이는 융합되거나 이량체화 스위치에 의해 커플링된 항원 결합 도메인이 동족 항원에 결합한 경우에 세포내 신호를 생성하는데 충분한 전체 세포내 영역 또는 세포내 영역의 단편을 포함할 수 있다. 실시양태에서 1차 세포내 신호전달 도메인은 자연 발생 1차 자극 분자, 예를 들어 표 2에 개시된 1차 자극 분자, 예를 들어 인간 (진뱅크 수탁 번호 BAG36664.1), 또는 다른 포유동물, 예를 들어 비인간 종, 예를 들어 설치류, 원숭이, 유인원 또는 뮤린 세포내 1차 자극 분자와 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 또는 99 % 서열 동일성을 갖는다. 실시양태에서 1차 세포내 신호전달 도메인은 서열식별번호: 9 또는 서열식별번호: 10과 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 또는 99 % 서열 동일성을 갖는다.

[0585] 실시양태에서 1차 세포내 신호전달 도메인은 자연 발생 인간 1차 자극 분자, 예를 들어 본원에 개시된 자연 발생 인간 1차 자극 분자의 상응하는 잔기와 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일성을 갖거나, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기만큼 상이하다.

[0586] TCAR의 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3-제타 신호전달 도메인을 단독으로 포함할 수 있거나, TCAR과 관련하여 유용한 임의의 다른 목적 세포내 신호전달 도메인(들)과 조합될 수 있다. 예를 들어, TCAR의 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3 제타 쇄 부분, 및 1개 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 공동자극 신호전달 도메인의 예하 하기 제공된다.

[0587] 공동자극 신호전달 도메인

[0588] 한 실시양태에서, 공동자극 신호전달 도메인은 융합되거나 이량체화 스위치에 의해 커플링된 세포외 도메인, 예를 들어 항원 결합 도메인이 동족 리간드에 결합한 경우에 세포내 신호를 생성한다. 이는 공동자극 분자로부터 유래된다. 이는 예를 들어 융합되거나 이량체화 스위치에 의해 커플링된 세포외 도메인, 예를 들어 항원 결합 도메인이 동족 항원에 결합한 경우에 세포내 신호를 생성하는데 충분한 1차 공동자극 분자 서열을 포함한다.

[0589] 공동자극 분자는 면역 이펙터 반응을 촉진하는, 항원 수용체 또는 그의 대응 리간드 이외의 세포 표면 분자이다. 일부 경우에 이는 효율적이거나 증진된 면역 반응을 위해 요구된다. 전형적으로, 공동자극 분자는 실시양태에서 항원, 예를 들어 T 세포의 항원 결합 도메인에 의해 인식되는 항원 이외의 것인 동족 리간드에의 결합에 의존하여 세포내 신호를 생성한다. 전형적으로, 1차 자극 분자 및 공동자극 분자로부터의 신호전달은 면역 이펙터 반응에 기여하고, 일부 경우에 면역 이펙터 반응의 효율적이거나 증진된 생성을 위해 둘 다 요구된다.

[0590] 공동자극 신호전달 도메인은 공동자극 분자 (예를 들어, 4-1BB, CD28, CD27, 및 ICOS)의 기능적 단편 또는 유사체를 포함한다. 이는 예를 들어, 융합되거나 이량체화 스위치에 의해 커플링된 항원 결합 도메인이 동족 항원에 결합한 경우에 세포내 신호를 생성하는데 충분한 공동자극 분자의 전체 세포내 영역 또는 세포내 영역의 단

편을 포함할 수 있다. 실시양태에서 공동자극 신호전달 도메인은 본원에 기재된 자연 발생 공동자극 분자, 예를 들어 인간 또는 다른 포유동물, 예를 들어 비인간 종, 예를 들어 설치류, 원숭이, 유인원 또는 뮤린 세포내 공동자극 분자와 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 또는 99 % 서열 동일성을 갖는다. 실시양태에서 공동자극 도메인은 서열식별번호: 7, 서열식별번호: 8, 서열식별번호: 36, 또는 서열식별번호: 38과 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 또는 99 % 서열 동일성을 갖는다.

[0591] 예시적인 공동자극 신호전달 도메인 (세포내 신호전달 도메인)이 표 3에 제공된다.

표 3: 공동자극 신호전달 도메인 (이들이 유래된 공동자극 분자에 의해 확인됨)

CD27	MHC 부류 I 분자	SLAMF7	ITGA4	CD11c
CD28	TNF 수용체 단백질	NKp80 (KLRF1)	IA4	ITGB1
4-1BB (CD137)	이뮤노글로불린-유사 단백질	NKp44	CD49D	CD29
OX40	시토카인 수용체	NKp30	ITGA6	ITGB2
CD30	인테그린	NKp46	VLA-6	CD18
CD40	신호전달 림프구성 활성화 분자 (SLAM 단백질)	CD19	CD49f	ITGB7
ICOS (CD278)	활성화 NK 세포 수용체	CD4	ITGAD	NKG2D
ICAM-1	톨 리간드 수용체	CD8 알파	CD11d	TNFR2
LFA-1 (CD11a/ CD18)	BTLA	CD8 베타	ITGAE	TRANCE/ RANKL
CD2	CDS	IL2R 베타	CD103	DNAM1 (CD226)
CD7	ICAM-1	IL2R 감마	ITGAL	SLAMF4 (CD244, 2B4)
LIGHT	GITR	IL7R 알파	CD11a	CD84
NKG2C	BAFFR	ITGA4	ITGAM	CD96 (Tactile)
B7-H3	HVEM (LIGHTR)	VLA1	CD11b	CEACAM1
CD83과 특이적으로 결합하는 리간드	KIRDS2	CD49a	ITGAX	CRTAM
Ly9 (CD229)	CD160 (BY55)	PSGL1	CD100 (SEMA4D)	CD69
SLAMF6 (NTB-A, Ly108)	SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3)	BLAME (SLAMF8)	SELPLG (CD162)	LTBR
LAT	GADS	SLP-76	PAG/Cbp	CD19a

[0592]

[0593] 실시양태에서 공동자극 신호전달 도메인은 자연 발생 인간 1차 자극 분자, 예를 들어 본원에 개시된, 예를 들어 표 3에 제공된 자연 발생 인간 공동자극 분자의 상응하는 잔기와 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일성을 갖거나, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기만큼 상이하다.

[0594] TCAR의 세포질 도메인 내의 세포내 신호전달 서열은 서로 무작위 또는 명시된 순서로 연결될 수 있다. 임의로, 예를 들어 2 내지 10개 아미노산 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 아미노산) 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커는 세포내 신호전달 서열 사이에 연결을 형성할 수 있다. 한 실시양태에서, 글리신-세린 이중체가 적합한 링커로서 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 단일 아미노산, 예를 들어 알라닌, 글리신이 적합한 링커로서 사용될 수 있다.

[0595] 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5개 또는 그 초과의 공동자극 신호전달

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

[0596] 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 4-1BB의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, 4-1BB의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 신호전달 도메인이다. 한 측면에서, 4-1BB의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 18의 핵산 서열에 의해 코딩된다. 한 측면에서, CD3-제타의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 9 (돌연변이체 CD3-제타) 또는 서열식별번호: 10 (야생형 인간 CD3-제타)의 아미노산 서열을 포함하는 신호전달 도메인이다.

[0597] 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 CD27의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, CD27의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 포함한다. 한 측면에서, CD27의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 19의 핵산 서열에 의해 코딩된다. 한 측면에서, CD3-제타의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 9 (돌연변이체 CD3-제타) 또는 서열식별번호: 10 (야생형 인간 CD3-제타)의 아미노산 서열을 포함하는 신호전달 도메인이다.

[0598] 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 CD28의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, CD28의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함한다. 한 측면에서, CD28의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 37의 핵산 서열에 의해 코딩된다. 한 측면에서, CD3-제타의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 9 (돌연변이체 CD3-제타) 또는 서열식별번호: 10 (야생형 인간 CD3-제타)의 아미노산 서열을 포함하는 신호전달 도메인이다.

[0599] 한 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 ICOS의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 한 측면에서, ICOS의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함한다. 한 측면에서, ICOS의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 39의 핵산 서열에 의해 코딩된다. 한 측면에서, CD3-제타의 신호전달 도메인은 서열식별번호: 9 (돌연변이체 CD3-제타) 또는 서열식별번호: 10 (야생형 인간 CD3-제타)의 아미노산 서열을 포함하는 신호전달 도메인이다.

[0600] 막횡단 도메인

[0601] 막횡단 도메인과 관련하여, 다양한 실시양태에서, CAR은 CAR의 세포외 도메인에 부착된 막횡단 도메인을 포함하도록 설계될 수 있다. 이전에 기재된 바와 같이, 본원에 기재된 NKR-CAR의 막횡단 도메인은 NKR의 막횡단 도메인, 예를 들어 KIR 막횡단 도메인, NCR 막횡단 도메인, SLAMF 막횡단 도메인, FcR 막횡단 도메인, 예를 들어 CD16 막횡단 도메인 또는 CD64 막횡단 도메인, 또는 Ly49 막횡단 도메인일 수 있다. 대안적으로, 본원에 기재된 NKR-CAR 또는 TCAR의 막횡단 도메인은 하기 기재된 막횡단 도메인 중 어느 하나일 수 있다.

[0602] 막횡단 도메인은 천연 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 공급원이 천연인 경우에, 도메인은 임의의 막-결합 또는 막횡단 단백질로부터 유래될 수 있다. 한 측면에서, 막횡단 도메인은 CAR이 표적에 결합할 때마다 세포내 도메인(들)에 신호전달을 할 수 있다. 본 발명에서 특히 유용한 막횡단 도메인은 적어도 예를 들어 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8 (예를 들어, CD8 알파, CD8 베타), CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154의 막횡단 영역(들)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인은 적어도, 예를 들어 KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 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, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKG2D, NKG2C, 및 CD19의 막횡단 영역(들)을 포함할 수 있다.

[0603] 막횡단 도메인은 막횡단 영역에 인접한 1개 이상의 추가의 아미노산, 예를 들어 막횡단이 유래된 단백질의 세포외 영역과 회합된 1개 이상의 아미노산 (예를 들어, 세포외 영역의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 최대 15개의 아미노산) 및/또는 막횡단 단백질이 유래된 단백질의 세포내 영역과 회합된 1개 이상의 추가의 아미노산 (예를 들어, 세포내 영역의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 최대 15개의 아미노산)을 포함할 수 있다. 한

측면에서, 막횡단 도메인은 사용된 CAR의 다른 도메인 중 1개와 회합된 것이다. 일부 경우에, 막횡단 도메인은 이러한 도메인이 동일 또는 상이한 표면 막 단백질의 막횡단 도메인에 결합하는 것을 피하기 위해, 예를 들어 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하기 위해 선택될 수 있거나 또는 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다. 한 측면에서, 막횡단 도메인은 CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 세포, 세포 표면 상의 또 다른 CAR과 동종이량체화 가능하다. 상이한 측면에서, 막횡단 도메인의 아미노산 서열은 동일한 CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 세포에 존재하는 천연 결합 파트너의 결합 도메인과의 상호작용을 최소화하기 위해 변형 또는 치환될 수 있다.

[0604] 일부 경우에, 막횡단 도메인은 힌지, 예를 들어 인간 단백질로부터의 힌지를 통해 CAR의 세포외 영역, 예를 들어 CAR의 항원 결합 도메인에 부착될 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 힌지는 인간 Ig (이뮤노글로불린) 힌지, 예를 들어 IgG4 힌지 또는 CD8a 힌지일 수 있다. 한 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 포함한다 (예를 들어, 그로 이루어진다). 한 측면에서, 막횡단 도메인은 서열식별번호: 6의 막횡단 도메인을 포함한다 (예를 들어, 그로 이루어진다).

[0605] 한 측면에서, 힌지 또는 스페이서는 IgG4 힌지를 포함한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 아미노산 서열 서열식별번호: 3의 힌지를 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 서열식별번호: 14의 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된 힌지를 포함한다.

[0606] 한 측면에서, 힌지 또는 스페이서는 IgD 힌지를 포함한다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 아미노산 서열 서열식별번호: 4를 포함한다. 일부 실시양태에서, 힌지 또는 스페이서는 서열식별번호: 15의 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된 힌지를 포함한다.

[0607] 한 측면에서, 막횡단 도메인은 재조합일 수 있고, 이 경우에 이는 소수성 잔기, 예컨대 류신 및 발린을 우세하게 포함할 것이다. 한 측면에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체가 재조합 막횡단 도메인의 각각의 말단에서 발견될 수 있다.

[0608] 임의로, 2 내지 10개 아미노산 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커는 CAR의 막횡단 도메인과 세포질 영역 사이에 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체는 특히 적합한 링커를 제공한다. 예를 들어, 한 측면에서, 링커는 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 서열식별번호: 16의 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩된다.

[0609] 한 측면에서, 힌지 또는 스페이서는 KIR2DS2 힌지를 포함한다.

[0610] 키메라 TCR

[0611] 한 측면에서, 본원에 기재된 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된, 예를 들어 표 4에 제공된 바와 같은 항체 또는 항체 단편은 T 세포 수용체 ("TCR") 쇄, 예를 들어 TCR 알파 또는 TCR 베타 쇄의 1개 이상의 불변 도메인에 그라프팅되어 목적 종양 항원에 특이적으로 결합하는 키메라 TCR을 생성할 수 있다. 이론에 얽매이는 것은 아니지만, 키메라 TCR은 항원 결합 시 TCR 복합체를 통해 신호를 전달할 것으로 여겨진다. 이러한 키메라 TCR은 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 생산될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Willemsen RA et al, Gene Therapy 2000; 7: 1369-1377; Zhang T et al, Cancer Gene Ther 2004; 11: 487-496; Aggen et al, Gene Ther. 2012 Apr;19(4):365-74]).

[0612] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 NKR-CAR-발현 세포, 예를 들어 본원에 기재된 KIR-CAR-발현 세포는 키메라 TCR을 추가로 포함한다. 대안적 실시양태에서, 본원에 기재된 NKR-CAR-발현 세포는 키메라 TCR을 발현하는 세포와 조합되어 투여된다. 이러한 실시양태에서, 키메라 TCR의 항원 결합 도메인은 본원에 기재된 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR과 동일한 종양 항원에 결합할 수 있거나, 본원에 기재된 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR과 상이한 종양 항원에 결합할 수 있다.

[0613] 스플릿 CAR

[0614] 일부 실시양태에서, CAR-발현 세포는 스플릿 CAR을 사용한다. 스플릿 CAR 접근법은 본원에 참조로 포함되는 공개 WO2014/055442 및 WO2014/055657에 보다 상세하게 기재되어 있다. 간략하게, 스플릿 CAR 시스템은 제1 항원 결합 도메인 및 공동자극 도메인 (예를 들어, 4-1BB)을 갖는 제1 CAR을 발현하는 세포를 포함하고, 세포는 또한 제2 항원 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3 제타)을 갖는 제2 CAR을 발현한다. 세포가 제1 항원을 만난 경우에, 공동자극 도메인이 활성화되고 세포는 증식한다. 세포가 제2 항원을 만난 경우에, 세포내 신호전달 도메인이 활성화되고 세포-사멸 활성이 개시된다. 따라서, CAR-발현 세포는 오직 둘 다의

항원의 존재 하에서만 활성화된다. 실시양태에서 제1 항원 결합 도메인은 본원에 기재된 종양 항원을 인식하고, 제2 항원 결합 도메인은 본원에 기재된 상이한 종양 항원을 인식한다.

[0615] 키메라 항원 수용체를 조절하기 위한 전략

[0616] CAR 활성을 조절할 수 있는 많은 방식이 존재한다. 일부 실시양태에서, CAR 활성이 제어될 수 있는 조절성 CAR은 CAR 요법의 안전성 및 효능을 최적화하는데 바람직하다. 예를 들어, 이량체화 도메인에 융합된 카스파제를 사용하여 예를 들어 아폽토시스를 유도하는 것 (예를 들어, 문헌 [Di et al., N Engl. J. Med. 2011 Nov. 3; 365(18):1673-1683] 참조)은 본 발명의 CAR 요법에서 안전성 스위치로서 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, CAR-발현 세포는 또한 유도성 카스파제-9 (i카스파제-9) 분자를 발현할 수 있고, 이는 이량체화 약물 (예를 들어, 리미두시드 (AP1903 (벨리쿰 파마슈티칼스(Bellicum Pharmaceuticals)) 또는 AP20187 (아리아드(Ariad))로도 불림)의 투여 시, 카스파제-9의 활성화 및 세포의 아폽토시스로 이어진다. i카스파제-9 분자는 CID의 존재하에 이량체화를 매개하는 이량체화 (CID) 결합 도메인의 화학적 유도제를 함유한다. 이는 CAR-발현 세포의 유도적 및 선택적 고갈을 발생시킨다. 일부 경우에, i카스파제-9 분자는 CAR-코딩 벡터(들)와 별개의 핵산 분자에 의해 코딩된다. 일부 경우에, i카스파제-9 분자는 CAR-코딩 벡터와 동일한 핵산 분자에 의해 코딩된다. i카스파제-9는 CAR-발현 세포의 임의의 독성을 피하기 위한 안전성 스위치를 제공할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Song et al. Cancer Gene Ther. 2008; 15(10):667-75; Clinical Trial Id. No. NCT02107963; 및 Di Stasi et al. N. Engl. J. Med. 2011; 365:1673-83]을 참조한다.

[0617] 본 발명의 CAR 요법을 조절하기 위한 대안적 전략은 예를 들어 항체 의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 유도함으로써, 예를 들어 CAR-발현 세포를 결실시킴으로써 CAR 활성을 비활성화시키거나 턴 오프하는 소분자 또는 항체를 이용하는 것을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또한 세포 사멸, 예를 들어 ADCC 또는 보체-유도 세포 독성을 유도할 수 있는 분자에 의해 인식되는 항원을 발현할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 또한 항체 또는 항체 단편에 의해 표적화될 수 있는 수용체를 발현할 수 있다. 이러한 수용체의 예는 EpCAM, VEGFR, 인테그린 (예를 들어, 인테그린 αvβ3, α4, αI¾β3, α4β7, α5β1, αvβ3, αv), TNF 수용체 슈퍼패밀리의 구성원 (예를 들어, TRAIL-R1 , TRAIL-R2), PDGF 수용체, 인터페론 수용체, 폴레이트 수용체, GPNMB, ICAM-1 , HLA-DR, CEA, CA-125, MUC1, TAG-72, IL-6 수용체, 5T4, GD2, GD3, CD2, CD3, CD4, CD5, CD1 1, CD1 1 a/LFA-1, CD15, CD18/ITGB2, CD19, CD20, CD22, CD23/IgE 수용체, CD25, CD28, CD30, CD33, CD38, CD40, CD41, CD44, CD51, CD52, CD62L, CD74, CD80, CD125, CD147/바시긴, CD152/CTLA-4, CD154/CD40L, CD195/CCR5, CD319/SLAMF7, 및 EGFR, 및 그의 말단절단된 버전 (예를 들어, 1개 이상의 세포외 에피토프는 보존되었지만 세포질 도메인 내 1개 이상의 영역이 결여된 버전)을 포함한다.

[0618] 예를 들어, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또한 신호전달 능력은 결여되었지만 ADCC를 유도할 수 있는 분자, 예를 들어 세툭시맙 (에르비툭스(ERBITUX)®)에 의해 인식되는 에피토프를 보유하는 말단절단된 표피 성장 인자 수용체 (EGFR)를 발현할 수 있어서, 세툭시맙의 투여는 ADCC를 유도하고 이어서 CAR-발현 세포를 고갈시킨다 (예를 들어, WO2011/056894, 및 문헌 [Jonnalagadda et al., Gene Ther. 2013; 20(8)853-860] 참조). 또 다른 전략은 본원에 기재된 CAR-발현 세포에서 CD32 및 CD20 항원 둘 다로부터의 표적 에피토프를 합한 고도로 치밀한 마커/자살 유전자를 발현시키는 것을 포함하고, 이는 리툭시맙에 결합하고, 예를 들어 ADCC에 의해 CAR-발현 세포의 선택적 고갈을 발생시킨다 (예를 들어, 문헌 [Philip et al., Blood. 2014; 124(8)1277-1287] 참조). 본원에 기재된 CAR-발현 세포를 고갈시키는 다른 방법은 예를 들어 ADCC를 유도함으로써 파괴를 위해 성숙한 림프구, 예를 들어 CAR-발현 세포에 선택적으로 결합하고 표적화하는 모노클로날 항-CD52 항체인 캄파트(CAMPATH)의 투여를 포함한다. 다른 실시양태에서, CAR-발현 세포는 CAR 리간드, 예를 들어 항-이디오타입 항체를 사용하여 선택적으로 표적화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-이디오타입 항체는 이펙터 세포 활성, 예를 들어 ADCC 또는 ADC 활성을 유발하여 CAR-발현 세포의 수를 감소시킬 수 있다. 다른 실시양태에서, CAR 리간드, 예를 들어 항-이디오타입 항체는 세포 사멸을 유도하는 작용제, 예를 들어 독소에 커플링되어 CAR-발현 세포의 수를 감소시킬 수 있다. 대안적으로, CAR 분자 그 자체가 활성이 조절될 수 있도록, 예를 들어 하기 기재된 바와 같이 턴 온 및 오프될 수 있도록 구성될 수 있다.

[0619] 다른 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또한 T 세포 고갈제에 의해 인식되는 표적 단백질을 발현할 수 있다. 한 실시양태에서, 표적 단백질은 CD20이고, T 세포 고갈제는 항-CD20 항체, 예를 들어 리툭시맙이다. 이러한 실시양태에서, T 세포 고갈제는 CAR-발현 세포를 감소 또는 제거하는 것, 예를 들어 CAR 유도된 독성을 완화시키는 것이 바람직하다면 투여된다. 다른 실시양태에서, T 세포 고갈제는 항-CD52 항체, 예를 들어 본원의 실시예에 기재된 바와 같은 알렘투주맙이다.

[0620] 다른 실시양태에서, 조절성 CAR (RCAR)은 가장 단순한 실시양태에서 전형적으로 2개인 폴리펩티드의 세트를 포함하며, 여기서 본원에 기재된 표준 CAR의 성분, 예를 들어 항원 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인은 개별 폴리펩티드 또는 구성원 상에 분할된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드의 세트는 이량체화 분자의 존재 시 폴리펩티드를 서로 커플링시킬 수 있는, 예를 들어 항원 결합 도메인을 세포내 신호전달 도메인에 커플링시킬 수 있는 이량체화 스위치를 포함한다. 이러한 조절성 CAR의 추가의 설명 및 예시적인 구성이 본원, 및 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 국제 공개 번호 WO 2015/090229에서 제공된다.

[0621] 한 측면에서, RCAR은 2개의 폴리펩티드 또는 구성원: 1) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 구성원, 및 제1 스위치 도메인; 2) 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 본원에 기재된 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원, 및 제2 스위치 도메인을 포함한다. 임의로, RCAR은 본원에 기재된 막횡단 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 막횡단 도메인은 세포내 신호전달 구성원에, 항원 결합 구성원에, 또는 둘 다에 배치될 수 있다. (달리 나타내지 않는 한, RCAR의 구성원 또는 요소가 본원에 기재된 경우에, 순서는 제공된 바와 같을 수 있지만, 다른 순서가 또한 포함된다. 다시 말해서, 한 실시양태에서 순서는 텍스트에 제시된 바와 같지만, 다른 실시양태에서 순서는 상이할 수 있다. 예를 들어, 막횡단 영역의 한 측면 상의 요소의 순서는 예와 상이할 수 있고, 예를 들어 세포내 신호전달 도메인에 대해 스위치 도메인의 배치는 상이하고, 예를 들어 반대로 될 수 있다).

[0622] 한 실시양태에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 세포내 또는 세포외 이량체화 스위치를 형성할 수 있다. 한 실시양태에서, 이량체화 스위치는 예를 들어 제1 및 제2 스위치 도메인이 동일한 동종이량체화 스위치, 또는 예를 들어 제1 및 제2 스위치 도메인이 서로 상이한 이종이량체화 스위치일 수 있다.

[0623] 실시양태에서, RCAR은 "다중 스위치"를 포함할 수 있다. 다중 스위치는 이종이량체화 스위치 도메인 또는 동종이량체화 스위치 도메인을 포함할 수 있다. 다중 스위치는 제1 구성원, 예를 들어 항원 결합 구성원, 및 제2 구성원, 예를 들어 세포내 신호전달 구성원 상에 독립적으로 복수개의, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 스위치 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 제1 구성원은 복수개의 제1 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반 스위치 도메인을 포함할 수 있고, 제2 구성원은 복수개의 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FRB-기반 스위치 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 제1 구성원은 제1 및 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반 스위치 도메인 및 FRB-기반 스위치 도메인을 포함할 수 있고, 제2 구성원은 제1 및 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반 스위치 도메인 및 FRB-기반 스위치 도메인을 포함할 수 있다.

[0624] 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 구성원은 1개 이상의 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 1차 세포내 신호전달 도메인 및 1개 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다.

[0625] 한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 1개 이상의 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 1개 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 본원에 기재된, 예를 들어 4-1BB, CD28, CD27, ICOS, 및 OX40으로부터 선택된 복수개의, 예를 들어 2 또는 3개의 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고, 실시양태에서 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 세포외로부터 세포내 방향으로 하기 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다: 4-1BB-CD27; 4-1BB-CD27; CD27-4-1BB; 4-1BB-CD28; CD28-4-1BB; OX40-CD28; CD28-OX40; CD28-4-1BB; 또는 4-1BB-CD28. 이러한 실시양태에서, 세포내 결합 구성원은 CD3제타 도메인을 포함한다. 하나의 이러한 실시양태에서, RCAR은 (1) 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 2개의 공동자극 도메인 및 제1 스위치 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원; 및 (2) 막횡단 도메인 또는 막 테더링 도메인 및 적어도 1개의 1차 세포내 신호전달 도메인, 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0626] 한 실시양태는 항원 결합 구성원이 CAR 세포의 표면에 테더링되지 않은 RCAR을 제공한다. 이는 세포를 항원 결합 구성원을 코딩하는 서열로 형질전환시키지 않으면서, 세포내 신호전달 구성원을 갖는 세포가 1개 이상의 항원 결합 도메인과 편리하게 쌍형성되도록 한다. 이러한 실시양태에서, RCAR은 1) 제1 스위치 도메인, 막횡단 도메인, 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 1차 세포내 신호전달 도메인, 및 제1 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 구성원; 및 2) 항원 결합 도메인, 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원 (여기서 항원 결합 구성원은 막횡단 도메인 또는 막 테더링 도메인을 포함하지 않고, 임의로, 세포내 신호전달 도메인을 포함하지 않음)을 포함한다. 일부 실시양태에서, RCAR은 3) 제2 항원 결합 도메인, 예를 들어 항원 결합 도메인에 의해 결합되는 것과 상이한 항원에 결합하는 제2 항원 결합 도메인; 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 제2 항원 결합 구성원을 추가로 포함할 수 있다.

[0627] 또한, 항원 결합 구성원이 이중특이적 활성화 및 표적화 능력을 포함하는 RCAR이 본원에 제공된다. 이러한 실

시양태에서, 항원 결합 구성원은 복수개의, 예를 들어 2, 3, 4, 또는 5개의 항원 결합 도메인, 예를 들어 scFv를 포함할 수 있고, 여기서 각각의 항원 결합 도메인은 표적 항원, 예를 들어 상이한 항원 또는 동일한 항원, 예를 들어 동일한 항원 상의 동일한 또는 상이한 에피토프에 결합한다. 한 실시양태에서, 복수개의 항원 결합 도메인은 탠덤으로 존재하고, 임의로 링커 또는 힌지 영역이 각각의 항원 결합 도메인 사이에 배치된다. 적합한 링커 및 힌지 영역이 본원에 기재되어 있다.

[0628] 한 실시양태는 증식의 전환을 가능하게 하는 구성을 갖는 RCAR을 제공한다. 이러한 실시양태에서, RCAR은 1) 임의로, 막횡단 도메인 또는 막 테더링 도메인; 예를 들어 4-1BB, CD28, CD27, ICOS, 및 OX40으로부터 선택된 1개 이상의 공동-자극 신호전달 도메인, 및 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 구성원; 및 2) 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3제타 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원 (여기서 항원 결합 구성원은 스위치 도메인을 포함하지 않거나, 또는 세포내 신호전달 구성원 상의 스위치 도메인과 이량체화하는 스위치 도메인을 포함하지 않음)을 포함한다. 한 실시양태에서, 항원 결합 구성원은 공동-자극 신호전달 도메인을 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 구성원은 동종이량체화 스위치로부터의 스위치 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 세포내 신호전달 구성원은 이종이량체화 스위치의 제1 스위치 도메인을 포함하고, RCAR은 이종이량체화 스위치의 제2 스위치 도메인을 포함하는 제2 세포내 신호전달 구성원을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 제2 세포내 신호전달 구성원은 세포내 신호전달 구성원과 동일한 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 이량체화 스위치는 세포내에 존재한다. 한 실시양태에서, 이량체화 스위치는 세포외에 존재한다.

[0629] 본원에 기재된 임의의 RCAR 구성에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 본원에 기재된 바와 같은 FKBP-FRB-기반 스위치를 포함한다.

[0630] 또한, 본원에 기재된 RCAR을 포함하는 세포가 본원에 제공된다. RCAR을 발현하도록 조작된 임의의 세포가 RCARX 세포로서 사용될 수 있다. 한 실시양태에서 RCARX 세포는 T 세포이고, RCART 세포로서 지칭된다. 한 실시양태에서, RCARX 세포는 NK 세포이고, RCARN 세포로서 지칭된다.

[0631] 또한, RCAR 코딩 서열을 포함하는 핵산 및 벡터가 본원에 제공된다. RCAR의 다양한 요소를 코딩하는 서열은 동일한 핵산 분자, 예를 들어 동일한 플라스미드 또는 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 배치될 수 있다. 한 실시양태에서, (i) 항원 결합 구성원을 코딩하는 서열 및 (ii) 세포내 신호전달 구성원을 코딩하는 서열은 동일한 핵산, 예를 들어 벡터 상에 존재할 수 있다. 상응하는 단백질의 생산은, 예를 들어 개별 프로모터의 사용에 의해, 또는 비시스트론 전사 산물 (단일 번역 산물의 절단에 의해 또는 2개의 개별 단백질 산물의 번역에 의해 2개의 단백질의 생산을 발생시킬 수 있음)의 사용에 의해 달성될 수 있다. 한 실시양태에서, 절단가능한 펩티드를 코딩하는 서열, 예를 들어 P2A 또는 F2A 서열은 (i)과 (ii) 사이에 배치된다. 한 실시양태에서, IRES, 예를 들어 EMCV 또는 EV71 IRES를 코딩하는 서열이 (i)과 (ii) 사이에 배치된다. 이들 실시양태에서, (i) 및 (ii)는 단일 RNA로서 전사된다. 한 실시양태에서, (i) 및 (ii)가 개별 mRNA로서 전사되도록, 제1 프로모터는 (i)에 작동가능하게 연결되고, 제2 프로모터는 (ii)에 작동가능하게 연결된다.

[0632] 대안적으로, RCAR의 다양한 요소를 코딩하는 서열은 상이한 핵산 분자, 예를 들어 상이한 플라스미드 또는 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 배치될 수 있다. 예를 들어, (i) 항원 결합 구성원을 코딩하는 서열은 제1 핵산, 예를 들어 제1 벡터 상에 존재할 수 있고, (ii) 세포내 신호전달 구성원을 코딩하는 서열은 제2 핵산, 예를 들어 제2 벡터 상에 존재할 수 있다.

[0633] 이량체화 스위치

[0634] 이량체화 스위치는 비-공유 또는 공유일 수 있다. 비-공유 이량체화 스위치에서, 이량체화 분자는 스위치 도메인 사이의 비-공유 상호작용을 촉진한다. 공유 이량체화 스위치에서, 이량체화 분자는 스위치 도메인 사이의 공유 상호작용을 촉진한다.

[0635] 한 실시양태에서, RCAR은 FKBP/FRAP 또는 FKBP/FRB-기반 이량체화 스위치를 포함한다. FKBP12 (FKBP 또는 FK506 결합 단백질)는 천연 생성물 면역억제 약물인 라파마이신에 대한 초기 세포내 표적으로서 기능하는 풍부한 세포질 단백질이다. 라파마이신은 FKBP 및 대형 PI3K 상동체 FRAP (RAFT, mTOR)에 결합한다. FRB는 FKBP-라파마이신 복합체에 결합하는데 충분한 FRAP의 93개의 아미노산 부분이다 (Chen, J., Zheng, X. F., Brown, E. J. & Schreiber, S. L. (1995) Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue. Proc Natl Acad Sci U S A 92: 4947-51.)

[0636] 실시양태에서, FKBP/FRAP, 예를 들어 FKBP/FRB 기반 스위치는 이량체화 분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파마이신 유사체를 사용할 수 있다.

[0637] FKBP의 아미노산 서열은 하기와 같다:

[0638] DVPDYASLGGPSSPKKKRKVSRGVQVETISPGDGRTFPKR GQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWE EGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVEL LKLETSY (SEQ ID NO: 43)

[0639] 실시양태에서, FKBP 스위치 도메인은 라파마이신 또는 라파로그의 존재 하에 FRB 또는 그의 단편 또는 유사체에 결합하는 능력을 갖는 FKBP의 단편, 예를 들어 하기인, 서열식별번호: 43의 밑줄친 부분을 포함할 수 있다:

[0640] VQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSR DRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAY GATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETS (SEQ ID NO:44)

[0641] FRB의 아미노산 서열은 하기와 같다:

[0642] ILWHEMWHEG LEEASRLYFG ERNVKGMFEV LEPLHAMMER GPQTLKETSF NQAYGRDLME AQEWCRKYMK SGNVKDLTQA WDLYYHVFRR ISK (SEQ ID NO: 45)

[0643] 본원에 사용된 용어 "FKBP/FRAP, 예를 들어 FKBP/FRB 기반 스위치"는 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001의 존재 하에 FRB, 또는 그의 단편 또는 유사체에 결합하는 능력을 갖는 FKBP 단편 또는 그의 유사체를 포함하고, 서열식별번호: 54 또는 55의 FKBP 서열과 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일성을 갖거나 또는 그와 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기만큼 상이한 제1 스위치 도메인; 및 라파마이신 또는 라파로그의 존재 하에 FRB, 또는 그의 단편 또는 유사체에 결합하는 능력을 갖는 FRB 단편 또는 그의 유사체를 포함하고, 서열식별번호: 45의 FRB 서열과 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 동일성을 갖거나 또는 그와 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기만큼 상이한 제2 스위치 도메인을 포함하는 이량체화 스위치를 지칭한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 RCAR은 서열식별번호: 43 (또는 서열식별번호: 44)에 개시된 아미노산 잔기를 포함하는 1개의 스위치 도메인 및 서열식별번호: 45에 개시된 아미노산 잔기를 포함하는 1개의 스위치 도메인을 포함한다.

[0644] 실시양태에서, FKBP/FRB 이량체화 스위치는 FRB-기반 스위치 도메인, 예를 들어 변형된 FRB 스위치 도메인, FKBP-기반 스위치 도메인과 이량체화 분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001 사이에 변경된, 예를 들어 증진된 복합체 형성을 나타내는 변형된 FRB 스위치 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 변형된 FRB 스위치 도메인은 아미노산 위치(들) L2031, E2032, S2035, R2036, F2039, G2040, T2098, W2101, D2102, Y2105, 및 F2108에서의 돌연변이로부터 선택된, 1개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 돌연변이를 포함하며, 여기서 야생형 아미노산은 임의의 다른 자연-발생 아미노산으로 돌연변이된다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 E2032에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 E2032는 페닐알라닌 (E2032F), 메티오닌 (E2032M), 아르기닌 (E2032R), 발린 (E2032V), 티로신 (E2032Y), 이소류신 (E2032I), 예를 들어 서열식별번호: 46, 또는 류신 (E2032L), 예를 들어 서열식별번호: 47로 돌연변이된다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 T2098에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 T2098은 페닐알라닌 (T2098F) 또는 류신 (T2098L), 예를 들어 서열식별번호: 48로 돌연변이된다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 E2032 및 T2098에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 E2032는 임의의 아미노산으로 돌연변이되고, 여기서 T2098은 임의의 아미노산, 예를 들어 서열식별번호: 49로 돌연변이된다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 E2032I 및 T2098L 돌연변이, 예를 들어 서열식별번호: 50을 포함한다. 한 실시양태에서, 돌연변이체 FRB는 E2032L 및 T2098L 돌연변이, 예를 들어 서열식별번호: 51을 포함한다.

[0645] 표 6. 이량체화 분자에 대해 증가된 친화도를 갖는 예시적인 돌연변이체 FRB

FRB 돌연변이체	아미노산 서열	SEQ ID NO:
E2032I 돌연변이체	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTL KETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRR ISKTS	46
E2032L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTL KETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRR ISKTS	47
T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTL KETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRR ISKTS	48
E2032, T2098 돌연변이체	ILWHEMWHEGL**X**EASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTL KETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDL**X**QAWDLYYHVFRR ISKTS	49
E2032I, T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTL KETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRR ISKTS	50
E2032L, T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTL KETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRR ISKTS	51

[0646]

[0647] 다른 적합한 이량체화 스위치는 GyrB-GyrB 기반 이량체화 스위치, 지베렐린-기반 이량체화 스위치, 태그/결합제 이량체화 스위치, 및 할로-태그/스냅-태그 이량체화 스위치를 포함한다. 본원에 제공된 안내에 따라, 이러한 스위치 및 관련 이량체화 분자는 통상의 기술자에게 명백할 것이다.

[0648] 이량체화 분자

[0649] 스위치 도메인 사이의 회합은 이량체화 분자에 의해 촉진된다. 이량체화 분자의 존재 하에, 스위치 도메인 사이의 상호작용 또는 회합은 제1 스위치 도메인과 회합된, 예를 들어 융합된 폴리펩티드와 제2 스위치 도메인과 회합된, 예를 들어 융합된 폴리펩티드 사이의 신호 전달을 허용한다. 비-제한적 수준의 이량체화 분자의 존재 하에, 신호 전달은 예를 들어 본원에 기재된 시스템에서 측정 시 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 5, 10, 50, 100배 증가된다.

[0650] 라파마이신 및 라파마이신 유사체 (때때로 라파로그로 지칭됨), 예를 들어 RAD001은 본원에 기재된 FKBP/FRB-기반 이량체화 스위치에서 이량체화 분자로서 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 이량체화 분자는 라파마이신 (시롤리무스), RAD001 (에베롤리무스), 조타롤리무스, 템시롤리무스, AP-23573 (리다포롤리무스), 비올리무스 및 AP21967로부터 선택될 수 있다. FKBP/FRB-기반 이량체화 스위치와 함께 사용하기에 적합한 추가의 라파마이신 유사체는 섹션 표제 "조합 요법", 또는 서브섹션 표제 "낮은 용량의 mTOR 억제제와의 조합"에 추가로 기재되어 있다.

[0651] CAR과 케모카인 수용체의 공동-발현

[0652] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포, 예를 들어 NKR-CAR-발현 세포, 예를 들어 KIR-CAR-발현 세포는 케모카인 수용체 분자를 추가로 포함한다. T 세포에서 케모카인 수용체 CCR2b 또는 CXCR2의 트랜스제닉 발현은 흑색종 및 신경모세포종을 포함한 CCL2- 또는 CXCL1-분비 고형 종양으로의 트래픽킹을 증진시킨다 (Craddock et al., J Immunother. 2010 Oct; 33(8):780-8 및 Kershaw et al.,Hum Gene Ther. 2002 Nov 1; 13(16):1971-80). 따라서, 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 종양, 예를 들어 고형 종양에 의해 분비되는 케모카인을 인식하는 CAR-발현 세포에서 발현된 케모카인 수용체는 CAR-발현 세포가 종양으로 귀소하는 것을 개선시킬 수 있고, CAR-발현 세포가 종양에 침윤하는 것을 용이하게 할 수 있고, CAR-발현 세포의 항종양 효능을 증진시킬 수 있는 것으로 여겨진다. 케모카인 수용체 분자는 자연 발생 또는 재조합 케모카인 수용체 또는 그의 케모카인-결합 단편을 포함할 수 있다. 본원에 기재된 CAR-발현 세포에서의 발현에 적합한 케모카인 수용체 분자는 CXC 케모카인 수용체 (예를 들어, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, 또는 CXCR7), CC 케모카인 수용체 (예를 들어, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, 또는 CCR11), CX3C 케모카인 수용체 (예를 들어, CX3CR1), XC 케모카인 수용체 (예를 들어, XCR1), 또는 그의 케모카인-결합 단편을 포함한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR과 함께 발현될 케모카인 수용체 분자는 종양에 의해 분비되는 케모카인(들)에

기초하여 선택된다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CCR2b 수용체 또는 CXCR2 수용체를 추가로 포함, 예를 들어 발현한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 및 케모카인 수용체 분자는 동일한 벡터 상에 존재하거나, 또는 2개의 상이한 벡터 상에 존재한다. 본원에 기재된 CAR 및 케모카인 수용체 분자가 동일한 벡터 상에 존재하는 실시양태에서, CAR 및 케모카인 수용체 분자는 각각 2개의 상이한 프로모터의 제어 하에 있거나, 또는 동일한 프로모터의 제어 하에 있다.

[0653] CAR을 코딩하는 핵산 구축물

[0654] 본 발명은 또한 본원에 기재된 1개 이상의 CAR 구축물을 코딩하는 핵산 분자를 제공한다. 한 측면에서, 핵산 분자는 메신저 RNA 전사체로서 제공된다. 한 측면에서, 핵산 분자는 DNA 구축물로서 제공된다.

[0655] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 핵산 분자는 세포내 신호전달 도메인 또는 어댑터 분자를 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함한다.

[0656] 본 발명은 또한 본 발명의 DNA가 삽입된 벡터를 제공한다. 레트로바이러스, 예컨대 렌티바이러스로부터 유래된 벡터는 딸세포에서 트랜스진의 장기간의 안정한 통합 및 그의 증식을 가능하게 하기 때문에 장기간의 유전자 전달을 달성하기 적합한 도구이다. 렌티바이러스 벡터는 비-증식 세포, 예컨대 간세포를 형질도입할 수 있다는 점에서 종양-레트로바이러스, 예컨대 뮤린 백혈병 바이러스로부터 유래된 벡터에 비해 추가의 이점을 갖는다. 이는 또한 낮은 면역원성의 추가의 이점을 갖는다. 레트로바이러스 벡터는 또한, 예를 들어 감마레트로바이러스 벡터일 수 있다. 감마레트로바이러스 벡터는, 예를 들어 프로모터, 패키징 신호 (Ψ), 프라이머 결합 부위 (PBS), 1개 이상 (예를 들어, 2개)의 긴 말단 반복부 (LTR), 및 관심 트랜스진, 예를 들어 CAR을 코딩하는 유전자를 포함할 수 있다. 감마레트로바이러스 벡터는 바이러스 구조 유전자, 예컨대 gag, pol, 및 env가 결여되어 있을 수 있다. 예시적인 감마레트로바이러스 벡터는 뮤린 백혈병 바이러스 (MLV), 비장-초점 형성 바이러스 (SFFV), 및 골수증식성 육종 바이러스 (MPSV), 및 그로부터 유래된 벡터를 포함한다. 다른 감마레트로바이러스 벡터가, 예를 들어 문헌 [Tobias Maetzig et al., "Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application" Viruses. 2011 Jun; 3(6): 677-713]에 기재되어 있다.

[0657] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 목적하는 CAR을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터는 아데노바이러스 벡터 (A5/35)이다. 또 다른 실시양태에서, CAR을 코딩하는 핵산의 발현은 트랜스포손, 예컨대 슬리핑 뷰티, 크리스퍼, CAS9, 및 아연 핑거 뉴클레아제를 사용하여 달성할 수 있다. 하기 문헌 [June et al. 2009Nature Reviews Immunology 9.10: 704-716]을 참조하고, 이는 본원에 참조로 포함된다.

[0658] 간단히 요약하면, CAR을 코딩하는 천연 또는 합성 핵산의 발현은 전형적으로 CAR 폴리펩티드 또는 그의 부분을 코딩하는 핵산을 프로모터에 작동가능하게 연결하고, 구축물을 발현 벡터 내로 혼입시킴으로써 달성된다. 벡터는 진핵세포에서의 복제 및 통합에 적합할 수 있다. 전형적인 클로닝 벡터는 전사 및 번역 종결인자, 개시 서열, 및 목적하는 핵산 서열의 발현의 조절을 위해 유용한 프로모터를 함유한다.

[0659] 본 발명의 발현 구축물은 또한 표준 유전자 전달 프로토콜을 사용한 핵산 면역화 및 유전자 요법을 위해 사용될 수 있다. 유전자 전달을 위한 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로 포함하는 미국 특허 번호 5,399,346, 5,580,859, 5,589,466을 참조한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 유전자 요법 벡터를 제공한다.

[0660] 핵산은 수많은 유형의 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 예를 들어, 핵산은 플라스미드, 파지미드, 파지 유도체, 동물 바이러스, 및 코스미드를 포함하나 이에 제한되지는 않는 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 특정한 관심 벡터는 발현 벡터, 복제 벡터, 프로브 생성 벡터, 및 서열분석 벡터를 포함한다.

[0661] 또한, 발현 벡터는 바이러스 벡터의 형태로 세포에 제공될 수 있다. 바이러스 벡터 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1 -4, Cold Spring Harbor Press, NY], 및 다른 바이러스학 및 분자 생물학 매뉴얼에 기재되어 있다. 벡터로서 유용한 바이러스는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 포진 바이러스, 및 렌티바이러스를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일반적으로 적합한 벡터는 적어도 1종의 유기체에서 기능적인 복제 기점, 프로모터 서열, 편리한 제한 엔도뉴클레아제 부위, 및 1개 이상의 선택 마커를 함유한다 (예를 들어, WO 01/96584; WO 01/29058; 및 미국 특허 번호 6,326,193).

[0662] 수많은 바이러스 기반 시스템이 포유동물 세포 내로의 유전자 전달을 위해 개발된 바 있다. 예를 들어, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편리한 플랫폼을 제공한다. 선택된 유전자는 벡터 내로 삽입되고 관련 기술분야에 공지된 기술을 사용하여 레트로바이러스 입자 내에 패키징될 수 있다. 이어서, 재조합 바이러스는

단리되고, 생체내에서 또는 생체외에서 대상체의 세포로 전달될 수 있다. 수많은 레트로바이러스 시스템이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다. 수많은 아데노바이러스 벡터가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 렌티바이러스 벡터가 사용된다.

[0663] 추가의 프로모터 요소, 예를 들어 인핸서는 전사 개시의 빈도를 조절한다. 전형적으로, 이들은 개시 부위의 30-110 bp 상류의 영역에 위치하지만, 수많은 프로모터는 기능적 요소를 또한 개시 부위의 하류에 함유하는 것으로 최근에 밝혀진 바 있다. 프로모터 요소 사이의 간격은 빈번하게 탄력적이어서, 프로모터 기능은 요소가 역전되거나 서로에 대해 이동할 때 보존된다. 티미딘 키나제 (tk) 프로모터에서, 프로모터 요소 사이의 간격은 활성이 감소하기 시작하기 전 50 bp까지 증가할 수 있다. 프로모터에 따라, 개별 요소는 전사를 활성화하기 위해 협동적 또는 독립적으로 기능할 수 있는 것으로 보인다.

[0664] 포유동물 T 세포에서 CAR 트랜스진을 발현할 수 있는 프로모터의 예는 EF1a 프로모터이다. 천연 EF1a 프로모터는 아미노아실 tRNA의 리보솜으로의 효소적 전달을 담당하는 신장 인자-1 복합체의 알파 서브유닛의 발현을 구동한다. EF1a 프로모터는 포유동물 발현 플라스미드에서 광범하게 사용된 바 있고, 렌티바이러스 벡터 내로 클로닝된 트랜스진으로부터 CAR 발현을 구동하는데 유효한 것으로 밝혀진 바 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 한 측면에서, EF1a 프로모터는 서열식별번호: 11로서 제공된 서열을 포함한다.

[0665] 프로모터의 예는 극초기 시토메갈로바이러스 (CMV) 프로모터 서열이다. 이 프로모터 서열은 그에 작동가능하게 연결된 임의의 폴리뉴클레오티드 서열의 높은 수준의 발현을 구동할 수 있는 강력한 구성적 프로모터 서열이다. 그러나, 원숭이 바이러스 40 (SV40) 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스 (MMTV), 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 긴 말단 반복부 (LTR) 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, 엡스타인-바르 (Epstein-Barr) 바이러스 극초기 프로모터, 라우스(Rous) 육종 바이러스 프로모터, 신장 인자-1α 프로모터, 뿐만 아니라 예컨대 비제한적으로 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 헤모글로빈 프로모터, 및 크레아틴 키나제 프로모터인 인간 유전자 프로모터를 포함하나 이에 제한되지는 않는 다른 구성적 프로모터 서열이 또한 사용될 수 있다. 또한, 본 발명은 구성적 프로모터의 사용으로 제한되지 않아야 한다. 유도성 프로모터가 또한 본 발명의 일부로서 고려된다. 유도성 프로모터의 사용은 발현을 목적으로 하는 경우에 작동가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드 서열의 발현을 턴 온할 수 있거나, 또는 발현을 목적으로 하지 않는 경우에 발현을 턴 오프할 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 유도성 프로모터의 예는 메탈로티오닌 프로모터, 글루코코르티코이드 프로모터, 프로게스테론 프로모터, 및 테트라시클린 프로모터를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0666] 한 실시양태에서, 벡터는 렌티바이러스 벡터이다. 한 실시양태에서, 벡터는 추가로 프로모터를 포함한다. 한 실시양태에서, 프로모터는 EF-1 프로모터이다.

[0667] 한 실시양태에서, 벡터는 시험관내 전사되는 벡터, 예를 들어 본원에 기재된 핵산 분자의 RNA를 전사하는 벡터이다. 한 실시양태에서, 벡터 내의 핵산 서열은 폴리(A) 테일, 예를 들어 약 150개의 아데노신 염기를 포함하는 본원에 기재된 폴리 A 테일을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 벡터 내의 핵산 서열은 3'UTR을 추가로 포함한다.

[0668] 프로모터의 또 다른 예는 포스포글리세레이트 키나제 (PGK) 프로모터이다. 실시양태에서, 말단절단된 PGK 프로모터 (예를 들어, 야생형 PGK 프로모터 서열과 비교하여 1개 이상, 예를 들어 1, 2, 5, 10, 100, 200, 300 또는 400개의 뉴클레오티드 결실을 갖는 PGK 프로모터)가 바람직할 수 있다. 예시적인 PGK 프로모터의 뉴클레오티드 서열이 하기 제공된다.

[0669] WT PGK 프로모터

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTACG
CCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCG
GCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGA
GGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTT
GGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCGCTTCT
AGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCGCGGCGACGCAAAGGGCCTTGGT
GCGGGTCTCGTCGGCGCAGGGACGCGTTTGGGTCCCGACGGAACCTTTTCCGCGTTGGGGTTGGGGCACCATAA
GCT

[0670] (SEQ ID NO: 52)

[0671] 예시적인 말단절단된 PGK 프로모터:

PGK100:
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTACG
CCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG
(SEQ ID NO: 53)

PGK200:
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTACG
CCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCG
GCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACG
(SEQ ID NO: 54)

PGK300:
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTACG
CCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCG
GCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGA
GGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTT
GGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCG
(SEQ ID NO: 55)

PGK400:
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTACG
CCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCG
GCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGA
GGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTT
GGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCGCTTCT
AGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCG
(SEQ ID NO: 56)

[0672]

[0673] 벡터는 또한, 예를 들어 분비를 용이하게 하는 신호 서열, 폴리아데닐화 신호 및 전사 종결인자 (예를 들어, 소 성장 호르몬 (BGH) 유전자로부터), 에피솜 복제 및 원핵생물에서의 복제를 가능하게 하는 요소 (예를 들어 SV40 기원 및 ColE1 또는 관련 기술분야에 공지되어 있는 다른 것) 및/또는 선택을 가능하게 하는 요소 (예를 들어, 암피실린 저항성 유전자 및/또는 제오신 마커)를 포함할 수 있다.

[0674] CAR 폴리펩티드 또는 그의 부분의 발현을 평가하기 위해, 세포 내로 도입되는 발현 벡터는 또한 바이러스 벡터를 통해 형질감염되거나 감염될 것이 모색되는 세포의 집단으로부터 발현 세포의 확인 및 선택을 용이하게 하기 위한 선택 마커 유전자 또는 리포터 유전자 또는 둘 다를 함유할 수 있다. 다른 측면에서, 선택 마커는 DNA의 개별 조각 상에 보유되고, 공동-형질감염 절차에 사용될 수 있다. 선택 마커 및 리포터 유전자 둘 다는 숙주 세포에서 발현이 가능하도록 하는 적절한 조절 서열과 플랭킹될 수 있다. 유용한 선택 마커는 예를 들어 항생제-저항성 유전자, 예컨대 neo 등을 포함한다.

[0675] 리포터 유전자는 잠재적으로 형질감염된 세포를 확인하고 조절 서열의 기능성을 평가하기 위해 사용된다. 일반적으로 리포터 유전자는, 수용자 유기체 또는 조직에 존재하지 않거나 그에 의해 발현되지 않고, 그의 발현이 일부 용이하게 검출가능한 특성, 예를 들어 효소적 활성에 의해 표시되는 폴리펩티드를 코딩하는 유전자이다. 리포터 유전자의 발현은 DNA가 수용자 세포 내로 도입된 후 적합한 시간에 검정된다. 적합한 리포터 유전자는 루시페라제, 베타-갈락토시다제, 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제, 분비된 알칼리성 포스파타제를 코딩하는 유전자, 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Ui-Tei et al., 2000 FEBS Letters 479: 79-82]). 적합한 발현 시스템은 널리 공지되어 있고, 공지된 기술을 사용하여 제조하거나 상업적으로 입수할 수 있다. 일반적으로, 리포터 유전자의 최고 수준의 발현을 보이는, 최소 5' 플랭킹 영역을 갖는 구축물은 프로모터로서 확인된다. 이러한 프로모터 영역은 리포터 유전자에 연결되고, 프로모터-구동 전사를 조정하는 능력에 대해 작용제를 평가하는데 사용될 수 있다.

[0676] 한 실시양태에서, 벡터는 제2 CAR, 예를 들어 제2 NKR-CAR, TCAR, 또는 억제 CAR을 코딩하는 핵산을 추가로 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 제2 CAR은 표적 항원, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 실시양태에서, 제1 CAR에 의해 결합되는 항원은 제2 CAR에 의해 결합되는 것과 동일한 항원이다. 대안적으로, 제1 CAR에 의해 결합되는 항원은 제2 CAR에 의해 결합되는 것과 상이한 항원이다. 예를 들어, 제1 CAR은 메소텔린에 결합하는 한편, 제2 CAR은 상이한 종양 항원 또는 정상 세포 상에 존재하는 항원에 결합한다.

[0677] 한 실시양태에서, 벡터는 본원에 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 핵산 및 TCAR을 코딩하는 핵산을 포함한다. 한 실

시양태에서, TCAR은 종양 항원, 예를 들어 NKR-CAR에 의해 결합된 상이한 종양 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, TCAR은 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 여기서 세포내 신호전달 도메인은 본원에 기재된 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3제타 또는 표 2에 제공된 것, 및 임의로, 본원에 기재된 1개 이상의 공동자극 신호전달 도메인, 예를 들어 4-1BB, CD28, CD27, ICOS, 또는 표 3에 제공된 것을 포함한다.

[0678] 한 실시양태에서, 벡터는 본원에 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 핵산 및 억제 CAR을 코딩하는 핵산을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 CAR은 암 세포 상에서는 발견되지 않지만 정상 세포, 예를 들어 NKR-CAR에 의해 인식되는 항원을 또한 발현하는 정상 세포 상에서는 발견되는 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 억제 CAR은 항원 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 억제 분자의 세포내 도메인을 포함한다. 예를 들어, 억제 CAR의 세포내 도메인은 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타의 세포내 도메인일 수 있다.

[0679] 실시양태에서, 벡터는 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 NKR-CAR, 및 제1 NKR-CAR에 의해 인식되는 항원 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 제2 CAR, 예를 들어 제2 NKR-CAR, 억제 CAR, 또는 TCAR을 코딩하는 2개 이상의 핵산 서열을 포함할 수 있다. 이러한 실시양태에서, CAR을 코딩하는 2개 이상의 핵산 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 단일 핵산 분자에 의해 코딩된다. 이러한 측면에서, 2개 이상의 CAR은, 예를 들어 1개 이상의 펩티드 절단 부위 (예를 들어, 세포내 프로테아제에 대한 자가-절단 부위 또는 기질)에 의해 분리될 수 있다.

[0680] 실시양태에서, 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터는 어댑터 분자를 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 실시양태에서, 2개 이상의 핵산 서열은 동일한 프레임 내에서 및 단일 폴리펩티드 쇄로서 단일 핵산 분자에 의해 코딩된다. 이러한 실시양태에서, NKR-CAR 및 어댑터 분자는 1개 이상의 펩티드 절단 부위 (예를 들어, 세포내 프로테아제에 대한 자가-절단 부위 또는 기질)에 의해 분리될 수 있고, 여기서 NKR-CAR, 어댑터 분자, 및 펩티드 절단 부위는 동일한 프레임 내에 존재하고, 단일 폴리펩티드 쇄로서 코딩된다.

[0681] 펩티드 절단 부위의 예는 하기를 포함하며, 여기서 GSG 잔기는 임의적이다:

T2A: (GSG) E G R G S L L T C G D V E E N P G P (SEQ ID NO: 57)

P2A: (GSG) A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (SEQ ID NO: 58)

E2A: (GSG) Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO: 59)

F2A: (GSG) V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO: 60)

[0682]

[0683] 유전자를 세포 내로 도입하고 발현시키는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 발현 벡터와 관련하여, 벡터는 관련 기술분야의 임의의 방법에 의해 숙주 세포, 예를 들어 포유동물, 박테리아, 효모, 또는 곤충 세포 내로 용이하게 도입될 수 있다. 예를 들어, 발현 벡터는 물리적, 화학적, 또는 생물학적 수단에 의해 숙주 세포 내로 옮겨질 수 있다.

[0684] 폴리뉴클레오티드는 임의의 다수의 상이한 방법, 예를 들어 전기천공 (아막사 뉴클레오펙터(Amaxa Nucleofector)-II (아막사 바이오시스템즈(Amaxa Biosystems), 독일 쾰른), (ECM 830 (BTX) (하버드 인스트루먼츠(Harvard Instruments), 미국 매사추세츠주 보스톤) 또는 진 펄서 II (바이오라드(BioRad), 미국 콜로라도주 덴버), 멀티포레이터 (에펜도르프(Eppendort), 독일 함부르크), 리포펙션을 사용한 양이온성 리포솜 매개된 형질감염, 중합체 캡슐화, 펩티드 매개된 형질감염, 또는 바이오리스틱 입자 전달 시스템, 예컨대 "유전자 총" (예를 들어, 문헌 [Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001)] 참조)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 상업적으로 입수가능한 방법을 사용하여 표적 세포 내로 도입될 수 있다.

[0685] 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전, 리포펙션, 입자 충격, 미세주사, 전기천공 등을 포함한다. 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 생산하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1 -4, Cold Spring Harbor Press, NY]을 참조한다.

[0686] 숙주 세포 내로 관심 폴리뉴클레오티드를 도입하기 위한 생물학적 방법은 DNA 및 RNA 벡터의 사용을 포함한다. 바이러스 벡터, 및 특히 레트로바이러스 벡터는 유전자를 포유동물, 예를 들어 인간 세포 내로 삽입하기 위해 가장 널리 사용되는 방법이 되었다. 다른 바이러스 벡터는 렌티바이러스, 폭스바이러스, 단순 포진 바이러스 I, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,350,674 및 5,585,362를 참조한다.

[0687] 숙주 세포 내로 폴리뉴클레오티드를 도입하기 위한 화학적 수단은 콜로이드성 분산액 시스템, 예컨대 거대분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로구체, 비드, 및 수중유 에멀젼, 미셀, 혼합된 미셀, 및 리포솜을 포함한 지질-기반 시스템을 포함한다. 시험관내 및 생체내에서 전달 비히클로서 사용하기 위한 예시적인 콜로이드성 시스템은 리포솜 (예를 들어, 인공 막 소포)이다.

[0688] 비-바이러스 전달 시스템이 이용되는 경우에, 예시적인 전달 비히클은 리포솜이다. 지질 제제의 사용은 숙주 세포 내로의 핵산의 도입 (시험관내, 생체외 또는 생체내)을 위해 고려된다. 또 다른 측면에서, 핵산은 지질과 회합될 수 있다. 지질과 회합된 핵산은 리포솜의 수성 내부에 캡슐화되거나, 리포솜의 지질 이중층 내에 점재되거나, 리포솜 및 올리고뉴클레오티드 둘 다와 회합된 연결 분자를 통해 리포솜에 부착되거나, 리포솜 내에 포획되거나, 리포솜과 복합체화되거나, 지질 함유 용액 중에 분산되거나, 지질과 혼합되거나, 지질과 조합되거나, 지질 내에 현탁액으로서 함유되거나, 미셀과 함께 함유 또는 복합체화되거나, 또는 지질과 달리 회합될 수 있다. 지질, 지질/DNA 또는 지질/발현 벡터 회합 조성물은 용액 중의 임의의 특정한 구조로 제한되지 않는다. 예를 들어, 이들은 이중층 구조로, 미셀로서, 또는 "붕괴된" 구조로 존재할 수 있다. 이들은 또한 단순히 용액 중에 점재되고, 가능하게는 크기 또는 형상이 균일하지 않은 응집체를 형성할 수 있다. 지질은 자연 발생 또는 합성 지질일 수 있는 지방 물질이다. 예를 들어, 지질은 세포질에서 자연 발생하는 지방 액적, 뿐만 아니라 장쇄 지방족 탄화수소 및 그의 유도체, 예컨대 지방산, 알콜, 아민, 아미노 알콜, 및 알데히드를 함유하는 화합물의 부류를 포함한다. 비-바이러스 전달 시스템이 이용되는 경우에, 예시적인 전달 비히클은 리포솜이다. 지질 제제의 사용은 숙주 세포 내로의 핵산의 도입 (시험관내, 생체외 또는 생체내)을 위해 고려된다. 또 다른 측면에서, 핵산은 지질과 회합될 수 있다. 지질과 회합된 핵산은 리포솜의 수성 내부에 캡슐화되거나, 리포솜의 지질 이중층 내에 점재되거나, 리포솜 및 올리고뉴클레오티드 둘 다와 회합된 연결 분자를 통해 리포솜에 부착되거나, 리포솜 내에 포획되거나, 리포솜과 복합체화되거나, 지질 함유 용액 중에 분산되거나, 지질과 혼합되거나, 지질과 조합되거나, 지질 내에 현탁액으로서 함유되거나, 미셀과 함께 함유 또는 복합체화되거나, 또는 지질과 달리 회합될 수 있다. 지질, 지질/DNA 또는 지질/발현 벡터 회합 조성물은 용액 중의 임의의 특정한 구조로 제한되지 않는다. 예를 들어, 이들은 이중층 구조로, 미셀로서, 또는 "붕괴된" 구조로 존재할 수 있다. 이들은 또한 단순히 용액 중에 점재되고, 가능하게는 크기 또는 형상이 균일하지 않은 응집체를 형성할 수 있다. 지질은 자연 발생 또는 합성 지질일 수 있는 지방 물질이다. 예를 들어, 지질은 세포질에서 자연 발생하는 지방 액적, 뿐만 아니라 장쇄 지방족 탄화수소 및 그의 유도체, 예컨대 지방산, 알콜, 아민, 아미노 알콜, 및 알데히드를 함유하는 화합물의 부류를 포함한다.

[0689] 사용하기 적합한 지질은 상업적 공급원으로부터 수득할 수 있다. 예를 들어, 디미리스틸 포스파티딜콜린 ("DMPC")은 미주리주 세인트 루이스의 시그마(Sigma)로부터 수득할 수 있고; 디세틸 포스페이트 ("DCP")는 케이 & 케이 래보러토리즈(K & K Laboratories) (뉴욕주 플레인뷰)로부터 수득할 수 있고; 콜레스테롤 ("Chol")은 칼바이오켐-베링(Calbiochem-Behring)으로부터 수득할 수 있고; 디미리스틸 포스파티딜글리세롤 ("DMPG") 및 다른 지질은 아반티 폴라 리피즈, 인크.(Avanti Polar Lipids, Inc.) (앨라배마주 버밍엄)로부터 수득할 수 있다. 클로로포름 또는 클로로포름/메탄올 내의 지질의 원액은 약 -20℃에서 저장될 수 있다. 클로로포름이 메탄올보다 더 용이하게 증발되기 때문에, 클로로포름이 유일한 용매로서 사용된다. "리포솜"은 둘러싸는 지질 이중층 또는 응집체의 생성에 의해 형성된 다양한 단일 및 다층막 지질 비히클을 포괄하는 일반적 용어이다. 리포솜은 인지질 이중층 막 및 내부 수성 매질을 갖는 소포 구조를 갖는 것을 특징으로 할 수 있다. 다층 리포솜은 수성 매질에 의해 분리된 다중 지질 층을 갖는다. 이들은 인지질이 과량의 수용액 중에 현탁될 경우에 자발적으로 형성된다. 지질 성분은 폐쇄된 구조의 형성 전에 자기-재배열을 거치고, 물 및 지질 이중층들 사이의 용해된 용질을 포획한다 (Ghosh et al., 1991 Glycobiology 5: 505-10). 그러나, 정상 소포 구조가 아니라 용액 중에서 상이한 구조를 갖는 조성물도 포괄된다. 예를 들어, 지질은 미셀 구조를 가정할 수 있거나 또는 단지 지질 분자의 불균일 응집체로서 존재할 수 있다. 또한, 리포펙타민-핵산 복합체가 고려된다.

[0690] 외인성 핵산을 숙주 세포 내로 도입하거나 또는 달리 세포를 본 발명의 억제제에 노출시키기 위해 사용된 방법과 상관없이, 숙주 세포에서 재조합 DNA 서열의 존재를 확인하기 위해 다양한 검정을 수행할 수 있다. 이러한 검정은, 예를 들어 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 "분자 생물학적" 검정, 예컨대 서던 및 노

던 블롯팅, RT-PCR 및 PCR; 예를 들어 면역학적 수단 (ELISA 및 웨스턴 블롯)에 의해 또는 본 발명의 범주 내에 포함되는 작용제를 확인하기 위해 본원에 기재된 검정에 의해, 예컨대 특정한 펩티드의 존재 또는 부재를 검출하는 "생화학적" 검정을 포함한다.

[0691] 본 발명은 CAR 코딩 핵산 분자를 포함하는 벡터를 추가로 제공한다. 한 측면에서, CAR 벡터는 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포 내로 직접 형질도입될 수 있다. 한 측면에서, 벡터는 클로닝 또는 발현 벡터, 예를 들어 1종 이상의 플라스미드 (예를 들어, 발현 플라스미드, 클로닝 벡터, 미니서클, 미니벡터, 이중 미세 염색체), 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 구축물을 포함하나 이에 제한되지는 않는 벡터이다. 한 측면에서, 벡터는 포유동물 면역 이펙터 세포, 예를 들어 포유동물 T 세포 또는 포유동물 NK 세포에서 CAR 구축물을 발현할 수 있다. 한 측면에서, 포유동물 T 세포는 인간 T 세포이다.

[0692] RNA 형질감염

[0693] 시험관내 전사된 RNA CAR, 예를 들어 RNA NKR-CAR을 생산하는 방법이 본원에 개시된다. 본 발명은 또한 세포 내로 직접 형질감염될 수 있는 NKR-CAR 코딩 RNA 구축물을 포함한다. 한 실시양태에서, NKR-CAR 코딩 RNA 구축물은 본원에 기재된 TCAR을 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함한다. 형질감염에 사용하기 위한 mRNA를 생성하는 방법은 특수하게 설계된 프라이머를 사용한 주형의 시험관내 전사 (IVT)에 이은 폴리A 첨가를 수반할 수 있으며, 이는 3' 및 5' 비번역 서열 ("UTR"), 5' 캡 및/또는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES), 발현시킬 핵산, 및 폴리A 테일을 함유하는, 전형적으로 50-2000개 염기 길이의 구축물 (서열식별번호: 35)을 생산한다. 이와 같이 생산된 RNA는 상이한 유형의 세포를 효율적으로 형질감염시킬 수 있다. 한 측면에서, 주형은 NKR-CAR에 대한 서열을 포함한다.

[0694] 한 측면에서 NKR-CAR은 메신저 RNA (mRNA)에 의해 코딩된다. 한 측면에서 NKR-CAR을 코딩하는 mRNA는 NKR-CAR 세포의 생산을 위해 T 세포 내로 도입된다. 한 측면에서 NKR-CAR을 코딩하는 mRNA는 NKR-CAR 세포의 생산을 위해 NK 세포 내로 도입된다.

[0695] 한 실시양태에서, 시험관내 전사된 RNA NKR-CAR은 일시적 형질감염의 형태로서 세포에 도입될 수 있다. RNA는 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)-생성 주형을 사용하여 시험관내 전사에 의해 생산된다. 임의의 공급원으로부터의 관심 DNA는 적절한 프라이머 및 RNA 폴리머라제를 사용하여 시험관내 mRNA 합성을 위한 주형으로 PCR에 의해 직접 전환될 수 있다. DNA의 공급원은 예를 들어 게놈 DNA, 플라스미드 DNA, 파지 DNA, cDNA, 합성 DNA 서열 또는 임의의 다른 적절한 DNA 공급원일 수 있다. 한 실시양태에서, 시험관내 전사를 위한 목적하는 주형은 본 발명의 NKR-CAR이다. 예를 들어, RNA NKR-CAR을 위한 주형은 항종양 항체의 단일 쇄 가변 도메인을 포함하는 세포외 영역; 힌지 영역, 막횡단 도메인 (예를 들어, KIR의 막횡단 도메인)을 포함한다. 한 실시양태에서, 시험관내 전사를 위한 목적하는 주형은 KIR-CAR 및 DAP12를 별개의 주형 상에 포함한다. 한 실시양태에서, 시험관내 전사를 위한 목적하는 주형은 KIR-CAR 및 DAP12를 동일한 주형 상에 포함한다. DAP12에 대한 주형은 막횡단 도메인 및 세포내 영역을 포함한다.

[0696] 한 실시양태에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 오픈 리딩 프레임을 함유한다. DNA는 유기체의 게놈으로부터 자연 발생 DNA 서열로부터 유래될 수 있다. 한 실시양태에서, 핵산은 일부 또는 모두의 5' 및/또는 3' 비번역 영역 (UTR)을 포함할 수 있다. 핵산은 엑손 및 인트론을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 인간 핵산 서열이다. 또 다른 실시양태에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 5' 및 3' UTR을 포함하는 인간 핵산 서열이다. DNA는 대안적으로 자연 발생 유기체에서 정상적으로는 발현되지 않는 인공 DNA 서열일 수 있다. 예시적인 인공 DNA 서열은 함께 라이게이션되어 융합 단백질을 코딩하는 오픈 리딩 프레임을 형성하는 유전자의 부분을 함유하는 것이다. 함께 라이게이션되는 DNA의 부분은 단일 유기체로부터 또는 1종 초과의 유기체로부터 유래될 수 있다.

[0697] PCR은 형질감염을 위해 사용되는 mRNA의 시험관내 전사를 위한 주형을 생성하기 위해 사용된다. PCR을 수행하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. PCR에 사용하기 위한 프라이머는 PCR을 위한 주형으로서 사용되는 DNA의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 갖도록 설계된다. 본원에 사용된 "실질적으로 상보적인"은 프라이머 서열 내의 대부분의 또는 모든 염기가 상보적이거나 또는 1개 이상의 염기가 비-상보적이거나 미스매치된 뉴클레오티드의 서열을 지칭한다. 실질적으로 상보적인 서열은 PCR을 위해 사용되는 어닐링 조건 하에서 의도된 DNA 표적과 어닐링하거나 혼성화할 수 있다. 프라이머는 DNA 주형의 임의의 부분에 실질적으로 상보적이도록 설계될 수 있다. 예를 들어, 프라이머는 5' 및 3' UTR을 포함하는, 세포에서 정상적으로 전사되는 핵산의 부분 (오픈 리딩 프레임)을 증폭하도록 설계될 수 있다. 프라이머는 또한 특정한 관심 도메인을 코딩하는 핵산의 부분을 증폭하도록 설계될 수 있다. 한 실시양태에서, 프라이머는 5' 및 3' UTR의 모두 또는 일부를 포함하

는 인간 cDNA의 코딩 영역을 증폭하도록 설계될 수 있다. PCR을 위해 유용한 프라이머는 관련 기술분야에 널리 공지된 합성 방법에 의해 생성될 수 있다. "정방향 프라이머"는 증폭될 DNA 서열의 상류에 존재하는 DNA 주형 상의 뉴클레오티드에 실질적으로 상보적인 뉴클레오티드의 영역을 함유하는 프라이머이다. "상류"는 코딩 가닥과 관련하여 증폭시킬 DNA 서열에 대해 위치 5를 지칭하기 위해 본원에 사용된다. "역방향 프라이머"는 증폭시킬 DNA 서열의 하류에 존재하는 이중-가닥 DNA 주형에 실질적으로 상보적인 뉴클레오티드의 영역을 함유하는 프라이머이다. "하류"는 코딩 가닥과 관련하여 증폭시킬 DNA 서열의 3' 위치를 지칭하기 위해 본원에 사용된다.

[0698] PCR에 유용한 임의의 DNA 폴리머라제가 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. 시약 및 폴리머라제는 수많은 공급원으로부터 상업적으로 입수가능하다.

[0699] 안정성 및/또는 번역 효율을 촉진하는 능력을 갖는 화학 구조도 사용될 수 있다. RNA는 바람직하게는 5' 및 3' UTR을 갖는다. 한 실시양태에서, 5' UTR은 1 내지 3000개 뉴클레오티드 길이이다. 코딩 영역에 부가되는 5' 및 3' UTR 서열의 길이는 UTR의 상이한 영역에 어닐링하는 PCR용 프라이머의 설계를 포함하나 이에 제한되지는 않는 상이한 방법에 의해 변경될 수 있다. 이러한 접근법을 사용하여, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 전사된 RNA의 형질감염 후에 최적 번역 효율을 달성하기 위해 필요한 5' 및 3' UTR 길이를 변형시킬 수 있다.

[0700] 5' 및 3' UTR은 관심 핵산에 대한 자연 발생, 내인성 5' 및 3' UTR일 수 있다. 대안적으로, 관심 핵산에 내인성이 아닌 UTR 서열은 UTR 서열을 정방향 및 역방향 프라이머 내로 혼입시킴으로써 또는 주형의 임의의 다른 변형에 의해 부가될 수 있다. 관심 핵산에 내인성이 아닌 UTR 서열의 사용은 RNA의 안정성 및/또는 번역 효율의 변형을 위해 유용할 수 있다. 예를 들어, 3' UTR 서열 내의 AU-풍부 요소가 mRNA의 안정성을 감소시킬 수 있다고 공지되어 있다. 따라서, 3' UTR은 관련 기술분야에 널리 공지된 UTR의 특성을 기초로 하여 전사되는 RNA의 안정성을 증가시키도록 선택되거나 설계될 수 있다.

[0701] 한 실시양태에서, 5' UTR은 내인성 핵산의 코작(Kozak) 서열을 함유할 수 있다. 대안적으로, 관심 핵산에 내인성이 아닌 5' UTR이 상기 기재된 바와 같이 PCR에 의해 부가되는 경우에, 컨센서스 코작 서열은 5' UTR 서열의 부가에 의해 재설계될 수 있다. 코작 서열은 일부 RNA 전사체의 번역 효율을 증가시킬 수 있지만, 효율적인 번역을 가능하게 하기 위해 모든 RNA에 필요한 것으로 보이지는 않는다. 많은 mRNA에 대한 코작 서열의 필요성은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 다른 실시양태에서, 5' UTR은 그의 RNA 게놈이 세포에서 안정한 RNA 바이러스의 5'UTR일 수 있다. 다른 실시양태에서, 다양한 뉴클레오티드 유사체가 mRNA의 엑소뉴클레아제 분해를 저해하기 위해 3' 또는 5' UTR에 사용될 수 있다.

[0702] 유전자 클로닝을 필요로 하지 않으면서 RNA를 DNA 주형으로부터 합성할 수 있기 위해, 전사 프로모터는 전사시킬 서열의 상류의 DNA 주형에 부착되어야 한다. RNA 폴리머라제에 대한 프로모터로서 기능하는 서열이 정방향 프라이머의 5' 말단부에 부가되는 경우에, RNA 폴리머라제 프로모터는 전사되는 오픈 리딩 프레임의 상류의 PCR 생성물 내로 혼입된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 프로모터는 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 T7 폴리머라제 프로모터이다. 다른 유용한 프로모터는 T3 및 SP6 RNA 폴리머라제 프로모터를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. T7, T3 및 SP6 프로모터에 대한 컨센서스 뉴클레오티드 서열이 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0703] 바람직한 실시양태에서, mRNA는 세포에서 리보솜 결합, 번역의 개시 및 mRNA의 안정성을 결정하는 5' 말단 및 3' 폴리(A) 테일 상에 둘 다의 캡을 갖는다. 원형 DNA 주형, 예를 들어 플라스미드 DNA에서, RNA 폴리머라제는 진핵 세포에서의 발현에 적합하지 않은 긴 콘카테머 생성물을 생산한다. 3' UTR의 말단에서 선형화된 플라스미드 DNA의 전사는 전사 후에 폴리아데닐화된 경우에도 진핵 형질감염에 유효하지 않은 정상 크기의 mRNA를 생성한다.

[0704] 선형 DNA 주형 상에서, 파지 T7 RNA 폴리머라제는 주형의 마지막 염기를 넘어 전사체의 3' 말단을 연장시킬 수 있다 (Schenborn and Mierendorf, Nuc Acids Res., 13:6223-36 (1985); Nacheva and Berzal-Herranz, Eur. J. Biochem., 270:1485-65 (2003)).

[0705] 폴리A/T 스트레치의 DNA 주형 내로의 통상적인 통합 방법은 분자 클로닝이다. 그러나, 플라스미드 DNA 내로 통합된 폴리A/T 서열은 플라스미드 불안정성을 유발할 수 있고, 이것은 박테리아 세포로부터 수득된 플라스미드 DNA 주형이 종종 결실 및 다른 이상에 의해 고도로 오염되는 이유이다. 이는 클로닝 절차를 어렵고 시간 소모적으로 만들 뿐만 아니라 종종 신뢰할 수 없게 만든다. 이러한 이유 때문에, 클로닝 없이 폴리A/T 3' 스트레치를 갖는 DNA 주형의 구축을 가능하게 하는 방법이 매우 바람직하다.

[0706] 전사 DNA 주형의 폴리A/T 절편은 폴리T 테일, 예컨대 100T 테일 (서열식별번호: 31) (크기는 50-5000 T일 수 있음 (서열식별번호: 32))을 함유하는 역방향 프라이머를 사용하여 PCR 동안, 또는 DNA 라이게이션 또는 시험관내

재조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 다른 방법에 의해 PCR 후에 생산될 수 있다. 폴리(A) 테일은 또한 안정성을 RNA에 제공하고, 그의 분해를 감소시킨다. 일반적으로, 폴리(A) 테일의 길이는 전사된 RNA의 안정성과 양의 상관관계가 있다. 한 실시양태에서, 폴리(A) 테일은 100 내지 5000개 아데노신 (서열식별번호: 33)이다.

[0707] RNA의 폴리(A) 테일은 폴리(A) 폴리머라제, 예컨대 이. 콜라이 폴리A 폴리머라제 (E-PAP)를 사용하여 시험관내 전사 후에 추가로 연장될 수 있다. 한 실시양태에서, 폴리(A) 테일의 길이를 100개의 뉴클레오티드로부터 300 내지 400개의 뉴클레오티드 (서열식별번호: 34)로 증가시키는 것은, RNA의 번역 효율의 약 2-배 증가를 발생시킨다. 추가로, 상이한 화학기의 3' 말단에 대한 부착은 mRNA 안정성을 증가시킬 수 있다. 이러한 부착은 변형된/인공 뉴클레오티드, 압타머 및 다른 화합물을 함유할 수 있다. 예를 들어, ATP 유사체는 폴리(A) 폴리머라제를 사용하여 폴리(A) 테일 내로 혼입될 수 있다. ATP 유사체는 RNA의 안정성을 추가로 증가시킬 수 있다.

[0708] 5' 캡이 또한 RNA 분자에게 안정성을 제공한다. 바람직한 실시양태에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 RNA는 5' 캡을 포함한다. 5' 캡은 관련 기술분야에 공지되고 본원에 기재된 기술을 사용하여 제공된다 (Cougot, et al., Trends in Biochem. Sci., 29:436-444 (2001); Stepinski, et al., RNA, 7:1468-95 (2001); Elango, et al., Biochim. Biophys. Res. Commun., 330:958-966 (2005)).

[0709] 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 RNA는 또한 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열을 함유할 수 있다. IRES 서열은 mRNA에 대한 캡-비의존성 리보솜 결합을 개시하고 번역의 개시를 용이하게 하는 임의의 바이러스, 염색체 또는 인공적으로 설계된 서열일 수 있다. 세포 투과성 및 생존을 용이하게 하는 인자, 예컨대 당, 펩티드, 지질, 단백질, 항산화제, 및 계면활성제를 함유할 수 있는, 세포 전기천공에 적합한 임의의 용질이 포함될 수 있다.

[0710] RNA는 임의의 수많은 상이한 방법, 예를 들어 전기천공 (아막사 뉴클레오펙터(Amaxa Nucleofector)-II (아막사 바이오시스템즈(Amaxa Biosystems), 독일 쾰른), (ECM 830 (BTX) (하버드 인스트루먼츠(Harvard Instruments), 매사추세츠주 보스턴) 또는 진 펄서(Gene Pulser) II (바이오라드(BioRad), 콜로라도주 덴버), 멀티포레이터 (Multiporator) (에펜도르프(Eppendort), 독일 함부르크), 리포펙션을 사용한 양이온성 리포솜 매개 형질감염, 중합체 캡슐화, 펩티드 매개 형질감염, 또는 바이오리스틱 입자 전달 시스템, 예컨대 "유전자 총" (예를 들어, 문헌 [Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001)] 참조)을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 상업적으로 입수가능한 방법을 사용하여 표적 세포 내로 도입될 수 있다.

[0711] 목적하는 분자를 코딩하는 핵산 서열은 관련 기술분야에 공지된 재조합 방법을 사용하여, 예컨대 예를 들어 유전자를 발현하는 세포로부터 라이브러리를 스크리닝함으로써, 이를 포함하는 것으로 공지된 벡터로부터 유전자를 유도함으로써, 또는 표준 기술을 사용하여 이를 함유하는 세포 및 조직으로부터 직접 단리함으로써 수득할 수 있다. 대안적으로, 관심 유전자는 클로닝하기 보다는 합성적으로 생산할 수 있다.

[0712] 비-바이러스 전달 방법

[0713] 일부 측면에서, 본원에 기재된 CAR, 예를 들어 NKR-CAR 또는 TCAR을 코딩하는 핵산을 세포 또는 조직 또는 대상체 내로 전달하는데 비-바이러스 방법이 사용될 수 있다.

[0714] 일부 실시양태에서, 비-바이러스 방법은 트랜스포손 (전위가능 요소로도 불림)의 사용을 포함한다. 일부 실시양태에서, 트랜스포손은 게놈 내 위치에서 그 자체를 삽입할 수 있는 DNA 조각, 예를 들어 자기-복제 및 그의 카피의 게놈 내로의 삽입이 가능한 DNA 조각, 또는 보다 긴 핵산으로부터의 스플라이싱 및 게놈 내 또 다른 위치 내로의 삽입이 가능한 DNA 조각이다. 예를 들어, 트랜스포손은 전위를 위한 역전된 반복부 플랭킹 유전자로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0715] 트랜스포손을 사용한 핵산 전달의 예시적인 방법은 슬리핑 뷰티 트랜스포손 시스템(Sleeping Beauty transposon system) (SBTS) 및 피기백(piggyBac) (PB) 트랜스포손 시스템을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Aronovich et al. Hum. Mol. Genet. 20.R1(2011):R14-20; Singh et al. Cancer Res. 15(2008):2961-2971; Huang et al. Mol. Ther. 16(2008):580-589; Grabundzija et al. Mol. Ther. 18(2010):1200-1209; Kebriaei et al. Blood. 122.21(2013):166; Williams. Molecular Therapy 16.9(2008):1515-16; Bell et al. Nat. Protoc. 2.12(2007):3153-65; 및 Ding et al. Cell. 122.3(2005):473-83]을 참조하고, 이들 모두는 본원에 참조로 포함된다.

[0716] SBTS는 2개의 성분: 1) 트랜스진을 함유하는 트랜스포손 및 2) 트랜스포사제 효소의 공급원을 포함한다. 트랜스포사제는 트랜스포손을 캐리어 플라스미드 (또는 다른 공여자 DNA)로부터 표적 DNA, 예컨대 숙주 세포 염색체

/게놈으로 전위시킬 수 있다. 예를 들어, 트랜스포사제는 캐리어 플라스미드/공여자 DNA에 결합하고, 플라스미드로부터 트랜스포손 (트랜스진(들) 포함)을 잘라내고, 이를 숙주 세포의 게놈 내로 삽입한다. 예를 들어, 상기 문헌 [Aronovich et al.]을 참조한다.

[0717] 예시적인 트랜스포손은 pT2-기반 트랜스포손을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Grabundzija et al. Nucleic Acids Res. 41.3(2013):1829-47; 및 Singh et al. Cancer Res. 68.8(2008): 2961-2971]을 참조하고, 이들 모두는 본원에 참조로 포함된다. 예시적인 트랜스포사제는 Tc1/마리너-유형 트랜스포사제, 예를 들어 SB10 트랜스포사제 또는 SB11 트랜스포사제 (예를 들어 시토메갈로바이러스 프로모터로부터 발현될 수 있는 과다활성 트랜스포사제)를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Aronovich et al.; Kebriaei et al.; 및 Grabundzija et al.]을 참조하고, 이들 모두는 본원에 참조로 포함된다

[0718] SBTS의 사용은 트랜스진, 예를 들어 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산의 효율적인 통합 및 발현을 허용한다. 예를 들어 트랜스포손 시스템, 예컨대 SBTS를 사용하여 본원에 기재된 CAR을 안정적으로 발현하는 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포를 생성하는 방법이 본원에 제공된다.

[0719] 본원에 기재된 방법에 따라, 일부 실시양태에서, 1종 이상의 핵산, 예를 들어 SBTS 성분을 함유하는 플라스미드가 세포 (예를 들어, T 또는 NK 세포)에게 전달된다. 예를 들어, 핵산(들)은 핵산 (예를 들어, 플라스미드 DNA) 전달의 표준 방법, 예를 들어 본원에 기재된 방법, 예를 들어 전기천공, 형질감염 또는 리포펙션에 의해 전달된다. 일부 실시양태에서, 핵산은 트랜스진, 예를 들어 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산을 포함하는 트랜스포손을 함유한다. 일부 실시양태에서, 핵산은 트랜스진 (예를 들어, 본원에 기재된 CAR을 코딩하는 핵산) 뿐만 아니라 트랜스포사제 효소를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 트랜스포손을 함유한다. 다른 실시양태에서, 2개의 핵산을 갖는 시스템, 예를 들어 이중-플라스미드 시스템이 제공되며, 예를 들어 여기서 제1 플라스미드는 트랜스진을 포함하는 트랜스포손을 함유하고, 제2 플라스미드는 트랜스포사제 효소를 코딩하는 핵산 서열을 함유한다. 예를 들어, 제1 및 제2 핵산은 숙주 세포 내로 공동-전달된다.

[0720] 일부 실시양태에서, SBTS를 사용한 유전자 삽입 및 뉴클레아제 (예를 들어, 아연 핑거 뉴클레아제 (ZFN), 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제 (TALEN), CRISPR/Cas 시스템, 또는 조작된 메가뉴클레아제 재조작된 귀소 엔도뉴클레아제)를 사용한 유전자 편집의 조합을 사용하는 것에 의해, 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포, 예를 들어 T 또는 NK 세포가 생성된다.

[0721] 일부 실시양태에서, 비-바이러스 전달 방법의 사용은 세포, 예를 들어 T 또는 NK 세포의 재프로그래밍 및 세포의 대상체 내로의 직접 주입을 허용한다. 비-바이러스 벡터의 이점은 환자 집단을 충족시키는데 필요한 충분한 양을 생산하는 것의 용이성 및 상대적으로 낮은 비용, 저장 동안의 안정성, 및 면역원성의 결여를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0722] 비-바이러스 전달 시스템이 이용되는 다른 실시양태에서, 예시적인 전달 비히클은 리포솜이다. 지질 제제의 사용은 숙주 세포 내로의 핵산의 도입 (시험관내, 생체외 또는 생체내)을 위해 고려된다. 또 다른 측면에서, 핵산은 지질과 회합될 수 있다. 지질과 회합된 핵산은 리포솜의 수성 내부에 캡슐화되거나, 리포솜의 지질 이중층 내에 점재되거나, 리포솜 및 올리고뉴클레오티드 둘 다와 회합된 연결 분자를 통해 리포솜에 부착되거나, 리포솜 내에 포획되거나, 리포솜과 복합체화되거나, 지질 함유 용액 중에 분산되거나, 지질과 혼합되거나, 지질과 조합되거나, 지질 내에 현탁액으로서 함유되거나, 미셀과 함께 함유 또는 복합체화되거나, 또는 지질과 달리 회합될 수 있다. 지질, 지질/DNA 또는 지질/발현 벡터 회합 조성물은 용액 중의 임의의 특정한 구조로 제한되지 않는다. 예를 들어, 이들은 이중층 구조로, 미셀로서, 또는 "붕괴된" 구조로 존재할 수 있다. 이들은 또한 단순히 용액 중에 점재되고, 가능하게는 크기 또는 형상이 균일하지 않은 응집체를 형성할 수 있다. 지질은 자연 발생 또는 합성 지질일 수 있는 지방 물질이다. 예를 들어, 지질은 세포질에서 자연 발생하는 지방 액적, 뿐만 아니라 장쇄 지방족 탄화수소 및 그의 유도체, 예컨대 지방산, 알콜, 아민, 아미노 알콜, 및 알데히드를 함유하는 화합물의 부류를 포함한다.

[0723] 사용하기 적합한 지질은 상업적 공급원으로부터 수득할 수 있다. 예를 들어, 디미리스틸 포스파티딜콜린 ("DMPC")은 미주리주 세인트 루이스의 시그마(Sigma)로부터 수득할 수 있고; 디세틸 포스페이트 ("DCP")는 케이 & 케이 래보러토리즈(K & K Laboratories) (뉴욕주 플레인뷰)로부터 수득할 수 있고; 콜레스테롤 ("Chol")은 칼바이오켐-베링(Calbiochem-Behring)으로부터 수득할 수 있고; 디미리스틸 포스파티딜글리세롤 ("DMPG") 및 다른 지질은 아반티 폴라 리피즈, 인크.(Avanti Polar Lipids, Inc.) (앨라배마주 버밍엄)로부터 수득할 수 있다. 클로로포름 또는 클로로포름/메탄올 내의 지질의 원액은 약 -20℃에서 저장될 수 있다. 클로로포름이 메탄올보다 더 용이하게 증발되기 때문에, 클로로포름이 유일한 용매로서 사용된다. "리포솜"은 둘러싸는 지질 이중층

또는 응집체의 생성에 의해 형성된 다양한 단일 및 다층막 지질 비히클을 포괄하는 일반적 용어이다. 리포솜은 인지질 이중층 막 및 내부 수성 매질을 갖는 소포 구조를 갖는 것을 특징으로 할 수 있다. 다층 리포솜은 수성 매질에 의해 분리된 다중 지질 층을 갖는다. 이들은 인지질이 과량의 수용액 중에 현탁될 경우에 자발적으로 형성된다. 지질 성분은 폐쇄된 구조의 형성 전에 자기-재배열을 거치고, 물 및 지질 이중층들 사이의 용해된 용질을 포획한다 (Ghosh et al., 1991 Glycobiology 5: 505-10). 그러나, 정상 소포 구조가 아니라 용액 중에서 상이한 구조를 갖는 조성물도 포괄된다. 예를 들어, 지질은 미셀 구조를 가정할 수 있거나 또는 단지 지질 분자의 불균일 응집체로서 존재할 수 있다. 또한, 리포펙타민-핵산 복합체가 고려된다.

[0724] 세포의 공급원

[0725] 확장 및 유전적 변형 전에, 세포 (예를 들어 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)의 공급원을 대상체로부터 수득한다. 용어 "대상체"는 면역 반응이 도출될 수 있는 살아있는 유기체 (예를 들어, 포유동물)를 포함하는 것으로 의도된다. 대상체의 예는 인간, 개, 고양이, 마우스, 래트, 및 그의 트랜스제닉 종을 포함한다. T 세포는 말초 혈액 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉막 삼출, 비장 조직, 및 종양을 포함한 수많은 공급원으로부터 수득될 수 있다.

[0726] 본 발명의 특정 실시양태에서, 관련 기술분야에서 입수가능한 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)주의 임의의 수가 사용될 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, T 세포는 통상의 기술자에게 공지된 임의의 많은 기술, 예컨대 피콜(Ficoll)™ 분리를 사용하여 대상체로부터 수집된 혈액 단위로부터 수득될 수 있다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 개체의 순환 혈액으로부터의 세포는 분리반출술에 의해 수득된다. 분리반출술 생성물은 전형적으로 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포를 포함한 림프구, 다른 유핵 백혈구, 적혈구, 및 혈소판을 함유한다. 한 실시양태에서, 분리반출술에 의해 수집된 세포는 혈장 분획을 제거하고 세포를 후속 프로세싱 단계를 위해 적절한 완충제 또는 배지에 두기 위해 세척될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 세포를 포스페이트 완충 염수 (PBS)로 세척한다. 대안적 실시양태에서, 세척 용액은 칼슘이 결여되어 있고, 마그네슘이 결여될 수 있거나 또는 모두는 아니지만 많은 2가 양이온이 결여될 수 있다. 칼슘의 부재 하에 초기 활성화 단계는 확대된 활성화로 이어진다. 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 명백한 바와 같이, 세척 단계는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 의해, 예컨대 반-자동화 "관통형" 원심분리기 (예를 들어, 코브(Cobe) 2991 셀 프로세서, 박스터 시토메이트(Baxter CytoMate), 또는 해모네틱스 셀 세이버 5(Haemonetics Cell Saver 5))를 제조업체의 지침에 따라 사용하는 것에 의해 달성할 수 있다. 세척 후에, 세포를 다양한 생체적합성 완충제, 예컨대 Ca-무함유, Mg-무함유 PBS, 플라스마라이트 A(PlasmaLyte A), 또는 완충제 존재 또는 부재 하의 다른 염수 용액 중에 재현탁시킬 수 있다. 대안적으로, 분리반출술 샘플의 바람직하지 않은 성분을 제거하고, 세포를 배양 배지 내에 직접 재현탁시킬 수 있다.

[0727] 본 출원의 방법은 5% 이하, 예를 들어 2%의 인간 AB 혈청을 포함하는 배양 배지 조건을 이용할 수 있고, 공지된 배양 배지 조건 및 조성, 예를 들어 문헌 [Smith et al., "Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement" Clinical & Translational Immunology (2015) 4, e31; doi:10.1038/cti.2014.31]에 기재된 것을 사용할 수 있는 것으로 인식된다.

[0728] 또 다른 실시양태에서, T 세포는 적혈구를 용해시키고, 예를 들어 퍼콜(PERCOLL)™ 구배를 통한 원심분리에 의해 또는 역류 원심 분리에 의해 단핵구를 고갈시킴으로써 말초 혈액 림프구로부터 단리된다. T 세포의 특정 하위집단, 예컨대 $CD3^+$, $CD28^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$, 및 $CD45RO^+$ T 세포는 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 추가로 단리될 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, T 세포는 항-CD3/항-CD28 (예를 들어, 3x28)-접합된 비드, 예컨대 디나비즈(DYNABEADS)® M-450 CD3/CD28 T와 함께 목적하는 T 세포의 양성 선택을 위한 충분한 시간 동안 인큐베이션함으로써 단리된다. 한 실시양태에서, 시간은 약 30분이다. 추가 실시양태에서, 시간은 30분 내지 36시간 또는 그 초과 및 그 사이의 모든 정수 값의 범위이다. 추가 실시양태에서, 시간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6시간이다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 시간은 10 내지 24시간이다. 한 실시양태에서, 인큐베이션 시간은 24시간이다. 백혈병에 걸린 환자로부터 T 세포를 단리하기 위해, 보다 긴 인큐베이션 시간, 예컨대 24시간을 사용하는 것은 세포 수율을 증가시킬 수 있다. 다른 세포 유형과 비교하여 T 세포가 거의 없는 임의의 상황에서, 예컨대 종양 조직으로부터 또는 면역손상 개체로부터 종양 침윤 림프구 (TIL)를 단리하는데 있어서, T 세포를 단리하기 위해 보다 긴 인큐베이션 시간이 사용될 수 있다. 또한, 보다 긴 인큐베이션 시간의 사용은 CD8+ T 세포의 포획 효율을 증가시킬 수 있다. 따라서, 단순히 시간을 단축하거나 연장함으로써 T 세포가 CD3/CD28 비드에 결합하도록 하고/거나, 비드 대 T 세포의 비를 증가시키거나 감소시킴으로써 (본원에 추가로 기재된 바와 같음), 배양 개시 시 또는 과정 동안의 다른 시점에 T 세포의 하위집단을 우선적으로 선택할 수 있

다. 추가로, 비드 또는 다른 표면 상의 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체의 비를 증가시키거나 감소시킴으로써, T 세포의 하위집단은 배양 개시 시 또는 다른 목적하는 시점에 우선적으로 선택될 수 있다. 통상의 기술자는 다중 선택 라운드가 또한 본 발명과 관련하여 사용될 수 있음을 인식할 것이다. 특정 실시양태에서, 활성화 및 확장 과정에서 선택 절차를 수행하고 "비선택된" 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. "비선택된" 세포는 또한 추가 라운드의 선택에 적용될 수 있다.

[0729] 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 풍부화는 음성 선택된 세포에 고유한 표면 마커에 대해 지시된 항체의 조합을 사용하여 달성될 수 있다. 1가지 방법은 음성 선택된 세포 상에 제시된 세포 표면 마커에 대해 지시된 모노클로날 항체의 칵테일을 사용하는 음성 자기 면역부착 또는 유동 세포측정법을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 풍부화하기 위해, 모노클로날 항체 칵테일은 전형적으로 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 전형적으로 $CD4^+$, $CD25^+$, $CD62L^{hi}$, $GITR^+$, 및 $FoxP3^+$를 발현하는 조절 T 세포를 풍부화하거나 또는 양성 선택하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로, 특정 실시양태에서, T 조절 세포는 항-C25 접합된 비드 또는 다른 유사한 선택 방법에 의해 고갈된다.

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

[0731] 한 실시양태에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포는 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드, IL-2를 사용하여 집단으로부터 제거된다. 한 실시양태에서, 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드는 기질, 예를 들어 비드에 접합되거나, 또는 달리 기질, 예를 들어 비드 상에 코팅된다. 한 실시양태에서, 항-CD25 항체 또는 그의 단편은 본원에 기재된 바와 같은 기질에 접합된다.

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

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

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

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

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

[0737] 한 실시양태에서, 대상체는 CAR-발현 세포 생성물 제조를 위한 세포의 수집 전에 T_{REG} 세포를 감소시키는 1종 이

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

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

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

[0740] 본원에 기재된 방법은 1개 초과의 선택 단계, 예를 들어 1개 초과의 고갈 단계를 포함할 수 있다. 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 풍부화는, 예를 들어 음성 선택된 세포에 고유한 표면 마커로 지시되는 항체의 조합에 의해 달성될 수 있다. 1가지 방법은 음성 선택된 세포의 표면 상에 존재하는 세포 표면 마커로 지시되는 모노클로날 항체의 칵테일을 사용하는 음성 자기 면역부착 또는 유동 세포측정법을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 풍부화하기 위해, 모노클로날 항체 칵테일은 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함할 수 있다.

[0741] 본원에 기재된 방법은 종양 항원, 예를 들어 CD25를 포함하지 않는 종양 항원, 예를 들어 CD19, CD30, CD38, CD123, CD20, CD14 또는 CD11b를 발현하는 집단으로부터 세포를 제거하여 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 CAR의 발현에 적합한 T 조절 고갈, 예를 들어 CD25+ 고갈 및 종양 항원 고갈 세포의 집단을 제공하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 종양 항원 발현 세포는 T 조절, 예를 들어 CD25+ 세포와 동시에 제거된다. 예를 들어, 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 및 항종양 항원 항체 또는 그의 단편은 세포를 제거하는데 사용될 수 있는 동일한 기질, 예를 들어 비드에 부착될 수 있거나, 또는 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 항종양 항원 항체 또는 그의 단편은 세포를 제거하는데 사용될 수 있는 혼합물인 개별 비드에 부착될 수 있다. 다른 실시양태에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포의 제거 및 종양 항원 발현 세포의 제거는 순차적이고, 예를 들어 어느 하나의 순서로 일어날 수 있다.

[0742] 또한, 체크 포인트 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 체크 포인트 억제제를 발현하는 집단으로부터 세포, 예를 들어 PD1+ 세포, LAG3+ 세포, 및 TIM3+ 세포 중 1종 이상을 제거하여, T 조절 고갈, 예를 들어 CD25+ 고갈 세포 및 체크 포인트 억제제 고갈 세포, 예를 들어 PD1+, LAG3+ 및/또는 TIM3+ 고갈 세포의 집단을 제공하는 것을 포함하는 방법이 제공된다. 예시적인 체크 포인트 억제제는 B7-H1, B7-1, CD160, P1H, 2B4, PD1, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, TIGIT, CTLA-4, BTLA 및 LAIR1을 포함한다. 한 실시양태에서, 체크 포인트 억제제 발현 세포는 T 조절, 예를 들어 CD25+ 세포와 동시에 제거된다. 예를 들어, 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 및 항-체크 포인트 억제제 항체 또는 그의 단편은 세포를 제거하는데 사용될 수 있는 동일한 비드에 부착될 수 있거나, 또는 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 항-체크 포인트 억제제 항체 또는 그의 단편은 세포를 제거하는데 사용될 수 있는 혼합물인 개별 비드에 부착될 수 있다. 다른 실시양태에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포의 제거 및 체크 포인트 억제제 발현 세포의 제거는 순차적이고, 예를 들어 어느 하나의 순서로 일어날 수 있다.

[0743] 한 실시양태에서, IFN-γ, TNFα, IL-17A, IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, IL-10, IL-13, 그랜자임 B 및 퍼포린, 또는 다른 적절한 분자, 예를 들어 다른 시토카인 중 1종 이상을 발현하는 T 세포 집단이 선택될 수 있다. 세포 발현에 대해 스크리닝하는 방법은 예를 들어 PCT 공개 번호 WO 2013/126712에 기재된 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0744] 양성 또는 음성 선택에 의한 세포의 목적하는 집단의 단리를 위해, 세포의 농도 및 표면 (예를 들어, 입자, 예컨대 비드)은 변할 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포 및 비드의 최대 접촉을 보장하기 위해 비드 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는 (즉, 세포의 농도를 증가시키는) 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 20억개/ml의 농도가 사용된다. 한 실시양태에서, 10억개 세포/ml의 농도가 사용된다. 추가 실시양태에서, 1억개 초과/ml가 사용된다. 추가 실시양태에서, 1천만, 1천5백만, 2천만, 2천5백만,

3천만, 3천5백만, 4천만, 4천5백만, 또는 5천만개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 7천5백만, 8천만, 8천5백만, 9천만, 9천5백만, 또는 1억개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가 실시양태에서, 1억2천5백만 또는 1억5천만개 세포/ml의 농도가 사용될 수 있다. 높은 농도의 사용은 증가된 세포 수율, 세포 활성화, 및 세포 확장을 발생시킬 수 있다. 또한, 높은 세포 농도의 사용은 관심 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포, 예컨대 CD28-음성 T 세포의, 또는 많은 종양 세포가 존재하는 샘플 (즉, 백혈병성 혈액, 종양 조직 등)로부터의 보다 효율적인 포획을 가능하게 한다. 이러한 세포의 집단은 치료 가치를 가질 수 있고, 수득하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들어 높은 농도의 세포를 사용하는 것은, 정상적으로는 보다 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포의 보다 효율적인 선택을 가능하게 한다.

[0745] 관련 실시양태에서, 보다 낮은 농도의 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. T 세포 및 표면 (예를 들어, 입자, 예컨대 비드)의 혼합물을 유의하게 희석시킴으로써, 입자와 세포 사이에 상호작용이 최소화된다. 이것은 입자에 결합되는 다량의 목적하는 항원을 발현하는 세포를 선택한다. 예를 들어, CD4+ T 세포는 보다 높은 수준의 CD28을 발현하고, 희석 농도에서 CD8+ T 세포보다 더 효율적으로 포획된다. 한 실시양태에서, 사용된 세포의 농도는 5 X 10^6개/ml이다. 다른 실시양태에서, 사용된 농도는 약 1 X 10^5개/ml 내지 1 X 10^6개/ml, 및 그 사이의 임의의 정수 값일 수 있다.

[0746] 다른 실시양태에서, 세포를 2-10℃ 또는 실온에서 상이한 속도로 상이한 시간 길이 동안 회전장치 상에서 인큐베이션할 수 있다.

[0747] 자극을 위한 T 세포는 또한 세척 단계 후에 동결될 수 있다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 동결 및 후속 해동 단계는 세포 집단에서 과립구 및 어느 정도의 단핵구를 제거함으로써 보다 균일한 생성물을 제공한다. 혈장 및 혈소판을 제거하는 세척 단계 후에, 세포는 동결 용액 중에 현탁될 수 있다. 많은 동결 용액 및 파라미터가 관련 기술분야에 공지되어 있고 이러한 맥락에서 유용할 것이지만, 한 방법은 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민을 함유하는 PBS, 또는 10% 덱스트란 40 및 5% 덱스트로스, 20% 인간 혈청 알부민 및 7.5% DMSO, 또는 31.25% 플라스마라이트-A, 31.25% 덱스트로스 5%, 0.45% NaCl, 10% 덱스트란 40 및 5% 덱스트로스, 20% 인간 혈청 알부민, 및 7.5% DMSO, 또는 예를 들어, 헤스판(Hespan) 및 플라스마라이트 A를 함유하는 다른 적합한 세포 동결 매질을 함유하는 배양 배지를 사용하는 것을 수반하고, 세포는 이어서 1분에 1℃의 속도로 -80℃로 동결되고, 액체 질소 저장 탱크의 증기 상에 저장된다. 다른 제어 동결 방법 뿐만 아니라 -20℃에서의 또는 액체 질소 내의 즉각적인 비제어 동결이 사용될 수 있다.

[0748] 특정 실시양태에서, 동결보존된 세포는 본원에 기재된 바와 같이 해동 및 세척되고, 1시간 동안 실온에서 휴지되도록 한 후, 본 발명의 방법을 사용하여 활성화된다.

[0749] 또한, 본 발명과 관련하여 본원에 기재된 바와 같은 확장된 세포가 필요할 수 있을 때 그 전의 일정 기간에 대상체로부터 혈액 샘플 또는 분리반출술 생성물을 수집하는 것이 고려된다. 따라서, 확장시킬 세포의 공급원은 필요한 임의의 시점에 수집될 수 있고, 목적하는 세포, 예컨대 T 세포가 단리되고, T 세포 요법으로부터 이익을 얻을 임의의 수많은 질환 또는 상태, 예컨대 본원에 기재된 것에 대한 T 세포 요법에 추후 사용하기 위해 동결될 수 있다. 한 실시양태에서, 혈액 샘플 또는 분리반출술은 일반적으로 건강한 대상체로부터 채취된다. 특정 실시양태에서, 혈액 샘플 또는 분리반출술은 질환이 발생할 위험이 있지만 아직 질환이 발생하지 않은 일반적으로 건강한 대상체로부터 채취되고, 관심 세포가 단리되고, 추후 사용을 위해 동결된다. 특정 실시양태에서, T 세포는 확장, 동결되고, 나중에 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 샘플은 본원에 기재된 바와 같은 특정한 질환의 진단 직후에, 그러나 임의의 치료 전에 환자로부터 수집된다. 추가 실시양태에서, 세포는 나탈리주맙, 에팔리주맙, 항바이러스제, 화학요법, 방사선, 면역억제제, 예컨대 시클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 미코페놀레이트, 및 FK506, 항체, 또는 다른 면역절제제, 예컨대 캄파트, 항-CD3 항체, 시톡산, 플루다라빈, 시클로스포린, FK506, 라파마이신, 미코페놀산, 스테로이드, FR901228과 같은 작용제, 및 방사선조사를 사용하는 치료를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 수많은 관련 치료 양식 전에 대상체로부터의 혈액 샘플 또는 분리반출술로부터 단리된다. 이들 약물은 칼슘 의존성 포스파타제 칼시뉴린을 억제하거나 (시클로스포린 및 FK506), 성장 인자 유도 신호전달을 위해 중요한 p70S6 키나제를 억제한다 (라파마이신). (Liu et al., Cell 66:807-815, 1991; Henderson et al., Immun. 73:316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993). 추가 실시양태에서, 세포는 환자에 대해 단리되고, 골수 또는 줄기 세포 이식, 화학요법제, 예컨대 플루다라빈, 외부-빔 방사선 요법 (XRT), 시클로포스파미드, 또는 항체, 예컨대 OKT3 또는 캄파트를 사용한 T 세포 절제 요법과 함께 (예를 들어, 그 전에, 동시에 또는 그 후에) 추후 사용하기 위해 동결된다. 또 다른 실시양태에서, 세포는 사전에 단리되고, B-세포 절제 요법, 예컨대 CD20과 반응하는 작용제, 예를

들어 리툭산(Rituxan) 이후에 치료를 위한 추후 사용을 위해 동결될 수 있다.

[0750] 본 발명의 추가 실시양태에서, T 세포는 기능적 T 세포를 사용한 대상체의 치료 후에 환자로부터 직접 수득된다. 이와 관련하여, 특정 암 치료, 특히 면역계를 손상시키는 약물을 사용한 치료 후, 환자가 치료로부터 정상적으로 회복되는 기간 동안의 치료 직후에, 수득된 T 세포의 품질은 생체외에서 확장되는 그의 능력이 최적화되거나 개선될 수 있는 것으로 관찰되었다. 마찬가지로, 본원에 기재된 방법을 사용한 생체외 조작 후에, 이들 세포는 증진된 생착 및 생체내 확장을 위한 바람직한 상태로 존재할 수 있다. 따라서, 이러한 회복기 동안 T 세포, 수지상 세포, 또는 조혈 계열의 다른 세포를 포함하는 혈액 세포를 수집하는 것이 본 발명의 문맥 내에서 고려된다. 추가로, 특정 실시양태에서, 특히 요법 후의 규정된 시간 윈도우 동안 특정한 세포 유형의 재증식, 재순환, 재생, 및/또는 확장이 유리한 조건을 대상체에서 생성하기 위해 가동화 (예를 들어, GM-CSF를 사용한 가동화) 및 조건화 요법이 사용될 수 있다. 예시적인 세포 유형은 T 세포, B 세포, 수지상 세포, 및 면역계의 다른 세포를 포함한다.

[0751] 한 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 면역 이펙터 세포는 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제를 제공받은 대상체로부터 수득된다. 한 실시양태에서, CAR을 발현하도록 조작될 면역 이펙터 세포의 집단, 예를 들어 T 세포는 대상체 내의 또는 대상체로부터 수거된 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수준, 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/ PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비가 적어도 일시적으로 증가되도록 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 충분한 시간 후에 또는 충분한 투여 후에 수거된다.

[0752] 다른 실시양태에서, CAR을 발현하도록 조작되었거나 또는 조작될 면역 이펙터 세포의 집단, 예를 들어 T 세포는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수를 증가시키거나 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/ PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비를 증가시키는 mTOR 억제제의 양과의 접촉에 의해 생체외에서 처리될 수 있다.

[0753] 한 실시양태에서, T 세포 집단은 디아글리세롤 키나제 (DGK)-결핍이다. DGK-결핍 세포는 DGK RNA 또는 단백질을 발현하지 않거나 또는 감소 또는 억제된 DGK 활성을 갖는 세포를 포함한다. DGK-결핍 세포는 유전적 접근법에 의해, 예를 들어 RNA-간섭제, 예를 들어 siRNA, shRNA, miRNA를 투여하여 DGK 발현을 감소 또는 방지하는 것에 의해 생성될 수 있다. 대안적으로, DGK-결핍 세포는 본원에 기재된 DGK 억제제를 사용한 처리에 의해 생성될 수 있다.

[0754] 한 실시양태에서, T 세포 집단은 이카로스(Ikaros)-결핍이다. 이카로스-결핍 세포는 이카로스 RNA 또는 단백질을 발현하지 않거나 또는 감소 또는 억제된 이카로스 활성을 갖는 세포를 포함하고, 이카로스-결핍 세포는 유전적 접근법에 의해, 예를 들어 RNA-간섭제, 예를 들어 siRNA, shRNA, miRNA를 투여하여 이카로스 발현을 감소 또는 방지하는 것에 의해 생성될 수 있다. 대안적으로, 이카로스-결핍 세포는 이카로스 억제제, 예를 들어 레날리도미드를 사용한 처리에 의해 생성될 수 있다.

[0755] 실시양태에서, T 세포 집단은 DGK-결핍 및 이카로스-결핍이고, 예를 들어 DGK 및 이카로스를 발현하지 않거나 또는 감소 또는 억제된 DGK 및 이카로스 활성을 갖는다. 이러한 DGK 및 이카로스-결핍 세포는 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 생성될 수 있다.

[0756] 한 실시양태에서, NK 세포는 대상체로부터 수득된다. 또 다른 실시양태에서, NK 세포는 NK 세포주, 예를 들어 NK-92 세포주 (콘퀘스트(Conkwest))이다.

[0757] 동종 CAR 면역 이펙터 세포

[0758] 본원에 기재된 실시양태에서, 면역 이펙터 세포는 동종 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포일 수 있다. 예를 들어, 세포는 동종 T 세포, 예를 들어 기능적 T 세포 수용체 (TCR) 및/또는 인간 백혈구 항원 (HLA), 예를 들어, HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II의 발현이 결여된 동종 T 세포일 수 있다.

[0759] 기능적 TCR이 결여된 T 세포는 예를 들어 그의 표면 상에 임의의 기능적 TCR을 발현하지 않도록 조작되거나, 기능적 TCR을 포함하는 1개 이상의 서브유닛을 발현하지 않도록 조작되거나 (예를 들어, TCR 알파, TCR 베타, TCR 감마, TCR 델타, TCR 엡실론, 및/또는 TCR 제타를 발현하지 않도록 (또는 감소된 발현을 나타내도록) 조작되거나), 또는 그의 표면 상에 매우 적은 기능적 TCR을 생산하도록 조작될 수 있다. 대안적으로, T 세포는 예를 들어 TCR의 서브유닛 중 1개 이상의 돌연변이된 또는 말단절단된 형태의 발현에 의해 실질적으로 손상된 TCR을 발현할 수 있다. 용어 "실질적으로 손상된 TCR"은 이러한 TCR이 숙주에서 유해한 면역 반응을 도출하지 않을 것

임을 의미한다.

[0760] 본원에 기재된 T 세포는 예를 들어 그의 표면 상에 기능적 HLA를 발현하지 않도록 조작될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 T 세포는 세포 표면 발현 HLA, 예를 들어, HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II가 하향조절되도록 조작될 수 있다. 일부 측면에서, HLA의 하향조절은 베타-2 마이크로글로불린 (B2M)의 발현을 감소시키거나 제거하는 것에 의해 달성될 수 있다.

[0761] 일부 실시양태에서, T 세포는 기능적 TCR 및 기능적 HLA, 예를 들어 HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II가 결여될 수 있다.

[0762] 기능적 TCR 및/또는 HLA의 발현이 결여된 변형된 T 세포는 TCR 또는 HLA의 1개 이상의 서브유닛의 녹아웃 또는 녹다운을 포함한 임의의 적합한 수단에 의해 수득될 수 있다. 예를 들어, T 세포는 siRNA, shRNA, 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부 (CRISPR) 전사-활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제 (TALEN), 또는 아연 핑거 엔도뉴클레아제 (ZFN)를 사용한 TCR 및/또는 HLA의 녹다운을 포함할 수 있다.

[0763] 일부 실시양태에서, 동종 세포는, 예를 들어 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 억제 분자를 발현하지 않거나 낮은 수준으로 발현하는 세포일 수 있다. 예를 들어, 세포는 예를 들어 면역 이펙터 반응을 일으키는 CAR-발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있는 억제 분자를 발현하지 않거나 낮은 수준으로 발현하는 세포일 수 있다. 억제 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 예를 들어, DNA, RNA 또는 단백질 수준에서의 억제에 의한 억제 분자의 억제는 CAR-발현 세포 성능을 최적화할 수 있다. 실시양태에서, 억제 핵산, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 예를 들어 억제 핵산, 예를 들어 dsRNA, 예를 들어 siRNA 또는 shRNA, 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부 (CRISPR), 전사-활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제 (TALEN), 또는 아연 핑거 엔도뉴클레아제 (ZFN)가 사용될 수 있다.

[0764] TCR 또는 HLA를 억제하는 siRNA 및 shRNA

[0765] 일부 실시양태에서, TCR 발현 및/또는 HLA 발현은 세포에서 TCR 및/또는 HLA, 및/또는 본원에 기재된 억제 분자 (예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타)를 코딩하는 핵산을 표적화하는 siRNA 또는 shRNA를 사용하여 억제될 수 있다.

[0766] T 세포에서 siRNA 및 shRNA의 발현은 임의의 통상적인 발현 시스템, 예를 들어 렌티바이러스 발현 시스템을 사용하여 달성될 수 있다.

[0767] TCR의 1종 이상의 성분의 발현을 하향조절하는 예시적인 shRNA는 예를 들어 미국 공개 번호 2012/0321667에 기재되어 있다. HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II 유전자의 발현을 하향조절하는 예시적인 siRNA 및 shRNA는 예를 들어 미국 공개 번호 US 2007/0036773에 기재되어 있다.

[0768] TCR 또는 HLA를 억제하는 CRISPR

[0769] 본원에 사용된 "CRISPR" 또는 "TCR 및/또는 HLA에 대한 CRISPR" 또는 "TCR 및/또는 HLA를 억제하는 CRISPR"은 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부의 세트, 또는 이러한 반복부의 세트를 포함하는 시스템을 지칭한다. 본원에 사용된 "Cas"는 CRISPR-연관 단백질을 지칭한다. "CRISPR/Cas" 시스템은 TCR 및/또는 HLA 유전자, 및/또는 본원에 기재된 억제 분자 (예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타)를 침묵 또는 돌연변이시키기 위해 사용될 수 있는, CRISPR 및 Cas로부터 유래된 시스템을 지칭한다.

[0770] 자연-발생 CRISPR/Cas 시스템은 서열분석된 유박테리움 게놈의 대략 40% 및 서열분석된 고세균의 90%에서 발견된다. 문헌 [Grissa et al. (2007) BMC Bioinformatics 8: 172]. 이러한 시스템은 외래 유전 요소, 예컨대 플라스미드 및 파지에 저항성을 부여하는 원핵 면역계의 유형이고, 후천성 면역 형태를 제공한다. 문헌 [Barrangou et al. (2007) Science 315: 1709-1712; Marragini et al. (2008) Science 322: 1843-1845].

[0771] CRISPR/Cas 시스템은 진핵생물, 예컨대 마우스 또는 영장류에서의 유전자 편집 (특정 유전자를 침묵, 증진 또는

변화시키는 것)에 사용하기 위해 변형된 바 있다. 문헌 [Wiedenheft et al. (2012) Nature 482: 331-8]. 이는 특이적으로 설계된 CRISPR 및 1개 이상의 적절한 Cas를 함유하는 플라스미드를 진핵 세포 내로 도입함으로써 달성된다.

[0772] 때때로 CRISPR 유전자좌로 불리는 CRISPR 서열은 교대 반복부 및 스페이서를 포함한다. 자연-발생 CRISPR에서, 스페이서는 통상적으로 박테리아에 외래인 서열, 예컨대 플라스미드 또는 파지 서열을 포함하고; TCR 및/또는 HLA CRISPR/Cas 시스템에서 스페이서는 TCR 또는 HLA 유전자 서열로부터 유래된다.

[0773] CRISPR 유전자좌로부터의 RNA는 구성적으로 발현되고, Cas 단백질에 의해 작은 RNA로 프로세싱된다. 이들은 반복부 서열과 플랭킹된 스페이서를 포함한다. RNA는 RNA 또는 DNA 수준에서 외인성 유전 요소를 침묵시키기 위해 다른 Cas 단백질을 안내한다. 문헌 [Horvath et al. (2010) Science 327: 167-170; Makarova et al. (2006) Biology Direct 1: 7]. 스페이서는 따라서 siRNA와 유사하게 RNA 분자에 대한 주형으로서 역할을 한다. 문헌 [Pennisi (2013) Science 341: 833-836].

[0774] 이들은 많은 상이한 유형의 박테리아에서 자연 발생하기 때문에, CRISPR의 정확한 배열 및 Cas 유전자의 구조, 기능, 및 수, 및 그의 산물은 종별로 다소 상이하다. 문헌 [Haft et al. (2005) PLoS Comput. Biol. 1: e60; Kunin et al. (2007) Genome Biol. 8: R61; Mojica et al. (2005) J. Mol. Evol. 60: 174-182; Bolotin et al. (2005) Microbiol. 151: 2551-2561; Pourcel et al. (2005) Microbiol. 151: 653-663; 및 Stern et al. (2010) Trends. Genet. 28: 335-340]. 예를 들어, Cse (Cas 하위유형, 이. 콜라이) 단백질 (예를 들어, CasA)은 CRISPR RNA 전사체를 기능적 복합체인 캐스케이드를 보유하는 스페이서-반복부 단위로 프로세싱하는 캐스케이드를 형성한다. 문헌 [Brouns et al. (2008) Science 321: 960-964]. 다른 원핵생물에서, Cas6은 CRISPR 전사체를 프로세싱한다. 이. 콜라이에서의 CRISPR-기반 파지 불활성화는 캐스케이드 및 Cas3을 필요로 하지만, Cas1 또는 Cas2는 필요로 하지 않는다. 피로코쿠스 푸리오수스(Pyrococcus furiosus) 및 다른 원핵생물에서 Cmr (Cas RAMP 모듈) 단백질은 상보성 표적 RNA를 인식하고 절단하는 작은 CRISPR RNA와 기능적 복합체를 형성한다. 보다 단순한 CRISPR 시스템은 이중 나선의 각각의 나선에 대해 1개씩, 2개의 활성 절단 부위를 갖는 뉴클레아제인 단백질 Cas9에 의존한다. Cas9 및 변형된 CRISPR 유전자좌 RNA의 조합이 유전자 편집을 위해 시스템에서 사용될 수 있다. 문헌 [Pennisi (2013) Science 341: 833-836].

[0775] CRISPR/Cas 시스템은 따라서 TCR 및/또는 HLA 유전자의 편집 (염기쌍의 부가 또는 결실), 또는 TCR 및/또는 HLA의 발현을 감소시키는 조기 정지의 도입을 위해 사용될 수 있다. CRISPR/Cas 시스템은 대안적으로 RNA 간섭처럼 사용되고, TCR 및/또는 HLA 유전자를 가역적인 방식으로 턴 오프할 수 있다. 포유동물 세포에서, 예를 들어 RNA는 Cas 단백질을 TCR 및/또는 HLA 프로모터로 안내하여, RNA 폴리머라제를 입체적으로 차단할 수 있다.

[0776] 관련 기술분야에 공지된, 예를 들어 미국 공개 번호 20140068797, 및 문헌 [Cong (2013) Science 339: 819-823]에 기재된 기술을 사용하여 TCR 및/또는 HLA를 억제하는 인공 CRISPR/Cas 시스템이 생성될 수 있다. 또한 TCR 및/또는 HLA를 억제하는 관련 기술분야에 공지된, 예를 들어 문헌 [Tsai (2014) Nature Biotechnol., 32:6 569-576], 미국 특허 번호 8,871,445; 8,865,406; 8,795,965; 8,771,945; 및 8,697,359에 기재된 다른 인공 CRISPR/Cas 시스템이 또한 생성될 수 있다.

[0777] TCR 및/또는 HLA를 억제하는 TALEN

[0778] "TALEN" 또는 "HLA 및/또는 TCR에 대한 TALEN" 또는 "HLA 및/또는 TCR을 억제하는 TALEN"은 HLA 및/또는 TCR 유전자, 및/또는 본원에 기재된 억제 분자 (예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타)를 편집하기 위해 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제인 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제를 지칭한다.

[0779] TALEN은 TAL 이펙터 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합시킴으로써 인공적으로 생산된다. 전사 활성화제-유사 이펙터 (TALE)는 HLA 또는 TCR 유전자의 부분을 포함하는 임의의 목적하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다. 조작된 TALE를 DNA 절단 도메인과 조합함으로써, HLA 또는 TCR 서열을 포함하는 임의의 목적하는 DNA 서열에 특이적인 제한 효소가 생산될 수 있다. 이어서, 이들은 세포 내로 도입될 수 있고, 여기서 이들은 게놈 편집을 위해 사용될 수 있다. 문헌 [Boch (2011) Nature Biotech. 29: 135-6; 및 Boch et al. (2009) Science 326: 1509-12; Moscou et al. (2009) Science 326: 3501].

[0780] TALE는 크산토모나스(Xanthomonas) 박테리아에 의해 분비되는 단백질이다. DNA 결합 도메인은 제12 및 제13 아

미노산을 제외하고, 반복된, 고도로 보존된 33-34개 아미노산 서열을 함유한다. 이들 2개의 위치는 매우 가변적이고, 이것은 특정 뉴클레오티드 인식과의 강한 상관관계를 보여준다. 따라서, 이들은 목적하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다.

[0781] TALEN을 생산하기 위해, TALE 단백질은 야생형 또는 돌연변이된 FokI 엔도뉴클레아제인 뉴클레아제 (N)에 융합된다. TALEN에서의 사용을 위해 FokI에 대한 여러 돌연변이가 이루어진 바 있고; 이들은 예를 들어 절단 특이성 또는 활성을 개선시킨다. 문헌 [Cermak et al. (2011) Nucl. Acids Res. 39: e82; Miller et al. (2011) Nature Biotech. 29: 143-8; Hockemeyer et al. (2011) Nature Biotech. 29: 731-734; Wood et al. (2011) Science 333: 307; Doyon et al. (2010) Nature Methods 8: 74-79; Szczepek et al. (2007) Nature Biotech. 25: 786-793; 및 Guo et al. (2010) J. Mol. Biol. 200: 96].

[0782] FokI 도메인은 이량체로서 기능하고, 적절한 배향 및 간격으로 표적 게놈 내의 부위에 대해 특유한 DNA 결합 도메인을 갖는 2개의 구축물을 필요로 한다. TALE DNA 결합 도메인과 FokI 절단 도메인 사이의 아미노산 잔기의 수 및 2개의 개별 TALEN 결합 부위 사이의 염기의 수 둘 다는 높은 활성 수준의 달성을 위해 중요한 파라미터인 것으로 보인다. 문헌 [Miller et al. (2011) Nature Biotech. 29: 143-8].

[0783] HLA 또는 TCR TALEN은 이중-가닥 파괴 (DSB)를 생성하기 위해 세포 내에서 사용될 수 있다. 돌연변이는 복구 메카니즘이 비-상동 말단 연결을 통해 파괴를 부적절하게 복구하는 경우에 파괴 부위에 도입될 수 있다. 예를 들어, 부적절한 복구는 프레임 시프트 돌연변이를 도입할 수 있다. 대안적으로, 외래 DNA가 TALEN과 함께 세포 내로 도입될 수 있고; 외래 DNA의 서열 및 염색체 서열에 따라, 이러한 과정은 HLA 또는 TCR 유전자 내의 결함을 교정하거나 또는 이러한 결함을 wt HLA 또는 TCR 유전자 내에 도입하여 HLA 또는 TCR의 발현을 감소시키기 위해 사용될 수 있다.

[0784] HLA 또는 TCR 내의 서열에 특이적인 TALEN은 모듈 성분을 사용하는 다양한 방식을 포함한 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 구축될 수 있다. 문헌 [Zhang et al. (2011) Nature Biotech. 29: 149-53; Geibler et al. (2011) PLoS ONE 6: e19509].

[0785] HLA 및/또는 TCR을 억제하는 아연 핑거 뉴클레아제

[0786] "ZFN" 또는 "아연 핑거 뉴클레아제" 또는 "HLA 및/또는 TCR에 대한 ZFN" 또는 "HLA 및/또는 TCR을 억제하는 ZFN"은 HLA 및/또는 TCR 유전자, 및/또는 본원에 기재된 억제 분자 (예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타)를 편집하기 위해 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제인 아연 핑거 뉴클레아제를 지칭한다.

[0787] TALEN처럼, ZFN은 DNA-결합 도메인에 융합된 FokI 뉴클레아제 도메인 (또는 그의 유도체)을 포함한다. ZFN의 경우에, DNA-결합 도메인은 1개 이상의 아연 핑거를 포함한다. 문헌 [Carroll et al. (2011) Genetics Society of America 188: 773-782; 및 Kim et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 1156-1160].

[0788] 아연 핑거는 1개 이상의 아연 이온에 의해 안정화된 작은 단백질 구조 모티프이다. 아연 핑거는 예를 들어 Cys2His2를 포함할 수 있고, 대략 3-bp 서열을 인식할 수 있다. 공지된 특이성의 다양한 아연 핑거를 조합하여 약 6, 9, 12, 15 또는 18-bp 서열을 인식하는 다중-핑거 폴리펩티드를 생산할 수 있다. 파지 디스플레이, 효모 1-하이브리드 시스템, 박테리아 1-하이브리드 및 2-하이브리드 시스템, 및 포유동물 세포를 포함한, 특정 서열을 인식하는 아연 핑거 (및 그의 조합)를 생성하기 위한 다양한 선택 및 모듈 어셈블리 기술이 이용가능하다.

[0789] TALEN처럼, ZFN은 DNA를 절단하기 위해 이량체화되어야 한다. 따라서, 한 쌍의 ZFN이 비-회문식 DNA 부위를 표적화하기 위해 필요하다. 2개의 개별 ZFN은 DNA의 대향하는 가닥에 결합해야 하고, 그의 뉴클레아제는 적절하게 이격된다. 문헌 [Bitinaite et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 10570-5].

[0790] 또한, TALEN처럼, ZFN은 DNA에 이중-가닥 파괴를 생성할 수 있고, 이것은 부적절하게 복구되는 경우에 프레임-시프트 돌연변이를 생성할 수 있고, 이는 세포 내 HLA 및/또는 TCR의 발현 및 양의 감소로 이어질 수 있다. ZFN은 또한 HLA 또는 TCR 유전자를 돌연변이시키기 위해 상동 재조합과 함께 사용될 수 있다.

[0791] HLA 및/또는 TCR 내의 서열에 특이적인 ZFN은 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 구축될 수 있다. 문헌 [Cathomen et al. (2008) Mol. Ther. 16: 1200-7; Guo et al. (2010) J. Mol. Biol. 400: 96]; 미국 특허 공개 2011/0158957; 및 미국 특허 공개 2012/0060230을 참조한다.

[0792] 텔로머라제 발현

[0793] 어떠한 특정한 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 일부 실시양태에서, 치료 T 세포는 T 세포의 단축된 텔로미어로 인해 환자에서 단기 지속성을 갖고; 따라서, 텔로머라제 유전자에 의한 형질감염은 T 세포의 텔로미어를 늘이고 환자에서의 T 세포의 지속성을 개선시킬 수 있다. 문헌 [Carl June, "Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic", Journal of Clinical Investigation, 117:1466-1476 (2007)]을 참조한다. 따라서, 한 실시양태에서, 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포는 텔로머라제 서브유닛, 예를 들어 텔로머라제의 촉매 서브유닛, 예를 들어 TERT, 예를 들어 hTERT를 이소적으로 발현한다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포를 텔로머라제 서브유닛, 예를 들어 텔로머라제의 촉매 서브유닛, 예를 들어 TERT, 예를 들어 hTERT를 코딩하는 핵산과 접촉시키는 것을 포함하는, CAR-발현 세포를 생산하는 방법을 제공한다. 세포는 CAR을 코딩하는 구축물과의 접촉 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 핵산과 접촉될 수 있다.

[0794] 한 측면에서, 본 개시내용은 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)의 집단을 제조하는 방법을 특색으로 한다. 한 실시양태에서, 방법은 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)의 집단을 제공하는 단계, 면역 이펙터 세포의 집단을 CAR을 코딩하는 핵산과 접촉시키는 단계; 및 CAR 및 텔로머라제 발현을 가능하게 하는 조건 하에, 면역 이펙터 세포의 집단을 텔로머라제 서브유닛, 예를 들어 hTERT를 코딩하는 핵산과 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0795] 한 실시양태에서, 텔로머라제 서브유닛을 코딩하는 핵산은 DNA이다. 한 실시양태에서, 텔로머라제 서브유닛을 코딩하는 핵산은 텔로머라제 서브유닛의 발현을 구동시킬 수 있는 프로모터를 포함한다.

[0796] 한 실시양태에서, hTERT는 하기와 같은, 진뱅크 단백질 ID AAC51724.1의 아미노산 서열을 갖는다 (Meyerson et al., "hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization" Cell Volume 90, Issue 4, 22 August 1997, Pages 785-795):

MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRLGPQGWRLVQRGDPAAFRALVAQCLVCV
PWDARPPPAAPSFRQVSCLKELVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGARGGPPEAFTT
SVRSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLARCALFVLVAPSCAYQVCGPPL
YQLGAATQARPPPHASGPRRRLGCERAWNHSVREAGVPLGLPAPGARRRGGSASRSLP
LPKRPRRGAAPEPERTPVGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPARPAEEATSLEGALSGT
RHSHPSVGRQHHAGPPSTSRPPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLSSLRPS
LTGARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNHAQCPYGVLLKTH
CPLRAAVTPAAGVCAREKPQGSVAAPEEEDTDPRRLVQLLRQHSSPWQVYGFVRACLR
RLVPPGLWGSRHNERRFLRNTKKFISLGKHAKLSLQELTWKMSVRGCAWLRRSPGVGC
VPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLRSFFYVTETTFQKNRLFFYRKSVWSKLQSI
GIRQHLKRVQLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYVVGARTFRR
EKRAERLTSRVKALFSVLNYERARRPGLLGASVLGLDDIHRAWRTFVLRVRAQDPPPEL
YFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQKAAHGHVRKAFKSHVST
LTDLQPYMRQFVAHLQETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFDVFLRFMCHHAVRIRGKS
YVQCQGIPQGSILSTLLCSLCYGDMENKLFAGIRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTHAKTFL
RTLVRGVPEYGCVVNLRKTVVNFPVEDEALGGTAFVQMPAHGLFPWCGLLLDTRTLEV
QSDYSSYARTSIRASLTFNRGFKAGRNMRRKLFGVLRLKCHSLFLDLQVNSLQTVCTNI
YKILLLQAYRFHACVLQLPFHQQVWKNPTFFLRVISDTASLCYSILKAKNAGMSLGAKG
AAGPLPSEAVQWLCHQAFLLKLTRHRVTYVPLLGSLRTAQTQLSRKLPGTTLTALEAAA
NPALPSDFKTILD (SEQ ID NO: 61)

[0797]

[0798] 한 실시양태에서, hTERT는 서열식별번호: 61의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다. 한 실시양태에서, hTERT는 서열식별번호: 61의 서열을 갖는다. 한 실시양태에서, hTERT는 N-말단, C-말단, 또는 둘 다에서 결실 (예를 들어, 5, 10, 15, 20, 또는 30개 이하의 아미노산)을 포함한다. 한 실시양태에서, hTERT는 N-말단, C-말단, 또는 둘 다에서 트랜스제닉 아미노산 서열 (예를 들어, 5, 10, 15, 20, 또는 30개 이하의 아미노산)을 포함한다.

[0799] 한 실시양태에서, hTERT는 진뱅크 수탁 번호 AF018167의 핵산 서열에 의해 코딩된다 (Meyerson et al., "hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization" Cell Volume 90, Issue 4, 22 August 1997, Pages 785-795):

[0800]
1 caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc
61 cgcgcgctcc ccgctgccga gccgtgcgct ccctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc
121 tgccgctggc cacgttcgtg cggcgcctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg
181 gggacccggc ggctttccgc gcgctggtgg cccagtgcct ggtgtgcgtg ccctgggacg
241 cacggccgcc ccccgccgcc ccctccttcc gccaggtgtc ctgcctgaag gagctggtgg
301 cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg
361 cgctgctgga cggggcccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct
421 acctgcccaa cacggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttgc
481 gccgcgtggg cgacgacgtg ctggttcacc tgctggcacg ctgcgcgctc tttgtgctgg
541 tggctcccag ctgcgcctac caggtgtgcg ggccgccgct gtaccagctc ggcgctgcca
601 ctcaggcccg gcccccgcca cacgctagtg gaccccgaag gcgtctggga tgcgaacggg

661 cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga
721 ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg
781 ctgcccctga gccggagcgg acgcccgttg ggcaggggtc ctgggcccac ccgggcagga
841 cgcgtggacc gagtgaccgt ggtttctgtg tggtgtcacc tgccagaccc gccgaagaag
901 ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgccactc ccacccatcc gtgggccgcc
961 agcaccacgc gggcccccca tccacatcgc ggccaccacg tccctgggac acgccttgtc
1021 ccccggtgta cgccgagacc aagcacttcc tctactcctc aggcgacaag gagcagctgc
1081 ggccctcctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgctcgg aggctcgtgg
1141 agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccagggac tccccgcagg ttgccccgcc
1201 tgccccagcg ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc
1261 agtgccccta cggggtgctc ctcaagacgc actgcccgct gcgagctgcg gtcaccccag
1321 cagccggtgt ctgtgcccgg gagaagcccc agggctctgt ggcggccccc gaggaggagg
1381 acacagaccc ccgtcgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt
1441 acggcttcgt gcgggcctgc ctgcgccggc tggtgccccc aggcctctgg ggctccaggc
1501 acaacgaacg ccgcttcctc aggaacacca agaagttcat ctccctgggg aagcatgcca
1561 agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca
1621 ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg
1681 ccaagttcct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt
1741 atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga
1801 gcaagttgca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt
1861 cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc
1921 gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgattgtgaa catggactac gtcgtgggag
1981 ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctcgagggtg aaggcactgt
2041 tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg
2101 gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gcccaggacc
2161 cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cgcgtacgac accatccccc
2221 aggacaggct cacggaggtc atcgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc
2281 gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc
2341 acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg
2401 agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctcctccctg aatgaggcca
2461 gcagtggcct cttcgacgtc ttcctacgct tcatgtgcca ccacgccgtg cgcatcaggg

[0801]

2521 gcaagtccta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggctc catcctctcc acgctgctct
2581 gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc
2641 tgctcctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtgacacc tcacctcacc cacgcgaaaa
2701 ccttcctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgcgtggtg aacttgcgga
2761 agacagtggt gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga
2821 tgccggccca cggcctattc ccctggtgcg gcctgctgct ggatacccgg accctggagg
2881 tgcagagcga ctactccagc tatgcccgga cctccatcag agccagtctc accttcaacc
2941 gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gcaaactctt tggggtcttg cggctgaagt
3001 gtcacagcct gtttctggat ttgcaggtga acagcctcca gacggtgtgc accaacatct
3061 acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctcccatttc
3121 atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tcctgcgcgt catctctgac acggcctccc
3181 tctgctactc catcctgaaa gccaagaacg cagggatgtc gctgggggcc aagggcgccg
3241 ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc
3301 tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc
3361 agctgagtcg gaagctcccg gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg
3421 cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgcccac agccaggccg
3481 agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggctctacgt cccagggagg gaggggcggc
3541 ccacacccag gcccgcaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct
3601 gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc
3661 tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttcact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc
3721 agggccagct tttcctcacc aggagcccgg cttccactcc ccacatagga atagtccatc
3781 cccagattcg ccattgttca cccctcgccc tgccctcctt tgccttccac ccccaccatc
3841 caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctgggaa tttggagtga ccaaaggtgt
3901 gccctgtaca caggcgagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg
3961 ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa
4021 aaaaaaa (SEQ ID NO: 62)

[0802]

[0803] 한 실시양태에서, hTERT는 서열식별번호: 62의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 서열을 갖는 핵산에 의해 코딩된다. 한 실시양태에서, hTERT는 서열식별번호: 62의 핵산에 의해 코딩된다.

[0804] 세포의 활성화 및 확장

[0805] 세포는 일반적으로 예를 들어 미국 특허 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 6,867,041; 및 미국 특허 출원 공개 번호 20060121005에 기재된 바와 같은 방법을 사용하여 활성화 및 확장될 수 있다.

[0806] 일반적으로, 본 발명의 T 세포는 CD3/TCR 복합체 연관 신호를 자극하는 작용제 및 T 세포의 표면 상의 공동-자극 분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 확장된다. 특히, T 세포 집단은 본원에 기재된 바와 같이, 예컨대 표면에 고정된 항-CD3 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 또는 항-CD2 항체와의 접촉에 의해, 또는 칼슘 이오노포어와 함께 단백질 키나제 C 활성화제 (예를 들어, 브리오스타틴)와의 접촉에 의해 자극될 수 있다. T 세포의 표면 상의 보조 분자의 공동-자극을 위해, 보조 분자에 결합하는 리간드가 사용된다. 예를 들어, T 세포의 집단은 T 세포의 증식을 자극하기에 적절한 조건 하에 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉될 수 있다. $CD4^+$ T 세포 또는 $CD8^+$ T 세포의 증식을 자극하기 위해, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체. 항-CD28 항체의 예는 9.3, B-T3, XR-CD28 (디아클론(Diaclone), 프랑스 브장송)을 포함하고, 관련 기술분야에 통상적으로 공지된 다른 방법이 사용될 수 있다 (Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9):13191328, 1999; Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999).

[0807] 특정 실시양태에서, T 세포에 대한 1차 자극 신호 및 공동-자극 신호는 상이한 프로토콜에 의해 제공될 수 있다. 예를 들어, 각각의 신호를 제공하는 작용제는 용액 중에 존재하거나 표면에 커플링될 수 있다. 표면에 커플링되는 경우에, 작용제는 동일한 표면 (즉, "시스" 형태) 또는 개별 표면 (즉, "트랜스" 형태)에 커플링될 수 있다. 대안적으로, 한 작용제는 표면에 커플링되고 다른 작용제는 용액 중에 존재할 수 있다. 한 실시양태에서, 공동-자극 신호를 제공하는 작용제는 세포 표면에 결합되고, 1차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 용액 중에 존재하거나 표면에 커플링된다. 특정 실시양태에서, 둘 다의 작용제는 용액 중에 존재할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 작용제는 가용성 형태로 존재한 후, 표면, 예컨대 Fc 수용체 또는 항체 또는 다른 결합제를 발현하는 세포에 가교될 수 있고, 이것이 작용제에 결합할 것이다. 이와 관련하여, 본 발명에서 T 세포를 활성화 및 확장하는데 사용하기 위해 고려되는 인공 항원 제시 세포 (aAPC)에 대한, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 번호 20040101519 및 20060034810을 참조한다.

[0808] 한 실시양태에서, 2종의 작용제는 동일한 비드, 즉 "시스" 또는 개별 비드, 즉 "트랜스"의 비드 상에 고정된다. 예로서, 1차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 항-CD3 항체 또는 그의 항원-결합 단편이고, 공동-자극 신호를 제공하는 작용제는 항-CD28 항체 또는 그의 항원-결합 단편이며; 둘 다의 작용제는 동일한 비드에 동등한 분자량으로 공동-고정된다. 한 실시양태에서, $CD4^+$ T 세포 확장 및 T 세포 성장을 위해 1:1 비의 비드에 결합된 각각의 항체가 사용된다. 본 발명의 특정 측면에서, 비드에 결합된 항 CD3:CD28 항체의 비는 1:1의 비를 사용하여 관찰된 확장과 비교하여 T 세포 확장의 증가가 관찰되도록 사용된다. 하나의 특정한 실시양태에서, 1:1의 비를 사용하여 관찰된 확장과 비교하여 약 1 내지 약 3배의 증가가 관찰된다. 한 실시양태에서, 비드에 결합된 CD3:CD28 항체의 비는 100:1 내지 1:100 및 그 사이의 모든 정수 값의 범위이다. 본 발명의 한 측면에서, 항-CD3 항체보다 많은 항-CD28 항체가 입자에 결합되고, 즉 CD3:CD28의 비는 1 미만이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 비드에 결합된 항 CD28 항체 대 항 CD3 항체의 비는 2:1보다 크다. 하나의 특정한 실시양태에서, 비드에 결합된 항체의 1:100 CD3:CD28 비가 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 비드에 결합된 항체의 1:75 CD3:CD28 비가 사용된다. 추가 실시양태에서, 비드에 결합된 항체의 1:50 CD3:CD28 비가 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 비드에 결합된 항체의 1:30 CD3:CD28 비가 사용된다. 한 바람직한 실시양태에서, 비드에 결합된 항체의 1:10 CD3:CD28 비가 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 비드에 결합된 항체의 1:3 CD3:CD28 비가 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 비드에 결합된 항체의 3:1 CD3:CD28 비가 사용된다.

[0809] 1:500 내지 500:1 및 그 사이의 임의의 정수 값의 입자 대 세포의 비가 T 세포 또는 다른 표적 세포를 자극하기 위해 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자가 용이하게 인식할 수 있는 바와 같이, 입자 대 세포의 비는 표적 세포에 대한 입자 크기에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 작은 크기의 비드는 소수의 세포에만 결합할 수 있지만, 보다 큰 비드는 많은 세포에 결합할 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포 대 입자의 비는 1:100 내지 100:1 및 그 사이의 임의의 정수 값의 범위이고, 추가의 실시양태에서 비는 1:9 내지 9:1 및 그 사이의 임의의 정수 값을 포함하고, 이는 또한 T 세포를 자극하기 위해 사용될 수 있다. T 세포 자극을 발생시키는 항-CD3- 및 항-CD28-커플링된 입자 대 T 세포의 비는 상기 언급된 바와 같이 달라질 수 있지만, 특정의 바람직한 값은 1:100, 1:50, 1:40, 1:30, 1:20, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 및 15:1을 포함하고, 하나의 바람직한 비는 T 세포 당 적어도 1:1 입자이다. 한 실시양태에서, 1:1 이하의 입자 대 세포의 비가 사용된다. 하나의 특정한 실시양태에서, 바람직한 입자: 세포 비는 1:5이다. 추가의 실시양태에서, 입자 대 세포의 비는 자극 일에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 입자 대 세포의 비는 제1일에 1:1 내지 10:1이고, 추가의 입자는 이후에 10일까지 매일 또는 격일로, 1:1 내지 1:10의 최종 비 (첨가 일의 세포 수 기준)로 세포에 첨가된다. 하나의 특정한 실시양태에서, 입자 대 세포의 비는 자극 제1일에 1:1이고, 자극 제3일 및 제5일에 1:5로 조정된다. 또 다른 실시양태에서, 입자는 매일 또는 격일 기준으로 자극의 제1일에 1:1, 제3일 및 제5일에 1:5의 최종 비로 첨가된다. 또 다른 실시양태에서, 입자 대 세포의 비는 자극 제1일에 2:1이고, 자극 제3일 및 제5일에 1:10으로 조정된다. 또 다른 실시양태에서, 입자는 매일 또는 격일 기준으로 자극의 제1일에 1:1, 제3일 및 제5일에 1:10의 최종 비로 첨가된다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 다양한 다른 비가 본 발명에서 사용하기에 적합할 수 있음을 이해할 것이다. 특히, 비는 입자 크기 및 세포 크기 및 종류에 따라 달라질 것이다. 한 실시양태에서, 사용하기에 가장 일반적인 비는 제1일에 대략 1:1, 2:1 및 3:1이다.

[0810] 본 발명의 추가 실시양태에서, 세포, 예컨대 T 세포는 작용제-코팅된 비드와 조합되고, 비드 및 세포를 후속적으로 분리한 후, 세포를 배양한다. 대안적 실시양태에서, 배양 전에, 작용제-코팅된 비드 및 세포를 분리하지 않고, 함께 배양한다. 추가의 실시양태에서, 비드 및 세포는 먼저 힘, 예컨대 자력을 인가하여 농축함으로써, 세포 표면 마커의 라이게이션을 증가시켜 세포 자극을 유도한다.

[0811] 예로서, 세포 표면 단백질은 항-CD3 및 항-CD28이 부착되는 상자성 비드 (3x28 비드)가 T 세포에 결합하도록 함으로써 라이게이션될 수 있다. 한 실시양태에서, 세포 (예를 들어, 10^4 내지 10^9개 T 세포) 및 비드 (예를 들어, 1:1 비의 디나비즈® M-450 CD3/CD28 T 상자성 비드)를 완충제, 예를 들어 PBS (2가 양이온, 예컨대, 칼슘 및 마그네슘 미함유) 내에 조합한다. 다시, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 임의의 세포 농도가 사용될 수 있음을 쉽게 이해할 수 있다. 예를 들어, 표적 세포는 샘플에 매우 드물 수 있고, 단지 샘플의 0.01%만을 이루거나 또는 전체 샘플 (즉, 100%)이 관심 표적 세포를 포함할 수 있다. 따라서, 임의의 세포 수가 본 발명의 측면에 포함된다. 특정 실시양태에서, 세포 및 입자의 최대 접촉을 보장하기 위해 입자 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는 (즉, 세포의 농도를 증가시키는) 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 약 20억개 세포/ml의 농도가 사용된다. 또 다른 실시양태에서, 1억개 세포/ml 초과의 농도가 사용된다. 추가의 실시양태에서, 1천만, 1천5백만, 2천만, 2천5백만, 3천만, 3천5백만, 4천만, 4천5백만, 또는 5천만개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 또 다른 실시양태에서 7천5백만, 8천만, 8천5백만, 9천만, 9천5백만, 또는 1억개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가의 실시양태에서, 1억2천5백만 또는 1억5천만개 세포/ml의 농도가 사용될 수 있다. 높은 농도의 사용은 증가된 세포 수율, 세포 활성화, 및 세포 확장을 발생시킬 수 있다. 또한, 높은 세포 농도의 사용은 관심 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포, 예컨대 CD28-음성 T 세포의 보다 효율적인 포획을 가능하게 한다. 이러한 세포의 집단은 치료 가치를 가질 수 있고, 특정 실시양태에서 수득하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들어, 높은 농도의 세포를 사용하면, 정상적으로는 보다 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포를 보다 효율적으로 선택하는 것이 가능하다.

[0812] 한 실시양태에서, CAR, 예를 들어 본원에 기재된 NKR-CAR을 코딩하는 핵산으로 형질도입된 세포는, 예를 들어 본원에 기재된 방법에 의해 확장된다. 한 실시양태에서, 세포는 배양 중 수시간 (예를 들어, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 18, 21시간) 내지 약 14일 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14일)의 기간 동안 확장된다. 한 실시양태에서, 세포는 4 내지 9일의 기간 동안 확장된다. 한 실시양태에서, 세포는 8일 이하, 예를 들어 7, 6 또는 5일의 기간 동안 확장된다. 한 실시양태에서, 세포, 예를 들어 본원에 기재된 NKR-CAR 세포는 배양 중 5일 동안 확장되고, 생성된 세포는 동일한 배양 조건 하에 배양 중 9일 동안 확장된 동일한 세포보다 더 강력하다. 효력은, 예를 들어 다양한 T 세포 기능, 예를 들어 증식, 표적 세포 사멸, 시토카인 생산, 활성화, 이동, 또는 그의 조합에 의해 규정될 수 있다. 한 실시양태에서, 5일 동안 확장된 세포, 예를 들어 본원에 기재된 NKR-CAR 세포는 동일한 배양 조건 하에 배양 중 9일 동안 확장된 동일한 세포와 비교하여 항원 자극 시 세포 배가에서 적어도 1, 2, 3 또는 4배 증가를 보인다. 한 실시양태에서, 세포, 예를 들어 본원에 기재된 NKR-CAR을 발현하는 세포는 배양 중 5일 동안 확장되고, 생성된 세포는 동일한 배양 조건 하에 배양 중 9일 동안 확장된 동일한 세포와 비교하여 보다 높은 염증유발 시토카인 생산, 예를 들어 IFN-γ 및/또는 GM-CSF 수준을 나타낸다. 한 실시양태에서, 5일 동안 확장된 세포, 예를 들어 본원에 기재된 NKR-CAR 세포는 동일한 배양 조건 하에 배양 중 9일 동안 확장된 동일한 세포와 비교하여 pg/ml 단위의 염증유발 시토카인 생산, 예를 들어 IFN-γ 및/또는 GM-CSF 수준에서 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 10배 또는 그 초과의 증가를 보인다.

[0813] 본 발명의 한 실시양태에서, 혼합물은 수시간 (약 3시간) 내지 약 14일 또는 그 사이의 임의의 시간상 정수 값 동안 배양될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 혼합물은 21일 동안 배양될 수 있다. 본 발명의 한 실시양태에서, 비드 및 T 세포는 함께 약 8일 동안 배양된다. 또 다른 실시양태에서, 비드 및 T 세포는 함께 2-3일 동안 배양된다. 또한, T 세포의 배양 시간이 60일 이상이 될 수 있도록 여러 사이클의 자극이 바람직할 수 있다. T 세포 배양을 위해 적절한 조건은 혈청 (예를 들어, 소 태아 또는 인간 혈청), 인터류킨-2 (IL-2), 인슐린, IFN-γ, IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGFβ, 및 TNF-α 또는 통상의 기술자에게 공지된 세포의 성장을 위한 임의의 다른 첨가제를 포함하는 증식 및 생존에 필요한 인자를 포함할 수 있는 적절한 배지 (예를 들어, 최소 필수 배지 또는 RPMI 배지 1640 또는, 엑스-비보(X-vivo) 15 (론자(Lonza)))를 포함한다. 세포의 성장을 위한 다른 첨가제는 계면활성제, 플라스마네이트, 및 환원제, 예컨대 N-아세틸-시스테인 및 2-메르캅토에탄올을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 배지는 혈청-비함유 또는 적절한 양의 혈청 (또는 혈장) 또는 규정된 세트의 호르몬으로 보충된 아미노산, 피루브산나트륨, 및 비타민, 및/또는 T 세포의 성장 및 확장을 위해 충분한 양의 시토카인(들)과 함께 RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α-MEM, F-12, 엑스-비보 15, 및 엑스-비보 20, 최적화제를 포함할 수 있다. 항생제, 예를 들어 페니실린 및 스트렙토마이신은 실험적 배양에만 포함되고, 대상체 내에 주입되어야 하는 세포의 배양물에는 포함되지 않는다. 표적 세포는 성장을 지지하기 위해 필요한 조건, 예를 들어 적절한 온도 (예를 들어, 37℃) 및 분위기 (예를 들어, 공기 플러스 5% CO_2) 하에 유지된다.

[0814] 한 실시양태에서, 세포는, 예를 들어 본원에 기재된 방법, 예컨대 유동 세포측정법에 의해 측정 시 14일 확장

기간에 걸쳐 세포의 적어도 200-배 (예를 들어, 200-배, 250-배, 300-배, 350-배) 증가를 발생시키는, 1종 이상의 인터류킨을 포함하는 적절한 배지 (예를 들어, 본원에 기재된 배지 중에서 확장된다. 한 실시양태에서, 세포는 IL-15 및/또는 IL-7 (예를 들어, IL-15 및 IL-7)의 존재 하에 확장된다.

[0815] 실시양태에서, 본원에 기재된 방법, 예를 들어 CAR-발현 세포 제조 방법은, 예를 들어 항-CD25 항체 또는 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드, IL-2를 사용하여 세포 집단으로부터 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포를 제거하는 것을 포함한다. 세포 집단으로부터 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포를 제거하는 방법은 본원에 기재되어 있다. 실시양태에서, 방법, 예를 들어 제조 방법은 세포 집단 (예를 들어, T 조절 세포, 예컨대 CD25+ T 세포가 고갈된 세포 집단; 또는 항-CD25 항체, 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드와 이전에 접촉시킨 세포 집단)을 IL-15 및/또는 IL-7과 접촉시키는 것을 추가로 포함한다. 예를 들어, 세포 집단 (예를 들어, 항-CD25 항체, 그의 단편, 또는 CD25-결합 리간드와 이전에 접촉시킨 것)은 IL-15 및/또는 IL-7의 존재 하에 확장된다.

[0816] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CAR-발현 세포의 제조 동안 인터류킨-15 (IL-15) 폴리펩티드, 인터류킨-15 수용체 알파 (IL-15Ra) 폴리펩티드, 또는 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드, 예를 들어 hetIL-15 둘 다의 조합을 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체외에서 접촉된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CAR-발현 세포의 제조 동안 IL-15 폴리펩티드를 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체외에서 접촉된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CAR-발현 세포의 제조 동안 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드 둘 다의 조합을 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체외에서 접촉된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CAR-발현 세포의 제조 동안 hetIL-15를 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체외에서 접촉된다.

[0817] 한 실시양태에서 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 생체외 확장 동안 hetIL-15를 포함하는 조성물과 접촉된다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 생체외 확장 동안 IL-15 폴리펩티드를 포함하는 조성물과 접촉된다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 생체외 확장 동안 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드 둘 다를 포함하는 조성물과 접촉된다. 한 실시양태에서, 접촉은 림프구 하위집단, 예를 들어 CD8+ T 세포의 생존 및 증식을 발생시킨다.

[0818] 상이한 자극 횟수에 노출된 T 세포는 상이한 특징을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 전형적인 혈액 또는 분리반출술을 거친 말초 혈액 단핵 세포 생성물은 세포독성 또는 억제자 T 세포 집단 (TC, CD8+)보다 큰 헬퍼 T 세포 집단 (TH, CD4+)을 갖는다. CD3 및 CD28 수용체를 자극하는 것에 의한 T 세포의 생체외 확장은 T 세포의 집단을 생산하고, 이는 약 8-9일 전에는 주로 TH 세포로 이루어지는 반면에, 약 8-9일 후 T 세포의 집단은 점점 더 큰 TC 세포의 집단을 포함한다. 따라서, 치료의 목적에 따라, 대상체에게 주로 TH 세포를 포함하는 T 세포 집단을 주입하는 것이 유리할 수 있다. 유사하게, TC 세포의 항원-특이적 하위세트가 단리되면, 이 하위세트를 더 큰 정도로 확장시키는 것이 유익할 수 있다.

[0819] 추가로, CD4 및 CD8 마커에 더하여, 다른 표현형 마커는 세포 확장 과정 동안 유의하게, 그러나 대부분 재현가능하게 상이하다. 따라서, 그러한 재현가능성 때문에, 특정 목적을 위해 활성화된 T 세포 생성물을 적합하게 조정할 수 있다.

[0820] 대안적으로, 또는 본원에 개시된 방법과 조합하여, CAR-발현 세포의 검출 및/또는 정량화 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내 (예를 들어, 임상 모니터링)); 면역 세포 확장 및/또는 활성화; 및/또는 CAR 리간드의 사용을 수반하는 CAR-특이적 선택 중 하나 이상을 위한 방법 및 조성물이 개시된다. 하나의 예시적인 실시양태에서, CAR 리간드는 CAR 분자에 결합하는, 예를 들어 CAR의 세포외 항원 결합 도메인에 결합하는 항체 (예를 들어, 항원 결합 도메인에 결합하는 항체, 예를 들어 항-이디오타입 항체; 또는 세포외 결합 도메인의 불변 영역에 결합하는 항체)이다. 다른 실시양태에서, CAR 리간드는 CAR 항원 분자 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 CAR 항원 분자)이다.

[0821] 한 측면에서, CAR-발현 세포를 검출 및/또는 정량화하는 방법이 개시된다. 예를 들어, CAR 리간드는 시험관내 또는 생체내에서 CAR-발현 세포를 검출 및/또는 정량화하는데 사용될 수 있다 (예를 들어, 환자에서 CAR-발현 세포의 임상 모니터링, 또는 환자에의 투여). 방법은

[0822] CAR 리간드 (임의로, 표지화 CAR 리간드, 예를 들어 태그, 비드, 방사성 또는 형광 표지를 포함하는 CAR 리간드)를 제공하는 단계;

[0823] CAR-발현 세포를 획득하는 단계 (예를 들어, CAR-발현 세포를 함유하는 샘플, 예컨대 제조 샘플 또는 임상 샘플을 획득하는 단계);

[0824] CAR-발현 세포를 CAR 리간드와 결합이 일어나는 조건 하에 접촉시켜, 존재하는 CAR-발현 세포의 수준 (예를 들어, 양)을 검출하는 단계를 포함한다. CAR-발현 세포와 CAR 리간드의 결합은 FACS, ELISA 등과 같은 표준 기술을 사용하여 검출될 수 있다.

[0825] 또 다른 측면에서, 세포 (예를 들어, 면역 이펙터 세포)를 확장 및/또는 활성화하는 방법이 개시된다. 방법은

[0826] CAR-발현 세포 (예를 들어, 제1 CAR-발현 세포 또는 일시적 발현 CAR 세포)를 제공하는 단계;

[0827] 상기 CAR-발현 세포를 CAR 리간드, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 CAR 리간드와 면역 세포 확장 및/또는 증식이 일어나는 조건 하에 접촉시켜, 활성화 및/또는 확장된 세포 집단을 생산하는 단계

[0828] 를 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR 리간드가 존재한다 (예를 들어, 기질, 예를 들어 비-자연 발생 기질에 고정되거나 부착됨). 일부 실시양태에서, 기질은 비-세포 기질이다. 비-세포 기질은 플레이트 (예를 들어, 마이크로타이터 플레이트), 막 (예를 들어, 니트로셀룰로스 막), 매트릭스, 칩 또는 비드로부터 선택된 고체 지지체일 수 있다. 실시양태에서, CAR 리간드는 기질에 (예를 들어, 기질 표면 상에) 존재한다. CAR 리간드는 기질에 공유 또는 비-공유 고정되거나, 부착되거나, 회합된다 (예를 들어 가교된다). 한 실시양태에서, CAR 리간드는 비드에 부착된다 (예를 들어, 공유 부착된다). 상기 실시양태에서, 면역 세포 집단은 시험관내 또는 생체외 확장될 수 있다. 방법은 CAR 분자의 리간드의 존재 하에, 예를 들어 본원에 기재된 임의의 방법을 사용하여 면역 세포의 집단을 배양하는 것을 추가로 포함할 수 있다.

[0829] 다른 실시양태에서, 세포를 확장 및/또는 활성화하는 방법은 추가로 제2 자극 분자, 예를 들어 CD28의 첨가를 포함한다. 예를 들어, CAR 리간드 및 제2 자극 분자는 기질, 예를 들어 1개 이상의 비드에 고정되어, 증가된 세포 확장 및/또는 활성화를 제공할 수 있다.

[0830] 또 다른 측면에서, CAR 발현 세포를 선택 또는 풍부화하는 방법이 제공된다. 방법은 CAR 발현 세포를 본원에 기재된 바와 같은 CAR 리간드와 접촉시키는 단계; 및 CAR 리간드의 결합에 기초하여 세포를 선택하는 단계를 포함한다.

[0831] 또 다른 실시양태에서, CAR 발현 세포를 고갈, 감소 및/또는 사멸시키는 방법이 제공된다. 방법은 CAR 발현 세포를 본원에 기재된 바와 같은 CAR 리간드와 접촉시키는 단계; 및 CAR 리간드의 결합에 기초하여 세포를 표적화하여, CAR-발현 세포의 수를 감소시키고/거나 그를 사멸시키는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, CAR 리간드는 독성제 (예를 들어, 독소 또는 세포 제거 약물)에 커플링된다. 또 다른 실시양태에서, 항-이디오타입 항체는 이펙터 세포 활성, 예를 들어 ADCC 또는 ADC 활성을 유발할 수 있다.

[0832] 본원에 개시된 방법에 사용될 수 있는 예시적인 항-CAR 항체가 예를 들어 WO 2014/190273 및 문헌 [Jena et al., "Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Specific Monoclonal Antibody to Detect CD19-Specific T cells in Clinical Trials", PLOS March 2013 8:3 e57838]에 기재되어 있고, 그의 내용은 본원에 참조로 포함된다. 한 실시양태에서, 항-이디오타입 항체 분자는 항-CD19 항체 분자, 예를 들어 항-CD19 scFv를 인식한다. 예를 들어, 항-이디오타입 항체 분자는 문헌 [Jena et al., PLOS March 2013 8:3 e57838]에 기재된 CD19-특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1과 결합에 대해 경쟁할 수 있거나; CD19-특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1과 동일한 CDR (예를 들어, 카바트 정의, 코티아 정의, 또는 카바트와 코티아 정의의 조합을 사용하여 VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예를 들어 모두)을 가질 수 있거나; CD19-특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1로서 1개 이상 (예를 들어, 2개)의 가변 영역을 가질 수 있거나, 또는 CD19-특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-이디오타입 항체는 문헌 [Jena et al.]에 기재된 방법에 따라 제조되었다. 또 다른 실시양태에서, 항-이디오타입 항체 분자는 WO 2014/190273에 기재된 항-이디오타입 항체 분자이다. 일부 실시양태에서, 항-이디오타입 항체 분자는 WO 2014/190273의 항체 분자, 예컨대 136.20.1과 동일한 CDR (예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예를 들어 모두)을 갖거나; WO 2014/190273의 항체 분자의 1개 이상 (예를 들어, 2개)의 가변 영역을 가질 수 있거나, 또는 WO 2014/190273의 항체 분자, 예컨대 136.20.1을 포함할 수 있다. 다른 실시양태에서, 항-CAR 항체는 예를 들어 WO 2014/190273에 기재된 바와 같은 CAR 분자의 세포외 결합 도메인의 불변 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-CAR 항체는 CAR 분자의 세포외 결합 도메인의 불변 영역, 예를 들어 중쇄 불변 영역 (예를 들어, CH2-CH3 힌지 영역) 또는 경쇄 불변 영역에 결합한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서 항-CAR 항체는 WO 2014/190273에 기재된 2D3 모노클로날 항체와 결합에 대해 경쟁하거나, 2D3과 동일한 CDR (예를 들어 VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예를 들어 모두)을 갖거나, 또는 2D3의 1개 이상 (예를 들어, 2개)의 가변 영역을 갖거나, 또는 WO 2014/190273에 기재된 바와 같은 2D3을

포함한다.

[0833] 일부 측면 및 실시양태에서, 본원의 조성물 및 방법은, 예를 들어 2014년 7월 31일에 출원된 미국 일련 번호 62/031,699에 기재된 바와 같이 T 세포의 특정 하위세트에 대해 최적화되고, 그의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, T 세포의 최적화된 하위세트는 대조군 T 세포, 예를 들어 동일한 구축물을 발현하는 상이한 유형 (예를 들어, $CD8^+$ 또는 $CD4^+$)의 T 세포와 비교하여 증진된 지속성을 나타낸다.

[0834] 일부 실시양태에서, $CD4^+$ T 세포는 본원에 기재된 CAR을 포함하며, 상기 CAR은 $CD4^+$ T 세포에 적합한 (예를 들어 그에 최적화된, 예를 들어 증진된 지속성으로 이어지는) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 ICOS 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, $CD8^+$ T 세포는 본원에 기재된 CAR을 포함하며, 상기 CAR은 $CD8^+$ T 세포에 적합한 (예를 들어 그에 최적화된, 예를 들어 증진된 지속성으로 이어지는) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 4-1BB 도메인, CD28 도메인, 또는 ICOS 도메인 이외의 또 다른 공동자극 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR은 본원에 기재된 항원 결합 도메인을 포함한다 (예를 들어, CAR은 본원에 기재된 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인을 포함함).

[0835] 한 측면에서, 대상체, 예를 들어 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본원에 기재된다. 방법은 상기 대상체에게 유효량의

[0836] 1) 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인;

[0837] 막횡단 도메인; 및

[0838] 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 제1 공동자극 도메인, 예를 들어 ICOS 도메인

[0839] 을 포함하는 CAR을 포함하는 $CD4^+$ T 세포 (CAR^{CD4+}); 및

[0840] 2) 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인;

[0841] 막횡단 도메인; 및

[0842] 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 제2 공동자극 도메인, 예를 들어 4-1BB 도메인, CD28 도메인, 또는 ICOS 도메인 이외의 또 다른 공동자극 도메인

[0843] 을 포함하는 CAR을 포함하는 $CD8^+$ T 세포 (CAR^{CD8+})

[0844] 를 투여하는 것을 포함하며;

[0845] 여기서 CAR^{CD4+} 및 CAR^{CD8+}는 서로 상이하다.

[0846] 임의로, 방법은

[0847] 3) 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 도메인, 예를 들어 본원에 기재된 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인;

[0848] 막횡단 도메인; 및

[0849] 세포내 신호전달 도메인

[0850] 을 포함하는 CAR을 포함하는 제2 CD8+ T 세포 (제2 CAR^{CD8+})

[0851] 를 투여하는 것을 추가로 포함하며, 여기서 제2 CAR^{CD8+}은 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CAR^{CD8+} 상에 존재하지 않는 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고, 임의로 ICOS 신호전달 도메인은 포함하지 않는다.

[0852] CAR 활성에 대한 검정

[0853] CAR, 예를 들어 본원에 기재된 NKR-CAR이 구축되면, 다양한 검정을 사용하여 분자의 활성, 예컨대 비제한적으로 항원 자극 후 T 세포를 확장시키는 능력, 재자극의 부재 하에 T 세포 확장을 지속시키는 능력, 및 적절한 시험관내 및 동물 모델에서의 항암 활성을 평가할 수 있다. NKR-CAR의 효과를 평가하기 위한 검정이 하기에 추가로

상세하게 기재되어 있다.

[0854] 1차 T 세포에서 NKR-CAR 발현의 웨스턴 블롯 분석은 단량체 및 이량체의 존재를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 매우 간략하게, CAR을 발현하는 T 세포 ($CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 1:1 혼합물)를 10일 초과 동안 시험관내 확장시킨 다음, 용해시키고, 환원 조건 하에 SDS-PAGE를 행한다. CAR은 CAR의 성분, 예를 들어 NKR 성분, 예를 들어 KIR 성분에 특이적인 항체를 사용한 웨스턴 블롯팅에 의해 검출된다. 동일한 T 세포 하위세트는 공유 이량체 형성의 평가를 허용하는 비-환원 조건 하의 SDS-PAGE 분석에 사용된다.

[0855] 항원 자극 후에 CAR^+ T 세포의 시험관내 확장은 유동 세포측정법에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 혼합물을 αCD3/αCD28 aAPC로 자극한 후, 분석할 프로모터의 제어 하에 GFP를 발현하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입한다. 예시적인 프로모터는 CMV IE 유전자, EF-1α, 유비퀴틴 C, 또는 포스포글리세로키나제 (PGK) 프로모터를 포함한다. GFP 형광은 유동 세포측정법에 의해 $CD4^+$ 및/또는 $CD8^+$ T 세포 하위세트에서 배양 제6일에 평가된다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 대안적으로, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 혼합물을 제0일에 αCD3/αCD28 코팅된 자기 비드로 자극하고, 2A 리보솜 스키핑 서열을 사용하여 eGFP와 함께 CAR을 발현하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터를 사용하여 제1일에 CAR로 형질도입한다. 배양물을 종양 항원-발현 K562 세포, 야생형 K562 세포 (K562 야생형) 또는 종양 항원을 발현하지 않는 음성 대조군 세포로 재-자극한다. 외인성 IL-2를 배양물에 격일로 100 IU/ml로 첨가한다. GFP^+ T 세포를 비드-기반 카운팅을 사용하여 유동 세포측정법에 의해 카운팅한다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다.

[0856] 재-자극의 부재 하에 지속되는 CAR^+ T 세포 확장을 또한 측정할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 간략하게, 평균 T 세포 부피 (fl)는 제0일에 αCD3/αCD28 코팅된 자기 비드를 사용한 자극, 및 제1일에 나타낸 CAR을 사용한 형질도입 후에 쿨터 멀티사이저 III(Coulter Multisizer III) 입자 계수기, 넥셀롬 셀로미터 비전(Nexcelom Cellometer Vision) 또는 밀리포어 셉터(Millipore Scepter)를 사용하여 배양 제8일에 측정한다.

[0857] CAR-발현 세포의 활성을 측정하기 위해 동물 모델이 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 면역결핍 마우스에서 메소텔린을 발현하는 원발성 인간 암, 예를 들어 중피종 또는 난소암을 치료하기 위해 인간 메소텔린-특이적 KIR-CAR^+ T 세포를 사용한 이종이식편 모델을 사용할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 매우 간략하게, 종양의 확립 후에, 마우스를 처리군으로 무작위화한다. 상이한 수의 CAR-발현 T 세포를 투여한다. CAR-발현 및 CAR-발현 세포의 증식/지속을 다양한 시점에 모니터링할 수 있다. 동물을 매주 간격으로 종양 진행에 대해 평가한다. 군에 대한 생존 곡선을 로그-순위 검정을 사용하여 비교한다. 용량 의존성 CAR 처리 반응을 평가할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다.

[0858] CAR-발현 세포의 세포 증식 및 시토카인 생산의 평가는 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]에 이전에 기재된 바 있다. 간략하게, CAR-매개 증식의 평가는 세척된 T 세포를 CD19 (K19) 또는 CD32 및 CD137 (KT32-BBL)을 발현하는 K562 세포와 2:1의 최종 T-세포:K562 비로 혼합함으로써 마이크로타이터 플레이트에서 수행된다. K562 세포는 사용 전 감마-방사선으로 방사선조사된다. 항-CD3 (클론 OKT3) 및 항-CD28 (클론 9.3) 모노클로날 항체를 배양물에 첨가하고, KT32-BBL 세포는 T-세포 증식을 자극하기 위한 양성 대조군으로 기능하고, 이것은 이들 신호가 생체외에서 장기간 $CD8^+$ T 세포 확장을 지지하기 때문이다. T 세포는 제조업체에 의해 기재된 바와 같이 카운트브라이트(CountBright)™ 형광 비드 (인비트로젠(Invitrogen), 캘리포니아주 칼스바드) 및 유동 세포측정법을 사용하여 배양물에서 열거된다. CAR^+ T 세포는 eGFP-2A 연결된 CAR-발현 렌티바이러스 벡터로 조작된 T 세포를 사용한 GFP 발현에 의해 확인된다. GFP를 발현하지 않는 CAR+ T 세포에 대해, CAR+ T 세포는 비오티닐화 재조합 종양-항원 단백질 및 2차 아비딘-PE 접합체로 검출된다. T 세포 상의 CD4+ 및 $CD8^+$ 발현은 또한 특이적 모노클로날 항체 (비디 바이오사이언시스(BD Biosciences))로 동시에 검출된다. 시토카인 측정은 제조업체의 지침에 따라 인간 TH1/TH2 시토카인 세포측정 비드 어레이 키트 (비디 바이오사이언시스, 캘리포니아주 샌 디에고)를 사용하여 또는 루미넥스 30-플렉스 키트 (인비트로젠)을 사용하여 재자극 24시간 후에 수집된 상청액에 대해 수행된다. 형광을 비디 포르테사(BD

Fortessa) 유동 세포측정기를 사용하여 평가하고, 데이터를 제조업체의 지침에 따라 분석한다. CD123 CART를 사용하여 유사한 실험을 행할 수 있다.

[0859] 세포독성은 표준 51Cr-방출 검정에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 간략하게, 표적 세포 (종양 항원을 발현하는 K562 세포주 및 원발성 종양 세포)를 37℃에서 2시간 동안 빈번하게 교반하면서 51Cr (NaCrO4로서, 뉴 잉글랜드 뉴클리어(New England Nuclear), 매사추세츠주 보스턴)을 로딩하고, 완전 RPMI 내에 2회 세척하고, 마이크로타이터 플레이트 내로 플레이팅한다. 이펙터 T 세포를 웰 내에서 완전 RPMI 내에서 표적 세포와, 이펙터 세포:표적 세포 (E:T)의 다양한 비로 혼합한다. 배지만 함유하는 (자발적 방출, SR) 또는 트리톤-X 100 세제의 1% 용액 (총 방출, TR)을 함유하는 추가의 웰을 또한 제조한다. 37℃에서 4시간 인큐베이션한 후, 각각의 웰로부터 상청액을 수거한다. 이어서, 방출된 51Cr을 감마 입자 계수기 (팩커드 인스트루먼트 코포레이션(Packard Instrument Co.), 매사추세츠주 월섬)를 사용하여 측정한다. 각각의 조건은 적어도 삼중으로 수행되고, 용해 백분율은 하기 식을 사용하여 계산된다: % 용해 = (ER - SR)/(TR - SR) (여기서, ER은 각각의 실험 조건의 경우에 방출된 평균 51Cr을 나타낸다).

[0860] 영상화 기술이 종양-보유 동물 모델에서 CAR의 특이적 트래픽킹 및 증식을 평가하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 검정은 예를 들어 문헌 [Barrett et al., Human Gene Therapy 22:1575-1586 (2011)]에 기재되어 있다. 간략하게, NOD/SCID/$\gamma c^{-/-}$ (NSG) 마우스에게 Nalm-6 세포를 IV 주사하고, 7일 후에 CAR 구축물을 사용한 전기천공 4시간 후에 T 세포를 주사한다. T 세포를 반딧불이 루시페라제를 발현하도록 렌티바이러스 구축물로 안정하게 형질감염시키고, 마우스를 생체발광에 대해 영상화한다. 대안적으로, Nalm-6 이종이식편 모델에서 CAR^+ T 세포의 단일 주사의 치료 효능 및 특이성은 다음과 같이 측정할 수 있다: NSG 마우스에게 반딧불이 루시페라제를 안정하게 발현하도록 형질도입된 Nalm-6을 주사한 후, 7일 후에 CAR로 전기천공된 T 세포를 단일 꼬리-정맥 주사한다. 동물을 주사 후 다양한 시점에서 영상화한다. 예를 들어, 제5일 (치료 2일 전) 및 제8일 (CAR^+ PBL 24시간 후)에 대표적인 마우스에서 반딧불이 루시페라제 양성 백혈병의 광자-밀도 열 지도를 생성할 수 있다.

[0861] 본원의 실시예 섹션에서 기재된 것들 및 관련 기술분야에 공지된 것을 포함하는 다른 검정이 또한 본 발명의 CAR 구축물을 평가하는데 사용될 수 있다.

[0862] 치료 용도

[0863] 본 발명은 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR, 또는 각각의 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR이 특정 항체의 항원 인식 도메인을 NKR의 성분, 예를 들어 KIR과 합한 것인 복수개의 유형의 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 발현하도록 변형된 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)를 포괄한다.

[0864] 한 실시양태에서, 본 발명의 KIR-CAR은 이들 단백질의 막횡단 도메인 내의 잔기에 의해 매개되는 막 단백질, DAP12를 함유하는 이뮤노티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)와의 상호작용을 통해 그의 신호를 전달하는 활성화 KIR을 포함한다.

[0865] 한 실시양태에서, 본 발명의 KIR-CAR은 세포질 신호전달 단백질, 예컨대 SHP-1, SHP-2 및 단백질의 Vav 패밀리와 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하는 1개 이상 이뮤노티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 통해 그의 신호를 전달하는 억제 KIR을 포함한다. (ITIM)을 함유하는 세포질 도메인을 보유하는 KIR은 활성화 신호를 제거하고, 이는 NK 세포용해 및 시토카인 생산 활성의 억제로 이어진다. 일부 경우에, 본 발명의 KIR-CAR을 발현하는 변형된 T 세포는 KIR-CAR-매개 T-세포 반응을 도출할 수 있다. 한 실시양태에서, 1종 초과의 유형의 항원에의 결합에 의존하는 것은 변형된 T 세포가 고조된 특이성을 나타내도록 하여 정상 방관자 세포보다 오히려 종양 세포의 결합 시 반응을 도출하게 한다.

[0866] 본 발명은 1차 T 세포의 종양 항원에 대한 특이성을 재지시하기 위한 복수개의 유형의 KIR-CAR의 용도를 제공한다. 따라서, 본 발명은 또한 포유동물에게 복수개의 유형의 KIR-CAR을 발현하는 T 세포를 투여하는 단계를 포함하는, 포유동물에서 표적 세포 집단 또는 조직에 대해 T 세포-매개 면역 반응을 자극하는 방법을 제공하며, 여기서 각각의 유형의 KIR-CAR은 미리 결정된 표적과 특이적으로 상호작용하는 결합 모이어티를 포함한다. 한 실시양태에서, 세포는 활성화 KIR을 포함하는 제1 KIR-CAR (actKIR-CAR) 및 억제 KIR을 포함하는 제2 KIR-CAR (inhKIR-CAR)을 포함한다.

[0867] 어떠한 특정한 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, KIR-CAR-변형된 T 세포에 의해 도출된 항종양 면역 반응은 능동 또는 수동 면역 반응일 수 있다. 또한, KIR-CAR 매개 면역 반응은 KIR-CAR-변형된 T 세포가 KIR-CAR

내 항원 결합 도메인에 특이적인 면역 반응을 유도하는 입양 면역요법 접근법의 일부일 수 있다.

[0868] 치료될 수 있는 암은 혈관화되지 않았거나 아직 실질적으로 혈관화되지 않은 종양, 뿐만 아니라 혈관화된 종양을 포함한다. 암은 비-고형 종양 (예컨대 혈액 종양, 예를 들어, 백혈병 및 림프종)을 포함할 수 있거나, 고형 종양을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR에 의해 치료될 암의 유형은 암종, 모세포종, 및 육종, 및 특정 백혈병 또는 림프성 악성종양, 양성 및 악성 종양, 및 악성종양, 예를 들어 육종, 암종, 및 흑색종을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 성인 종양/암 및 소아 종양/암이 또한 포함된다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양이다.

[0869] 혈액암은 혈액 또는 골수의 암이다. 혈액 (또는 혈행성) 암의 예는 급성 백혈병 (예컨대 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수구성 백혈병, 급성 골수 백혈병 및 골수모구성, 전골수구성, 골수단핵구성, 단핵구성 및 적백혈병), 만성 백혈병 (예컨대 만성 골수구성 (과립구성) 백혈병, 만성 골수 백혈병 및 만성 림프구성 백혈병)을 포함한 백혈병, 진성 다혈구혈증, 림프종, 호지킨병, 비-호지킨 림프종 (무통성 및 고등급 형태), 다발성 골수종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 중쇄 질환, 골수이형성 증후군, 모발상 세포 백혈병 및 골수이형성증을 포함한다.

[0870] 고형 종양은 통상적으로 낭 또는 액체 구역을 함유하지 않는 조직의 비정상적 덩어리이다. 고형 종양은 양성 또는 악성일 수 있다. 상이한 유형의 고형 종양은 그를 형성하는 세포의 유형에 대해 명명된다 (예컨대 육종, 암종 및 림프종). 고형 종양, 예컨대 육종 및 암종의 예는 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 및 다른 육종, 활막종, 중피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 결장 암종, 림프성 악성종양, 췌장암, 유방암, 폐암, 난소암, 전립선암, 간세포성 암종, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 한선 암종, 수질성 갑상선 암종, 유두상 갑상선 암종, 크롬친화세포종 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질성 암종, 기관지원성 암종, 신세포 암종, 간세포암, 담관 암종, 융모막암종, 윌름스 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 정상피종, 방광 암종, 흑색종, 및 CNS 종양 (예컨대 신경교종 (예컨대 뇌간 신경교종 및 혼합 신경교종), 교모세포종 (다형성 교모세포종으로도 공지됨) 성상세포종, CNS 림프종, 배세포종, 수모세포종, 슈반세포종 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 핍지교종, 수막종, 신경모세포종, 망막모세포종 및 뇌 전이)를 포함한다.

[0871] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-CD19 결합 도메인을 갖는 CD19 CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 CD19를 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 ALL (급성 림프모구성 백혈병), CLL (만성 림프구성 백혈병), DLBCL (미만성 대 B-세포 림프종), MCL (외투 세포 림프종), 또는 MM (다발성 골수종)이다.

[0872] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-EGRFvIII 결합 도메인을 갖는 EGFRvIIICAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 EGFRvIII을 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 교모세포종이다.

[0873] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-메소텔린 결합 도메인을 갖는 메소텔린 CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 메소텔린을 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 중피종, 췌장암, 폐암 또는 난소암이다.

[0874] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-CD123 결합 도메인을 갖는 CD123CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 CD123을 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 AML이다.

[0875] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-CLL-1 결합 도메인을 갖는 CLL-1CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 CLL-1을 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 AML이다.

[0876] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-CD33 결합 도메인을 갖는 CD33CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 CD33을 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 AML이다.

[0877] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-GD2 결합 도메

인을 갖는 GD2CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 GD2를 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 신경모세포종이다.

[0878] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 o-아세틸-GD2CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 o-아세틸-GD2를 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 신경모세포종 또는 흑색종이다.

[0879] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-BCMA 결합 도메인을 갖는 BCMACAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 BCMA를 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 다발성 골수종이다.

[0880] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-CLDN6 결합 도메인을 갖는 CLDN6CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 CLDN6을 발현한다. 한 실시양태에서, 치료될 암은 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 난소암, 폐암, 또는 유방암이다.

[0881] 한 실시양태에서, 개시내용은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 예를 들어 본원에 기재된 항-WT1 결합 도메인을 갖는 WT1CAR을 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포, NK 세포)를 제공함으로써 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 암 세포는 WT1을 발현한다.

[0882] 한 실시양태에서, 본 발명의 KIR-CAR 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 항원 결합 도메인은 특정한 암을 치료하도록 설계된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 KIR-CAR 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포는 제1 항원을 표적화하는 제1 actKIR-CAR 및 제2 항원을 표적화하는 제2 inhKIR-CAR을 발현하도록 변형되고, 여기서 제1 항원은 특정한 종양 또는 암 상에서 발현되고, 제2 항원은 특정한 종양 또는 암 상에서 발현되지 않는다. 이러한 방식에서, T 세포의 조건부 활성화는 actKIR-CAR (또는 관심 악성 세포 상의 항원에 대한 scFv를 보유하는 표준 TCR-제타 CAR) 및 예를 들어 정상 세포 상에 존재하는 항원에 대해 지시된 scFv를 보유하는 inhKIR-CAR의 연관에 의해 생성되지만, 악성 조직은 KIR-CAR T 세포가 정상 세포를 직면한 경우에 actKIR-CAR로부터의 활성화 신호의 억제를 제공하지 않는다. 억제 CAR에 대한 유용한 표적으로서의 역할을 하는 항원의 예는, 정상 조직으로부터의 상피 세포에 의해 발현되지만 종종 암에 의해 선택적으로 소실되는 에프린 수용체 (Pasquale, 2010, Nat Rev Cancer 10(3):165-80) 및 클라우딘 (Singh et al., 2010, J Oncol, 2010:541957) (예를 들어 EPHA7)을 포함한다.

[0883] 메소텔린-발현 질환 및 장애에 대한 치료 용도

[0884] 본 발명은 메소텔린의 발현과 연관된 질환 및 장애를 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 메소텔린 발현과 연관된 질환 또는 장애의 예는 중피종 (예를 들어, 흉막 중피종, 복막 중피종, 심막 중피종), 췌장암 또는 난소암을 포함한다. 메소텔린 발현과 연관된 질환 또는 장애는 본원에 기재된 고형 종양이다.

[0885] 악성 중피종은 중피로 공지된 신체의 내부 기관을 피복하는 세포의 박층에서 발생하는 암의 유형이다. 3종의 인식되는 중피종의 유형이 존재한다. 흉막 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종, 또는 MPM)은 사례 중 대략 70%가 이에 해당하는 질환의 가장 흔한 형태이고, 흉막으로 공지된 폐의 내층에서 발생한다. 복막 중피종은 복막으로 공지된 복강의 내층에서 발생한다. 심막 중피종은 심장을 피복하는 심막에서 기원한다.

[0886] 대상체는 대상체가 석면에 노출된 경우에 중피종이 발생할 위험이 있을 수 있다. 석면에 대한 노출 및 석면 입자의 흡입은 중피종을 유발할 수 있다. 대부분의 경우에, 중피종 증상은 노출 발생 후 수 년까지 석면에 노출된 대상체에서 나타나지 않을 것이다.

[0887] 흉막 중피종의 증상은 예를 들어 요통 또는 측면 흉통, 및 숨가쁨을 포함한다. 다른 증상은 삼킴 곤란, 지속성 기침, 열, 체중 감소 또는 피로를 포함한다. 일부 환자가 경험하는 추가의 증상은 근육 약화, 감각 능력의 상실, 객혈, 안면 및 팔 종창, 및 애성이다. 질환의 초기 단계, 예컨대 1기 중피종에서, 증상은 경도일 수 있다. 환자는 통상적으로, 전혀 사라질 것으로 보이지 않는 흉부의 한 영역에서의 통증, 체중 감소 및 열을 보고한다.

[0888] 복막 중피종은 복부에서 기원하고, 그 결과 증상은 종종 복통, 체중 감소, 오심 및 구토를 포함한다. 유체 축적은 복부에 발생할 뿐만 아니라 암의 결과로서 발생할 수 있다. 복막 중피종은 복부에서 기원하고, 간, 비장 또는 장을 포함한 영역 내의 다른 기관으로 빈번하게 확산될 것이다. 중증 복통은 환자가 먼저 경험하는 가장

흔한 호소증상이다. 또한, 복부 내의 유체 축적에 의해 불편감 수준이 존재할 수 있다. 복막 중피종의 다른 증상은 장 운동 곤란, 오심 및 구토, 열 및 발 종창을 포함할 수 있다.

[0889] 심막 중피종은 가장 드문 형태의 중피종이다. 심막 중피종은 그 명칭이 시사하는 바와 같이, 심장을 수반한다. 이러한 드문 유형의 중피종 암은 심장을 둘러싸는 주머니인 심막을 침습한다. 암이 진행함에 따라, 심장은 산소를 신체에 효율적으로 전달할 수 없고, 이는 점점 빠른 속도로 건강을 추가로 저하시킨다. 심막 중피종과 가장 통상적으로 연관된 증상은 심장발작의 증상: 오심, 흉부 통증 및 숨가쁨을 모방한다.

[0890] 본 발명에 따른 치료로부터 이익을 얻는 대상체는 중피종을 갖는 대상체, 또는 예를 들어 본원에 기재된 증상 중 1종 이상의 존재 및/또는 석면에의 노출에 의해 증명되는 바와 같이 중피종을 갖는 것으로 의심되는 대상체를 포함한다. 특정한 실시양태에서, 중피종은 흉막 중피종 (예를 들어, 악성 흉막 중피종)이다. 다른 측면에서, 전암성 상태, 예컨대 예를 들어, 흉막 플라크, 양성 중피종 또는 중피 증식증을 갖는 대상체가 치료될 수 있다.

[0891] 메소텔린과 연관된 질환 또는 장애의 또 다른 예는 췌장암이다. 본원에 기재된 방법에 의해 치료될 수 있는 췌장암은 외분비 췌장암 및 내분비 췌장암을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 외분비 췌장암은 선암종, 선방세포 암종, 선편평상피 암종, 콜로이드 암종, 파골세포-유사 거대 세포를 갖는 미분화 암종, 간세포양 암종, 관내 유두상-점액성 신생물, 점액성 낭성 신생물, 췌장모세포종, 장액성 낭선종, 인환 세포 암종, 고형 및 가유두상 종양, 췌장관 암종, 및 미분화 암종을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 외분비 췌장암은 췌장관 암종이다. 내분비 췌장암은 인슐린종 및 글루카곤종을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0892] 일부 실시양태에서, 췌장암은 초기 췌장암, 비-전이성 췌장암, 원발성 췌장암, 절제된 췌장암, 진행성 췌장암, 국부 진행성 췌장암, 전이성 췌장암, 절제불가능 췌장암, 완화 상태의 췌장암, 재발성 췌장암, 보조 세팅의 췌장암, 또는 신보조 세팅의 췌장암 중 임의의 것이다. 일부 실시양태에서, 췌장암은 국부 진행성 췌장암, 절제불가능 췌장암, 또는 전이성 췌장관 암종이다. 일부 실시양태에서, 췌장암은 겜시타빈-기반 요법에 대해 저항성이다. 일부 실시양태에서, 췌장암은 겜시타빈-기반 요법에 대해 불응성이다.

[0893] 다른 측면에서, 메소텔린 발현과 연관된 장애는 난소암이다. 난소암은 종양의 조직학에 따라 분류된다. 난소 상피 암종으로도 공지된 표면 상피-기질 종양은 난소암의 가장 흔한 유형이다. 이는 장액성 종양 (장액성 유두상 낭선암종 포함), 자국내막양 종양 및 점액성 낭선암종을 포함한다.

[0894] 본원에 기재된 방법은 다양한 병기의 난소암, 예를 들어 I기, II기, III기 또는 IV기의 치료를 위해 사용될 수 있다. 병기결정은 예를 들어 난소암이 제거된 경우에 수행될 수 있다. 난소암은 다음과 같이 병기결정된다:

[0895] I기 암은 하나 또는 둘 다의 난소로 한정된다. 하나 또는 둘 다의 난소가 수반되고 자궁 및/또는 난관 또는 골반 내의 다른 부위로 확산되면 암은 II기이다. 하나 또는 둘 다의 난소가 수반되고 림프절 또는 골반 외부의 다른 부위로 확산되었지만 아직 복강 내, 예컨대 장 또는 간의 표면에 존재하면 암은 III기 암이다. 하나 또는 둘 다의 난소가 수반되고 암이 복부 외부로 또는 간의 내부로 확산되면 암은 IV기 암이다.

[0896] 일부 실시양태에서, 난소암은 1종 이상의 화학치료제에 대해 저항성이다. 일부 실시양태에서, 난소암은 1종 이상의 화학요법제에 대해 불응성이다.

[0897] 본원에 기재된 CAR 조성물로 치료될 수 있는 다른 암은 예를 들어 뇌암, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 간암, 신장암, 림프종, 백혈병, 폐암 (예를 들어, 폐 선암종), 흑색종, 전이성 흑색종, 중피종, 신경모세포종, 난소암, 전립선암, 췌장암, 신장암, 피부암, 흉선종, 육종, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 자궁암, 및 그의 임의의 조합을 포함한다.

[0898] 본 발명은 메소텔린 발현 세포를 포함하는 세포의 집단을 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포와 접촉시키는 것을 포함하는, 메소텔린-발현 세포 집단의 증식을 억제하거나 이 집단을 감소시키는 방법을 제공한다. 구체적 실시양태에서, 본 발명은 메소텔린-발현 암 세포 집단을 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포와 접촉시키는 것을 포함하는, 메소텔린을 발현하는 암 세포의 집단의 증식을 억제하거나 이 집단을 감소시키는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 메소텔린-발현 암 세포 집단을 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포와 접촉시키는 것을 포함하는, 메소텔린을 발현하는 암 세포의 집단의 증식을 억제하거나 이 집단을 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포는 중피종 또는 메소텔린-발현 세포와 연관된 또 다른 암을 갖는 대상체 또는 그의 동물 모델에서 음성 대조군에 비해 세포 및/또는 암 세포의 수량, 수, 양 또는 백분율을 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 65%, 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 95%, 또

는 적어도 99%만큼 감소시킨다. 한 측면에서, 대상체는 인간이다.

[0899] 본 발명은 또한 메소텔린-발현 세포와 연관된 장애 (예를 들어, 중피종)의 예방, 치료 및/또는 관리를 필요로 하는 대상체에게 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 CAR-발현 세포를 투여하는 것을 포함하는, 메소텔린-발현 세포와 연관된 장애 (예를 들어, 중피종)를 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 대상체는 인간이다.

[0900] 본 발명은 메소텔린-발현 세포와 연관된 암의 재발의 예방을 필요로 하는 대상체에게 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포를 투여하는 것을 포함하는, 메소텔린-발현 세포와 연관된 암의 재발을 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 방법은 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포의 유효량을 또 다른 요법의 유효량과 조합하여 그를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0901] 한 측면에서, 본 발명은 포유동물 면역 이펙터 세포에서의 발현을 위해 프로모터에 작동가능하게 연결된 메소텔린 CAR을 코딩하는 서열을 포함하는 벡터에 관한 것이다. 한 측면에서, 본 발명은 메소텔린-발현 종양의 치료에 사용하기 위한, 메소텔린 CAR을 발현하는 재조합 면역 이펙터 세포를 제공한다. 한 측면에서, 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포는 메소텔린 CAR-발현 세포가 항원에 반응하여 활성화되고 CAR-발현 세포가 암 세포를 표적화하고 암의 성장이 억제되도록, 종양 세포를 그의 표면 상에 발현된 본 발명의 적어도 하나의 메소텔린 CAR과 접촉시킬 수 있다.

[0902] 한 측면에서, 본 발명은 CAR-발현 세포가 항원에 반응하여 활성화되고 암 세포를 표적화하도록 종양 세포를 a-메소텔린 CAR-발현 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 암의 성장이 억제되는 것인, 메소텔린-발현 암 세포의 성장을 억제하는 방법에 관한 것이다. 한 측면에서, 활성화된 CART는 암 세포를 표적화하고 사멸시킨다.

[0903] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 암이 대상체에서 치료되도록 대상체에게 메소텔린 CAR-발현 세포를 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포에 의해 치료가능한 암의 예는 메소텔린의 발현과 연관된 암이다. 한 측면에서, 메소텔린의 발현과 연관된 암은 중피종, 췌장암, 난소암 및 폐암으로부터 선택된다.

[0904] 본 발명은 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포가 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하도록 유전자 변형되고 CAR-발현 세포가 그를 필요로 하는 수용자에게 주입되는, 세포 요법의 유형을 포함한다. 주입된 세포는 수용자에서 종양 세포를 사멸시킬 수 있다. 항체 요법과 달리, CAR-변형된 면역 이펙터 세포는 생체 내에서 복제하여 장기간 지속될 수 있고, 이는 지속적인 종양 제어로 이어질 수 있다. 다양한 측면에서, 환자에게 투여된 세포 또는 그의 자손은 환자에게 세포를 투여한 후 환자에서 적어도 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 13개월, 14개월, 15개월, 16개월, 17개월, 18개월, 19개월, 20개월, 21개월, 22개월, 23개월, 2년, 3년, 4년, 또는 5년 동안 지속된다.

[0905] 본 발명은 또한 면역 이펙터 세포가 키메라 항원 수용체 (CAR)를 일시적으로 발현하도록, 예를 들어 시험관내 전사된 RNA에 의해 변형되고 CAR-발현 세포가 그를 필요로 하는 수용자에게 주입되는, 세포 요법의 유형을 포함한다. 주입된 세포는 수용자에서 암 세포를 사멸시킬 수 있다. 따라서, 다양한 측면에서, 환자에게 투여된 세포는 환자에게 세포를 투여한 후 1개월 미만, 예를 들어 3주, 2주, 1주 동안 존재한다.

[0906] 어떠한 특정한 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, CAR-변형된 면역 이펙터 세포에 의해 도출되는 항암 면역 반응은 능동 또는 수동 면역 반응일 수 있거나, 또는 대안적으로 직접 대 간접 면역 반응으로 인한 것일 수 있다. 한 측면에서, CAR 형질도입된 T 세포는 메소텔린을 발현하는 인간 암 세포에 반응하여 특이적 염증유발 시토카인 분비 및 강력한 세포용해 활성을 나타내고, 확립된 인간 종양의 방관자 사멸을 매개하고 퇴행을 매개한다. 예를 들어, 메소텔린-발현 종양의 불균질 영역 내의 무-항원 종양 세포는 이전에 인접 항원-양성 암 세포에 대해 반응한 바 있는 메소텔린-재지시된 T 세포에 의한 간접 파괴에 감수성일 수 있다.

[0907] 한 측면에서, 본 발명의 완전-인간 scFv 보유 CAR-변형된 면역 이펙터 세포는 포유동물의 생체외 면역화 및/또는 생체내 요법을 위한 백신의 유형일 수 있다. 한 측면에서, 포유동물은 인간이다.

[0908] 생체외 면역화와 관련하여, 하기: i) 세포의 확장, ii) KIR-CAR을 코딩하는 핵산의 세포로의 도입 또는 iii) 세포의 동결보존 중 적어도 하나가 세포를 포유동물 내로 투여하기 전 시험관내에서 일어난다.

[0909] 생체외 절차는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 하기에서 보다 상세하게 논의된다. 간략하게, 세포는 포유동물 (바람직하게는 인간)로부터 단리되고, 본원에 개시된 KIR-CAR을 발현하는 벡터에 의해 유전자 변형된다

(즉, 시험관내 형질도입 또는 형질감염됨). KIR-CAR-변형된 세포는 포유동물 수용자에게 투여되어 치료 이익을 제공할 수 있다. 포유동물 수용자는 인간일 수 있고, KIR-CAR-변형된 세포는 수용자에 관하여 자가일 수 있다. 대안적으로, 세포는 수용자에 관하여 동종, 동계 또는 이종일 수 있다.

[0910] 조혈 줄기 및 전구 세포의 생체외 확장 절차는 본원에 참조로 포함된 미국 특허 번호 5,199,942에 기재되어 있고, 본 발명의 세포에 적용될 수 있다. 다른 적합한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있고, 따라서 본 발명은 세포의 생체외 확장의 임의의 특정한 방법으로 제한되지 않는다. 간략하게, T 세포의 생체외 배양 및 확장은: (1) 포유동물로부터 말초 혈액 수거 또는 골수 외식편으로부터 CD34+ 조혈 줄기 및 전구 세포를 수집하는 것; 및 (2) 이러한 세포를 생체외 확장시키는 것을 포함한다. 미국 특허 번호 5,199,942에 기재된 세포 성장 인자에 더하여, 다른 인자, 예컨대 flt3-L, IL-1, IL-3 및 c-kit 리간드가 세포의 배양 및 확장을 위해 사용될 수 있다.

[0911] 생체외 면역화와 관련하여 세포-기반 백신을 사용하는 것에 더하여, 본 발명은 또한 환자에서 항원에 대해 지시된 면역 반응을 도출하는 생체내 면역화를 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0912] 일반적으로, 본원에 기재된 바와 같이 활성화되고 확장된 세포는 면역손상된 개체에서 발생하는 질환의 치료 및 예방에 사용될 수 있다. 특히, 본 발명의 KIR-CAR-변형된 T 세포는 암의 치료에 사용된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 세포는 암의 발생 위험이 있는 환자의 치료에 사용된다. 따라서, 본 발명은 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 본 발명의 KIR-CAR-변형된 T 세포의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0913] 본 발명의 KIR-CAR-변형된 T 세포는 단독으로 또는 제약 조성물로서, 희석제 및/또는 다른 성분, 예컨대 IL-2 또는 다른 시토카인 또는 세포 집단과 조합되어 투여될 수 있다. 간략하게, 본 발명의 제약 조성물은 1종 이상의 제약상 또는 생리학상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제와 조합된, 본원에 기재된 바와 같은 표적 세포 집단을 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 완충제, 예컨대 중성 완충 염수, 포스페이트 완충 염수 등; 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 덱스트란, 만니톨; 단백질; 폴리펩티드 또는 아미노산, 예컨대 글리신; 항산화제; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA 또는 글루타티온; 아주반트 (예를 들어, 수산화알루미늄); 및 보존제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 바람직하게는 정맥내 투여를 위해 제제화된다.

[0914] 본 발명은 또한 메소텔린-발현 세포를 포함하는 세포의 집단을 메소텔린 CAR-발현 세포 (예를 들어, 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 NKR-CAR)와 접촉시키는 것을 포함하는, 메소텔린-발현 세포 집단의 증식을 억제하거나 이를 감소시키는 방법을 제공한다. 구체적 측면에서, 본 발명은 메소텔린-발현 암 세포 집단을 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포와 접촉시키는 것을 포함하는, 메소텔린을 발현하는 암 세포의 집단의 증식을 억제하거나 이를 감소시키는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 본 발명은 메소텔린-발현 암 세포 집단을 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포와 접촉시키는 것을 포함하는, 메소텔린을 발현하는 암 세포의 집단의 증식을 억제하거나 이를 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 측면에서, 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포는 중피종 또는 메소텔린-발현 세포와 연관된 또 다른 암을 갖는 대상체 또는 그의 동물 모델에서 음성 대조군에 비해 세포 및/또는 암 세포의 수량, 수, 양 또는 백분율을 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 65%, 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 95%, 또는 적어도 99%만큼 감소시킨다. 한 측면에서, 대상체는 인간이다.

[0915] 본 발명은 또한 메소텔린-발현 세포와 연관된 질환 (예를 들어, 중피종)의 예방, 치료 및/또는 관리를 필요로 하는 대상체에게 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포를 투여하는 것을 포함하는, 메소텔린-발현 세포와 연관된 질환 (예를 들어, 중피종)을 예방, 치료 및/또는 관리하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 대상체는 인간이다.

[0916] 본 발명은 메소텔린-발현 세포와 연관된 암의 재발의 예방을 필요로 하는 대상체에게 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포를 투여하는 것을 포함하는, 메소텔린-발현 세포와 연관된 암의 재발을 예방하는 방법을 제공한다. 한 측면에서, 상기 방법은 메소텔린-발현 세포에 결합하는 본 발명의 메소텔린 CAR-발현 세포의 유효량을 또 다른 요법의 유효량과 조합하여 그를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0917] 조합 요법

[0918] 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 다른 공지된 작용제 및 요법과 조합되어 사용될 수 있다. 본원에 사용된 "조합되어" 투여된은, 2종 (또는 그 초과)의 상이한 치료가 대상체가 장애를 앓는 동안 대상체에게 전달됨을 의미하

고, 예를 들어 대상체가 장애로 진단된 후 및 장애가 치유 또는 제거되기 전 또는 치료가 다른 이유로 중지되기 전에 2종 이상의 치료가 전달된다. 일부 실시양태에서, 1종의 치료의 전달은 제2 전달이 개시될 때 여전히 발생하여, 투여와 관련하여 중첩된다. 이것은 때때로 본원에서 "동시" 또는 "공동 전달"로 지칭된다. 다른 실시양태에서, 1종의 치료의 전달은 다른 치료의 전달이 개시되기 전에 종료된다. 어느 하나의 경우의 일부 실시양태에서, 조합 투여로 인해 치료가 보다 효과적이다. 예를 들어, 제2 치료가 보다 효과적이고, 예를 들어 더 적은 제2 치료에 의해 동등한 효과가 관찰되거나, 또는 제1 치료의 부재 하에 제2 치료가 투여된 경우에 관찰될 것보다 더 큰 정도로 제2 치료가 증상을 감소시키거나, 또는 제1 치료에 의해 유사한 상황이 관찰된다. 일부 실시양태에서, 증상 또는 장애와 관련된 다른 파라미터의 감소가 다른 것의 부재 하에 전달된 1종의 치료에 의해 관찰될 것보다 더 크도록 전달된다. 2종의 치료의 효과는 부분적으로 부가적이거나, 전체적으로 부가적이거나, 또는 부가적인 것보다 클 수 있다. 전달된 제1 치료의 효과가 제2 치료가 전달될 때 여전히 검출가능하도록 전달이 이루어질 수 있다.

[0919] 본원에 기재된 CAR-발현 세포 및 적어도 1종의 추가의 치료제는 동시에, 동일한 조성물 내에 또는 개별 조성물 내에, 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 순차적인 투여를 위해, 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 먼저 투여될 수 있고 추가의 작용제는 두 번째로 투여될 수 있거나, 투여 순서가 역전될 수 있다.

[0920] CAR 요법 및/또는 다른 치료제, 절차 또는 양식은 장애의 활성 기간 동안, 또는 질환의 완화 또는 보다 낮은 활성 기간 동안 투여될 수 있다. CAR 요법은 장애의 다른 치료 전, 치료와 공동으로, 치료-후, 또는 완화 동안 투여될 수 있다.

[0921] 조합되어 사용되는 경우에, CAR 요법 및 추가의 작용제 (예를 들어, 제2 또는 제3 작용제), 또는 모두는 개별적으로, 예를 들어 단독요법으로서 사용되는 각각의 작용제의 양 또는 투여량보다 높거나, 낮거나, 또는 동일한 양 또는 용량으로 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, CAR 요법, 추가의 작용제 (예를 들어, 제2 또는 제3 작용제), 또는 모두의 투여되는 양 또는 투여량은 개별적으로, 예를 들어 단독요법으로서 사용되는 각각의 작용제의 양 또는 투여량보다 낮다 (예를 들어, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 또는 적어도 50%). 다른 실시양태에서, 목적하는 효과 (예를 들어, 암의 치료)를 발생시키는 CAR 요법, 추가의 작용제 (예를 들어, 제2 또는 제3 작용제), 또는 모두의 양 또는 투여량은 동일한 치료 효과를 달성하기 위해 요구되는 개별적으로 예를 들어 단독요법으로서 사용되는 각각의 작용제의 양 또는 투여량보다 낮다 (예를 들어, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 또는 적어도 50% 낮다).

[0922] 추가 측면에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 치료 요법에서 수술, 시토카인, 방사선, 또는 화학요법, 예컨대 시톡산, 플루다라빈, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 탈메틸화제, 또는 펩티드 백신, 예컨대 문헌 [Izumoto et al. 2008 J Neurosurg 108:963-971]에 기재된 것과 조합되어 사용될 수 있다.

[0923] 특정 경우에, 본 발명의 화합물은 다른 치료제, 예컨대 다른 항암제, 항알레르기제, 항오심제 (또는 항구토제), 통증 완화제, 세포보호제 및 그의 조합과 조합된다.

[0924] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 화학요법제와 조합되어 사용될 수 있다. 예시적인 화학요법제는 안트라시클린 (예를 들어, 독소루비신 (예를 들어, 리포솜 독소루비신)), 빈카 알칼로이드 (예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 비노렐빈), 알킬화제 (예를 들어, 시클로포스파미드, 데카르바진, 멜팔란, 이포스파미드, 테모졸로미드), 면역 세포 항체 (예를 들어, 알렘투주맙, 겜투주맙, 리툭시맙, 오파투무맙, 토시투모맙, 브렌툭시맙), 항대사물 (예를 들어, 폴산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제 (예를 들어, 플루다라빈) 포함), mTOR 억제제, TNFR 글루코코르티코이드 유도된 TNFR 관련 단백질 (GITR) 효능제, 프로테아솜 억제제 (예를 들어, 아클라시노마이신 A, 글리오톡신 또는 보르테조밉); 면역조정제, 예컨대 탈리도미드 또는 탈리도미드 유도체 (예를 들어, 레날리도미드)를 포함한다.

[0925] 조합 요법에 사용하기 위해 고려되는 일반적 화학요법제는 아나스트로졸 (아리미덱스(Arimidex)®), 비칼루타미드 (카소덱스(Casodex)®), 블레오마이신 술페이트 (블레녹산(Blenoxane)®), 부술판 (밀레란®), 부술판 주사 (부술펙스®), 카페시타빈 (젤로다(Xeloda)®), N4-펜톡시카르보닐-5-데옥시-5-플루오로시티딘, 카르보플라틴 (파라플라틴(Paraplatin)®), 카르무스틴 (BiCNU®), 클로람부실 (류케란(Leukeran)®), 시스플라틴 (플라티놀(Platinol)®), 클라드리빈 (류스타틴(Leustatin)®), 시클로포스파미드 (시톡산® 또는 네오사르®), 시타라빈, 시토신 아라비노시드 (시토사르-U®), 시타라빈 리포솜 주사 (데포사이트®), 다카르바진 (DTIC-돔®), 닥티노마이신 (악티노마이신 D(Actinomycin D), 코스메간(Cosmegan)), 다우노루비신 히드로클로라이드 (세루비딘(Cerubidine)®), 다우노루비신 시트레이트 리포솜 주사 (다우녹솜®), 덱사메타손, 도세탁셀 (탁소테레(Taxotere)®), 독소루비신 히드로클로라이드 (아드리아마이신(Adriamycin)®, 루벡스(Rubex)®), 에토포시드

(베페시드(Vepesid)®), 플루다라빈 포스페이트 (플루다라(Fludara)®), 5-플루오로우라실 (아드루실(Adrucil)®, 에푸덱스(Efudex)®), 플루타미드 (유렉신(Eulexin)®), 테자시티빈, 겜시타빈 (디플루오로데옥시시티딘), 히드록시우레아 (히드레아(Hydrea)®), 이다루비신 (이다마이신(Idamycin)®), 이포스파미드 (이펙스(IFEX)®), 이리노테칸 (캄프토사르(Camptosar)®), L-아스파라기나제 (엘스파르(ELSPAR)®), 류코보린 칼슘, 멜팔란 (알케란(Alkeran)®), 6-메르캅토퓨린 (퓨린톨(Purinethol)®), 메토트렉세이트 (폴렉스(Folex)®), 미톡산트론 (노반트론(Novantrone)®), 밀로타르그, 파클리탁셀 (탁솔(Taxol)®), 포에닉스(phoenix) (이트륨90/MX-DTPA), 펜토스타틴, 카르무스틴 이식물을 갖는 폴리페프로산 20 (글리아델(Gliadel)®), 타목시펜 시트레이트 (놀바덱스(Nolvadex)®), 테니포시드 (부몬(Vumon)®), 6-티오구아닌, 티오테파, 티라파자민 (티라존(Tirazone)®), 주사용 토포테칸 히드로클로라이드 (하이캄틴(Hycamptin)®), 빈블라스틴 (벨반(Velban)®), 빈크리스틴 (온코빈(Oncovin)®), 및 비노렐빈 (나벨빈(Navelbine)®)을 포함한다.

[0926] 본 발명의 화합물과의 조합을 위한 특정한 관심 항암제는 안트라시클린; 알킬화제; 항대사물; 칼슘 의존성 포스파타제 칼시뉴린 또는 p70S6 키나제 FK506를 억제하거나, p70S6 키나제를 억제하는 약물; mTOR 억제제; 면역조정제; 안트라시클린; 빈카 알칼로이드; 프로테오솜 억제제; GITR 효능제; 단백질 티로신 포스파타제 억제제; CDK4 키나제 억제제; BTK 억제제; MKN 키나제 억제제; DGK 키나제 억제제; 또는 종양용해 바이러스를 포함한다.

[0927] 예시적인 항대사물은, 비제한적으로, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제, 메토트렉세이트 (류마트렉스(Rheumatrex)®, 트렉살(Trexall)®), 5-플루오로우라실 (아드루실(Adrucil)®, 에푸덱스(Efudex)®, 플루오로플렉스(Fluoroplex)®), 플록수리딘 (FUDF®), 시타라빈 (시토사르-U®, 타라빈 PFS), 6-메르캅토퓨린 (퓨리-네톨(Puri-Nethol)®)), 6-티오구아닌 (티오구아닌 타블로이드(Thioguanine Tabloid)®), 플루다라빈 포스페이트 (플루다라(Fludara)®), 펜토스타틴 (니펜트(Nipent)®), 페메트렉세드 (알림타(Alimta)®), 랄티트렉세드 (토무덱스(Tomudex)®), 클라드리빈 (류스타틴(Leustatin)®), 클로파라빈 (클로파렉스(Clofarex)®, 클로라르(Clolar)®), 아자시티딘 (비다자(Vidaza)®), 데시타빈 및 겜시타빈 (겜자르(Gemzar)®)을 포함한다. 바람직한 항대사물은 시타라빈, 클로파라빈 및 플루다라빈을 포함한다.

[0928] 예시적인 알킬화제는 비제한적으로 질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로소우레아 및 트리아젠): 우라실 머스타드 (아미노우라실 머스타드(Aminouracil Mustard)®, 클로레타미나실(Chlorethaminacil)®, 데메틸도판(Demethyldopan)®, 데스메틸도판(Desmethyldopan)®, 해만타민(Haemanthamine)®, 노르도판(Nordopan)®, 우라실 질소 머스타드(Uracil nitrogen mustard)®, 우라실로스트(Uracillost)®, 우라실모스타자(Uracilmostaza)®, 우라무스틴(Uramustin)®, 우라무스틴(Uramustine)®), 클로르메틴 (머스타르겐(Mustargen)®), 시클로포스파미드 (시톡산®, 네오사르(Neosar)®, 클라펜(Clafen)®, 엔독산(Endoxan)®, 프로시톡스(Procytox)®, 레비뮨(Revimmune)™), 이포스파미드 (미톡사나(Mitoxana)®), 멜팔란 (알케란®), 클로람부실 (류케란®), 피포브로만 (아메델(Amedel)®, 베르사이트(Vercyte)®), 트리에틸렌멜라민 (헤멜(Hemel)®, 헥살렌(Hexalen)®, 헥사스타트(Hexastat)®), 트리에틸렌티오포스포르아민, 테모졸로미드 (테모다르(Temodar)®), 티오테파 (티오플렉스(Thioplex)®), 부술판 (부실벡스(Busilvex)®, 밀레란®), 카르무스틴 (BiCNU®), 로무스틴 (세뉴(CeeNU)®), 스트렙토조신 (자노사르(Zanosar)®), 및 다카르바진 (DTIC-돔®)을 포함한다. 추가의 예시적인 알킬화제는 비제한적으로 옥살리플라틴 (엘록사틴(Eloxatin)®); 테모졸로미드 (테모다르® 및 테모달®); 닥티노마이신 (악티노마이신-D, 코스메겐(Cosmegen)®으로도 공지됨); 멜팔란 (L-PAM, L-사르코리신, 및 페닐알라닌 머스타드, 알케란®으로도 공지됨); 알트레타민 (헥사메틸멜라민 (HMM), 헥살렌®으로도 공지됨); 카르무스틴 (BiCNU®); 벤다무스틴 (트레안다(Treanda)®); 부술판 (부술펙스® 및 밀레란®); 카르보플라틴 (파라플라틴®); 로무스틴 (CCNU, 세뉴®로도 공지됨); 시스플라틴 (CDDP, 플라티놀® 및 플라티놀®-AQ로도 공지됨); 클로람부실 (류케란®); 시클로포스파미드 (시톡산® 및 네오사르®); 다카르바진 (DTIC, DIC 및 이미다졸 카르복스아미드, DTIC-돔®으로도 공지됨); 알트레타민 (헥사메틸멜라민 (HMM), 헥살렌®으로도 공지됨); 이포스파미드 (이펙스®); 프레드누무스틴; 프로카르바진 (마툴란(Matulane)®); 메클로레타민 (질소 머스타드, 무스틴 및 메클로로에타민 히드로클로라이드, 머스타르겐®으로도 공지됨); 스트렙토조신 (자노사르®); 티오테파 (티오포스포아미드, TESPA 및 TSPA, 티오플렉스®로도 공지됨); 시클로포스파미드 (엔독산®, 시톡산®, 네오사르®, 프로시톡스®, 레비뮨®); 및 벤다무스틴 HCl (트레안다®)을 포함한다.

[0929] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 플루다라빈, 시클로포스파미드 및/또는 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 플루다라빈, 시클로포스파미드, 및 리툭시맙 (FCR)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 예를 들어, 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실 (del(17p), 예를 들어 백혈병성 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이

를 포함하는 백혈병성 세포를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함하지 않는다. 실시양태에서, 플루다라빈은 약 10-50 mg/m^2 (예를 들어, 약 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45, 또는 45-50 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 시클로포스파미드는 약 200-300 mg/m^2 (예를 들어, 약 200-225, 225-250, 250-275, 또는 275-300 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 리툭시맙은 약 400-600 mg/m^2 (예를 들어, 400-450, 450-500, 500-550, 또는 550-600 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다.

[0930] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 벤다무스틴 및 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 예를 들어, 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실 (del(17p), 예를 들어 백혈병성 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함하지 않는다. 실시양태에서, 벤다무스틴은 약 70-110 mg/m^2 (예를 들어, 70-80, 80-90, 90-100, 또는 100-110 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 리툭시맙은 약 400-600 mg/m^2 (예를 들어, 400-450, 450-500, 500-550, 또는 550-600 mg/m^2) 의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다.

[0931] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맙, 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및/또는 코르티코스테로이드 (예를 들어, 프레드니손)와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맙, 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니손 (R-CHOP)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL)을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 비벌키 제한-병기 DLBCL을 갖는다 (예를 들어, 7 cm 미만의 크기/직경을 갖는 종양을 포함함). 실시양태에서, 대상체는 방사선으로 R-CHOP과 조합되어 치료된다. 예를 들어, 대상체에게 R-CHOP (예를 들어 1-6사이클, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6사이클의 R-CHOP)이 투여된 다음, 방사선이 투여된다. 일부 경우에, 대상체에게 방사선 후에 R-CHOP (예를 들어 1-6사이클, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6사이클의 R-CHOP)이 투여된다.

[0932] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 에토포시드, 프레드니손, 빈크리스틴, 시클로포스파미드, 독소루비신 및/또는 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 에토포시드, 프레드니손, 빈크리스틴, 시클로포스파미드, 독소루비신 및 리툭시맙 (EPOCH-R)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 용량-조정된 EPOCH-R (DA-EPOCH-R)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 B 세포 림프종, 예를 들어 Myc-재배열 공격성 B 세포 림프종을 갖는다.

[0933] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맙 및/또는 레날리도미드와 조합되어 대상체에게 투여된다. 레날리도미드 ((RS)-3-(4-아미노-1-옥소 1,3-디히드로-2H-이소인돌-2-일)피페리딘-2,6-디온)는 면역조정제이다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맙 및 레날리도미드와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 여포성 림프종 (FL) 또는 외투 세포 림프종 (MCL)을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 FL을 갖고, 이전에 암 요법으로 치료받은 바 없다. 실시양태에서, 레날리도미드는 약 10-20 mg (예를 들어, 10-15 또는 15-20 mg)의 투여량으로, 예를 들어 매일 투여된다. 실시양태에서, 리툭시맙은 약 350-550 mg/m^2 (예를 들어, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475, 또는 475-500 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다.

[0934] 예시적인 mTOR 억제제는, 예를 들어 템시롤리무스; 리다포롤리무스 (공식적으로 데포롤리무스로서 공지됨, (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2 [(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-디히드록시-19,30-디메톡시-15,17,21,23,29,35-헥사메틸-2,3,10,14,20-펜타옥소-11,36-디옥사-4-아자트리시클로[30.3.1.$0^{4,9}$]헥사트리아콘타-16,24,26,28-테트라엔-12-일]프로필]-2-메톡시시클로헥실 디메틸포스피네이트, 또한 AP23573 및 MK8669로도 공지되고 PCT 공개 번호 WO 03/064383에 기재됨); 에베롤리무스 (아피니토르(Afinitor)® 또는 RAD001); 라파마이신 (AY22989, 시롤리무스(Sirolimus)®); 시마피모드 (CAS 164301-51-3); 엠시롤리무스, (5-

{2,4-비스[(3S)-3-메틸모르폴린-4-일]피리도[2,3-d]피리미딘-7-일}-2-메톡시페닐)메탄올 (AZD8055); 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-히드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온 (PF04691502, CAS 1013101-36-4); 및 N^2-[1,4-디옥소-4-[[4-(4-옥소-8-페닐-4H-1-벤조피란-2-일)모르폴리늄-4-일]메톡시]부틸]-L-아르기닐글리실-L-α-아스파르틸L-세린-(서열식별번호: 64), 내부 염 (SF1126, CAS 936487-67-1) 및 XL765를 포함한다.

[0935] 예시적인 면역조정제는 예를 들어 아푸투주맙 (로슈(Roche)®로부터 이용가능함); 페그필그라스팀 (뉴라스타(Neulasta)®); 레날리도미드 (CC-5013, 레블리미드(Revlimid)®); 탈리도미드 (탈로미드(Thalomid)®), 악티미드 (CC4047); 및 IRX-2 (인터류킨 1, 인터류킨 2, 및 인터페론 γ를 포함한 인간 시토카인의 혼합물, CAS 951209-71-5, IRX 테라퓨틱스(IRX Therapeutics)로부터 이용가능함)을 포함한다.

[0936] 예시적인 안트라시클린은 예를 들어 독소루비신 (아드리아마이신® 및 루벡스®); 블레오마이신 (블레녹산®); 다우노루비신 (다우노루비신 히드로클로라이드, 다우노마이신, 및 루비도마이신 히드로클로라이드, 세루비딘®); 다우노루비신 리포솜 (다우노루비신 시트레이트 리포솜, 다우녹솜®); 미톡산트론 (DHAD, 노반트론®); 에피루비신 (엘렌스(Ellence)™); 이다루비신 (이다마이신®, 이다마이신 PFS®); 미토마이신 C (뮤타마이신(Mutamycin)®); 겔다나마이신; 헤르비마이신; 라비도마이신; 및 데스아세틸라비도마이신을 포함한다.

[0937] 예시적인 빈카 알칼로이드는 예를 들어 비노렐빈 타르트레이트 (나벨빈®), 빈크리스틴 (온코빈®), 및 빈데신 (엘디신(Eldisine)®)); 빈블라스틴 (빈블라스틴 술페이트, 빈카류코블라스틴 및 VLB, 알카반(Alkaban)-AQ® 및 벨반®으로도 공지됨); 및 비노렐빈 (나벨빈®)을 포함한다.

[0938] 예시적인 프로테오솜 억제제는 보르테조밉 (벨케이드(Velcade)®); 카르필조밉 (PX-171-007, (S)-4-메틸-N-((S)-1-(((S)-4-메틸-1-((R)-2-메틸옥시란-2-일)-1-옥소펜탄-2-일)아미노)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)-2-((S)-2-(2-모르폴리노아세트아미도)-4-페닐부탄아미도)-펜탄아미드); 마리조밉 (NPI-0052); 익사조밉 시트레이트 (MLN-9708); 델란조밉 (CEP-18770); 및 O-메틸-N-[(2-메틸-5-티아졸릴)카르보닐]-L-세릴-O-메틸-N-[(1S)-2-[(2R)-2-메틸-2-옥시라닐]-2-옥소-1-(페닐메틸)에틸]-L-세린아미드 (ONX-0912)를 포함한다.

[0939] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 브렌툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 브렌툭시맙은 항-CD30 항체 및 모노메틸 아우리스타틴 E의 항체-약물 접합체이다. 실시양태에서, 대상체는 호지킨 림프종 (HL), 예를 들어 재발성 또는 불응성 HL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 CD30+ HL을 포함한다. 실시양태에서, 대상체는 자가 줄기 세포 이식 (ASCT)을 겪은 바 있다. 실시양태에서, 대상체는 ASCT를 겪은 바 없다. 실시양태에서, 브렌툭시맙은 약 1-3 mg/kg (예를 들어, 약 1-1.5, 1.5-2, 2-2.5, 또는 2.5-3 mg/kg)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로, 예를 들어 3주마다 투여된다.

[0940] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 브렌툭시맙 및 다카르바진과 조합되어 또는 브렌툭시맙 및 벤다무스틴과 조합되어 대상체에게 투여된다. 다카르바진은 5-(3,3-디메틸-1-트리아제닐)이미다졸-4-카르복스아미드의 화학 명칭을 갖는 알킬화제이다. 벤다무스틴은 4-[5-[비스(2-클로로에틸)아미노]-1-메틸벤즈이미다졸-2-일]부탄산의 화학 명칭을 갖는 알킬화제이다. 실시양태에서, 대상체는 호지킨 림프종 (HL)을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 이전에 암 요법으로 치료받은 바 없다. 실시양태에서, 대상체는 적어도 60세, 예를 들어 60, 65, 70, 75, 80, 85세 또는 그 초과이다. 실시양태에서, 다카르바진은 약 300-450 mg/m^2 (예를 들어, 약 300-325, 325-350, 350-375, 375-400, 400-425, 또는 425-450 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 벤다무스틴은 약 75-125 mg/m^2 (예를 들어 75-100 또는 100-125 mg/m^2, 예를 들어 약 90 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다. 실시양태에서, 브렌툭시맙은 약 1-3 mg/kg (예를 들어, 약 1-1.5, 1.5-2, 2-2.5, 또는 2.5-3 mg/kg)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로, 예를 들어 3주마다 투여된다.

[0941] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CD20 억제제, 예를 들어 항-CD20 항체 (예를 들어, 항-CD20 단일- 또는 이중특이적 항체) 또는 그의 단편과 조합되어 대상체에게 투여된다. 예시적인 항-CD20 항체는 리툭시맙, 오파투무맙, 오크렐리주맙, 벨투주맙, 오비누투주맙, TRU-015 (트루비온 파마슈티칼스(Trubion Pharmaceuticals)), 오카라투주맙, 및 프로131921 (제넨테크(Genentech))을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 문헌 [Lim et al. Haematologica. 95.1(2010):135-43]을 참조한다.

[0942] 일부 실시양태에서, 항-CD20 항체는 리툭시맙을 포함한다. 리툭시맙은 예를 들어 www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/103705s5311lbl.pdf에 기재된 바와 같은, CD20에 결합하고 CD20 과다발현 세포의 세포용해를 유발하는 키메라 마우스/인간 모노클로날 항체 IgG1 카파이다. 실시양태

에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 CLL 또는 SLL을 갖는다.

[0943] 일부 실시양태에서, 리툭시맙은 정맥내로, 예를 들어 정맥내 주입으로서 투여된다. 예를 들어, 각각의 주입은 약 500-2000 mg (예를 들어, 약 500-550, 550-600, 600-650, 650-700, 700-750, 750-800, 800-850, 850-900, 900-950, 950-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400, 1400-1500, 1500-1600, 1600-1700, 1700-1800, 1800-1900, 또는 1900-2000 mg)의 리툭시맙을 제공한다. 일부 실시양태에서, 리툭시맙은 150 mg/m^2 내지 750 mg/m^2, 예를 들어 약 150-175 mg/m^2, 175-200 mg/m^2, 200-225 mg/m^2, 225-250 mg/m^2, 250-300 mg/m^2, 300-325 mg/m^2, 325-350 mg/m^2, 350-375 mg/m^2, 375-400 mg/m^2, 400-425 mg/m^2, 425-450 mg/m^2, 450-475 mg/m^2, 475-500 mg/m^2, 500-525 mg/m^2, 525-550 mg/m^2, 550-575 mg/m^2, 575-600 mg/m^2, 600-625 mg/m^2, 625-650 mg/m^2, 650-675 mg/m^2, 또는 675-700 mg/m^2의 용량으로 투여되며, 여기서 m^2는 대상체의 체표면적을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 리툭시맙은 적어도 4일, 예를 들어 4, 7, 14, 21, 28, 35일, 또는 그 초과의 투여 간격으로 투여된다. 예를 들어, 리툭시맙은 적어도 0.5주, 예를 들어 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 또는 그 초과의 투여 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 리툭시맙은, 예를 들어 적어도 2주, 예를 들어 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20주 또는 그 초과의 일정 기간 동안 본원에 기재된 용량 및 투여 간격으로 투여된다. 예를 들어, 리툭시맙은 치료 사이클당 총 적어도 4용량 (예를 들어, 치료 사이클당 적어도 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 또는 그 초과의 용량) 동안 본원에 기재된 용량 및 투여 간격으로 투여된다.

[0944] 일부 실시양태에서, 항-CD20 항체는 오파투무맙을 포함한다. 오파투무맙은 대략 149 kDa의 분자량을 갖는 항-CD20 IgG1κ 인간 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 오파투무맙은 트랜스제닉 마우스 및 하이브리도마 기술을 사용하여 생성되고, 재조합 뮤린 세포주 (NSO)로부터 발현 및 정제된다. 예를 들어, www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125326lbl.pdf; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT01363128, NCT01515176, NCT01626352, 및 NCT01397591을 참조한다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 오파투무맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 CLL 또는 SLL을 갖는다.

[0945] 일부 실시양태에서, 오파투무맙은 정맥내 주입으로 투여된다. 예를 들어, 각각의 주입은 약 150-3000 mg (예를 들어, 약 150-200, 200-250, 250-300, 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550, 550-600, 600-650, 650-700, 700-750, 750-800, 800-850, 850-900, 900-950, 950-1000, 1000-1200, 1200-1400, 1400-1600, 1600-1800, 1800-2000, 2000-2200, 2200-2400, 2400-2600, 2600-2800, 또는 2800-3000 mg)의 오파투무맙을 제공한다. 실시양태에서, 오파투무맙은, 예를 들어 약 11 용량 동안, 예를 들어 24주 동안 약 300 mg의 출발 투여량에 이어서 2000 mg으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 오파투무맙은 적어도 4일, 예를 들어 4, 7, 14, 21, 28, 35일 또는 그 초과의 투여 간격으로 투여된다. 예를 들어, 오파투무맙은 적어도 1주, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 26, 28, 20, 22, 24, 26, 28, 30주 또는 그 초과의 투여 간격으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 오파투무맙은 일정 기간, 예를 들어 적어도 1주, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 40, 50, 60주 또는 그 초과, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 또는 그 초과, 또는 1, 2, 3, 4, 5년 또는 그 초과 동안 본원에 기재된 용량 및 투여 간격으로 투여된다. 예를 들어, 오파투무맙은 치료 사이클당 총 적어도 2 용량 (예를 들어, 치료 사이클당 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20 또는 그 초과의 용량) 동안 본원에 기재된 용량 및 투여 간격으로 투여된다.

[0946] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 오크렐리주맙을 포함한다. 오크렐리주맙은, 예를 들어 임상 시험 식별자 번호 NCT00077870, NCT01412333, NCT00779220, NCT00673920, NCT01194570, 및 문헌 [Kappos et al. Lancet. 19.378(2011):1779-87]에 기재된 바와 같은 인간화 항-CD20 모노클로날 항체이다.

[0947] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 벨투주맙을 포함한다. 벨투주맙은 CD20에 대한 인간화 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT00547066, NCT00546793, NCT01101581, 및 문헌 [Goldenberg et al. Leuk Lymphoma. 51(5)(2010):747-55]을 참조한다.

[0948] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 GA101을 포함한다. GA101 (오비누투주맙 또는 RO5072759로도 불림)은 인간화 및 글리코-조작된 항-CD20 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Robak. Curr. Opin. Investig. Drugs. 10.6(2009):588-96]; 임상 시험 식별자 번호: NCT01995669, NCT01889797, NCT02229422, 및 NCT01414205; 및

www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/125486s000lbl.pdf를 참조한다.

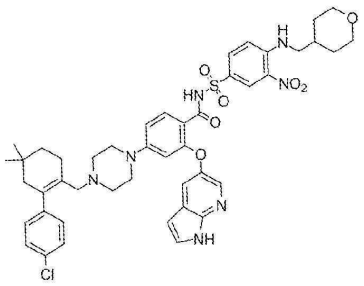
[0949] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 AME-133v를 포함한다. AME-133v (LY2469298 또는 오카라투주맙으로도 불림)는 리툭시맙과 비교하여 FcγRIIIa 수용체에 대해 증가된 친화도 및 증진된 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 활성을 갖는 CD20에 대한 인간화 IgG1 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25; 및 Forero-Torres et al. Clin Cancer Res. 18.5(2012):1395-403]을 참조한다.

[0950] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 PRO131921을 포함한다. PRO131921은 리툭시맙과 비교하여 FcγRIIIa에 대한 보다 나은 결합 및 증진된 ADCC를 갖도록 조작된 인간화 항-CD20 모노클로날 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25; 및 Casulo et al. Clin Immunol. 154.1(2014):37-46]; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT00452127을 참조한다.

[0951] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 TRU-015를 포함한다. TRU-015는 CD20에 대한 항체의 도메인으로부터 유래된 항-CD20 융합 단백질이다. TRU-015는 모노클로날 항체보다 작지만, Fc-매개 이펙터 기능을 보유한다. 예를 들어, 문헌 [Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25]을 참조한다. TRU-015는 인간 IgG1 힌지, CH2, 및 CH3 도메인에 연결된 항-CD20 단일-쇄 가변 단편 (scFv)을 함유하지만, CH1 및 CL 도메인은 결여되어 있다.

[0952] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-CD20 항체는 치료제, 예를 들어 본원에 기재된 화학요법제 (예를 들어, 시톡산, 플루다라빈, 히스톤 데아세틸라제 억제제, 탈메틸화제, 펩티드 백신, 항종양 항생제, 티로신 키나제 억제제, 알킬화제, 항미세관제 또는 항유사분열제), 항알레르기제, 항오심제 (또는 항구토제), 통증 완화제 또는 세포보호제에 접합되거나 달리 결합된다.

[0953] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 B-세포 림프종 2 (BCL-2) 억제제 (예를 들어, 베네토클락스, ABT-199 또는 GDC-0199로도 불림) 및/또는 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 베네토클락스 및 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 베네토클락스는 항아폽토시스 단백질, BCL-2를 억제하는 소분자이다. 베네토클락스 (4-(4-{[2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸시클로헥스-1-엔-1-일]메틸}피페라진-1-일)-N-({3-니트로-4-[(테트라히드로-2H-피란-4-일메틸)아미노]페닐}술포닐)-2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)벤즈아미드)의 구조가 하기 제시된다.

[0954] 

[0955] 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 재발성 CLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다. 실시양태에서, 베네토클락스는 약 15-600 mg (예를 들어, 15-20, 20-50, 50-75, 75-100, 100-200, 200-300, 300-400, 400-500, 또는 500-600 mg)의 투여량으로, 예를 들어 매일 투여된다. 실시양태에서, 리툭시맙은 약 350-550 mg/m^2 (예를 들어, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475, 또는 475-500 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로, 예를 들어 매월 투여된다.

[0956] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 종양용해 바이러스와 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 종양용해 바이러스는 암 세포 내에서 선택적으로 복제될 수 있고, 그의 사멸을 촉발하거나 성장을 늦출 수 있다. 일부 경우에, 종양용해 바이러스는 비-암 세포에 대해서는 전혀 효과를 갖지 않거나 최소 효과를 갖는다. 종양용해 바이러스는 종양용해 아데노바이러스, 종양용해 단순 포진 바이러스, 종양용해 레트로바이러스, 종양용해 파르보바이러스, 종양용해 백시니아 바이러스, 종양용해 신드비스 바이러스, 종양용해 인플루엔자 바이러스 또는 종양용해 RNA 바이러스 (예를 들어, 종양용해 레오바이러스, 종양용해 뉴캐슬병 바이러스 (NDV), 종양용해 홍역 바이러스 또는 종양용해 수포성 구내염 바이러스 (VSV))를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0957] 일부 실시양태에서, 종양용해 바이러스는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 US2010/0178684 A1에 기재된 바이러스, 예를 들어 재조합 종양용해 바이러스이다. 일부 실시양태에서, 재조합 종양용해 바이러스는, 예를 들어 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 US2010/0178684 A1에 기재된 바와 같은, 면역 또는 염증 반응의 억제제를 코

딩하는 핵산 서열 (예를 들어, 이종 핵산 서열)을 포함한다. 실시양태에서, 재조합 종양용해 바이러스, 예를 들어 종양용해 NDV는 아폽토시스촉진 단백질 (예를 들어, 아폽틴), 시토카인 (예를 들어, GM-CSF, 인터페론-감마, 인터류킨-2 (IL-2), 종양 괴사 인자-알파), 이뮤노글로불린 (예를 들어, ED-B 피브로넥틴에 대한 항체), 종양 연관 항원, 이중특이적 어댑터 단백질 (예를 들어, NDV HN 단백질 및 T 세포 공동-자극 수용체, 예컨대 CD3 또는 CD28에 대해 지시된 이중특이적 항체 또는 항체 단편; 또는 NDV HN 단백질에 대해 지시된 인간 IL-2와 단일 쇄 항체 사이의 융합 단백질)을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Zamarin et al. Future Microbiol. 7.3(2012):347-67]을 참조하고, 그의 전문은 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, 종양용해 바이러스는 US 8591881 B2, US 2012/0122185 A1, 또는 US 2014/0271677 A1에 기재된 키메라 종양용해 NDV이고, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0958] 일부 실시양태에서, 종양용해 바이러스는 암 세포에서만 독점적으로 복제하도록 설계된 조건부 복제 아데노바이러스 (CRAd)를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Alemany et al. Nature Biotechnol. 18(2000):723-27]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 종양용해 아데노바이러스는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 문헌 [Alemany et al.]의 페이지 725의 표 1에 기재된 것을 포함한다.

[0959] 예시적인 종양용해 바이러스는 하기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:

[0960] 군 B 종양용해 아데노바이러스 (ColoAd1) (사이옥수스 테라퓨틱스 리미티드(PsiOxus Therapeutics Ltd.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02053220 참조);

[0961] ONCOS-102 (이전에 CGTG-102로 불림), 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자 (GM-CSF)를 포함하는 아데노바이러스임 (온코스 테라퓨틱스(Oncos Therapeutics)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01598129 참조);

[0962] VCN-01, 인간 PH20 히알루로니다제를 코딩하는 유전자 변형된 종양용해 인간 아데노바이러스 (브이씨엔 바이오사이언시스, 에스.엘.(VCN Biosciences, S.L.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02045602 및 NCT02045589 참조);

[0963] 조건부 복제 아데노바이러스 ICOVIR-5, 탈조절된 망막모세포종/E2F 경로를 갖는 암 세포에서 선택적으로 복제하도록 변형된 야생형 인간 아데노바이러스 혈청형 5 (Had5)로부터 유래된 바이러스임 (인스티튜트 카탈라 드옹콜로지아(Institut Catala d'Oncologia)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01864759 참조);

[0964] 셀리비르(Celyvir), ICOVIR5, 종양용해 아데노바이러스로 감염된 골수-유래 자가 중간엽 줄기 세포 (MSC)를 포함함 (호스피탈 인판틸 유니베르시타리오 니노 예수스(Hospital Infantil Universitario Nino Jesus), 스페인 마드리드/ 라몬 알레마니(Ramon Alemany) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01844661 참조);

[0965] CG0070, 인간 E2F-1 프로모터가 본질적 E1a 바이러스 유전자의 발현을 구동하여 바이러스 복제 및 세포독성을 Rb 경로-결손 종양 세포로 제한한 조건부 복제 종양용해 혈청형 5 아데노바이러스 (Ad5)임 (콜드 제네시스, 인크.(Cold Genesys, Inc.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02143804 참조); 또는

[0966] DNX-2401 (이전에 델타-24-RGD로 명명됨), 망막모세포종 (Rb)-경로 결손 세포에서 선택적으로 복제되고 특정 RGD-결합 인테그린을 보다 효율적으로 발현하는 세포를 감염시키도록 조작된 아데노바이러스임 (클리니카 유니베르시다드 드 나바라(Clinica Universidad de Navarra), 나바라 대학교/ 디엔에이트릭스, 인크.(DNAtrix, Inc.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01956734 참조).

[0967] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 종양용해 바이러스는 주사, 예를 들어 피하, 동맥내, 정맥내, 근육내, 척수강내, 또는 복강내 주사에 의해 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 종양용해 바이러스는 종양내로, 경피로, 경점막으로, 경구로, 비강내로, 또는 폐 투여를 통해 투여된다.

[0968] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 Treg 세포 집단을 감소시키는 분자와 조합되어 대상체에게 투여된다. Treg 세포의 수를 감소시키는 (예를 들어, 고갈시키는) 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 CD25 고갈, 시클로포스파미드 투여, GITR 기능 조정을 포함한다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 분리반출술 전 또는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 전에 대상체에서 Treg 세포의 수를 감소시키는 것은 종양 미세환경에서 원치않는 면역 세포 (예를 들어, Treg)의 수를 감소시키고 대상체의 재발 위험을 감소시키는 것으로 여겨진다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 GITR 표적화하고/거나 GITR 기능을 조정하는 분자, 예컨대 조절 T 세포 (Treg)를 고갈시키는 GITR 효능제 및/또는 GITR 항체와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 시클로포스파미드와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, GITR 결합 분자 및/또는 GITR 기능을 조절하는 분자 (예를 들어, GITR 효능

제 및/또는 Treg 고갈 GITR 항체)는 CAR-발현 세포의 투여 전에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, GITR 효능제는 세포의 분리반출술 전에 투여될 수 있다. 실시양태에서, 시클로포스파미드는 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입 또는 재-주입) 전 또는 세포의 분리반출술 전에 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 시클로포스파미드 및 항-GITR 항체는 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입 또는 재-주입) 전 또는 세포의 분리반출술 전에 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 대상체는 암 (예를 들어, 고형 암 또는 혈액암, 예컨대 ALL 또는 CLL)을 갖는다. 한 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 ALL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 고형 암, 예를 들어 본원에 기재된 고형 암을 갖는다. 예시적인 GITR 효능제는, 예를 들어 GITR 융합 단백질 및 항-GITR 항체 (예를 들어, 2가 항-GITR 항체), 예컨대 예를 들어, 미국 특허 번호 6,111,090, 유럽 특허 번호 090505B1, 미국 특허 번호 8,586,023, PCT 공개 번호 WO 2010/003118 및 2011/090754에 기재된 GITR 융합 단백질, 또는 예를 들어 미국 특허 번호 7,025,962, 유럽 특허 번호 1947183B1, 미국 특허 번호 7,812,135, 미국 특허 번호 8,388,967, 미국 특허 번호 8,591,886, 유럽 특허 번호 EP 1866339, PCT 공개 번호 WO 2011/028683, PCT 공개 번호 WO 2013/039954, PCT 공개 번호 WO2005/007190, PCT 공개 번호 WO 2007/133822, PCT 공개 번호 WO2005/055808, PCT 공개 번호 WO 99/40196, PCT 공개 번호 WO 2001/03720, PCT 공개 번호 WO99/20758, PCT 공개 번호 WO2006/083289, PCT 공개 번호 WO 2005/115451, 미국 특허 번호 7,618,632, 및 PCT 공개 번호 WO 2011/051726에 기재된 항-GITR 항체를 포함한다.

[0969] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 GITR 효능제, 예를 들어 본원에 기재된 GITR 효능제와 조합되어 대상체에 투여된다. 한 실시양태에서, GITR 효능제는 CAR-발현 세포 전에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, GITR 효능제는 세포의 분리반출술 전에 투여될 수 있다.

[0970] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 mTOR 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 mTOR 억제제, 예를 들어 라파로그, 예컨대 에베롤리무스와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 CAR-발현 세포 전에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 세포의 분리반출술 전에 투여될 수 있다.

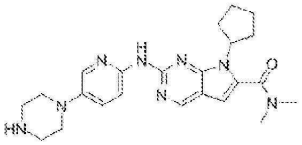
[0971] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 발현 세포는 단백질 티로신 포스파타제 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 단백질 티로신 포스파타제 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 단백질 티로신 포스파타제 억제제는 SHP-1 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 SHP-1 억제제, 예컨대 예를 들어 소듐 스티보글루코네이트이다. 한 실시양태에서, 단백질 티로신 포스파타제 억제제는 SHP-2 억제제이다.

[0972] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 키나제 억제제와 조합되어 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 CDK4 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 CDK4 억제제, 예를 들어 CD4/6 억제제, 예컨대 예를 들어, 6-아세틸-8-시클로펜틸-5-메틸-2-(5-피페라진-1-일-피리딘-2-일아미노)-8H-피리도[2,3-d]피리미딘-7-온, 히드로클로라이드 (팔보시클립 또는 PD0332991로도 지칭됨)이다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 BTK 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 BTK 억제제, 예컨대 예를 들어, 이브루티닙이다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 mTOR 억제제, 예컨대 예를 들어, 라파마이신, 라파마이신 유사체, OSI-027이다. mTOR 억제제는, 예를 들어 mTORC1 억제제 및/또는 mTORC2 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 mTORC1 억제제 및/또는 mTORC2 억제제일 수 있다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 MNK 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 MNK 억제제, 예컨대 예를 들어, 4-아미노-5-(4-플루오로아닐리노)-피라졸로[3,4-d] 피리미딘이다. MNK 억제제는, 예를 들어 MNK1a, MNK1b, MNK2a 및/또는 MNK2b 억제제일 수 있다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 DGK 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 DGK 억제제, 예컨대 예를 들어, DGKinh1 (D5919) 또는 DGKinh2 (D5794)이다.

[0973] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 알로이신 A; 플라보피리돌 또는 HMR-1275, 2-(2-클로로페닐)-5,7-디히드록시-8-[(3S,4R)-3-히드록시-1-메틸-4-피페리디닐]-4-크로메논; 크리조티닙 (PF-02341066); 2-(2-클로로페닐)-5,7-디히드록시-8-[(2R,3S)-2-(히드록시메틸)-1-메틸-3-피롤리디닐]-4H-1-벤조피란-4-온, 히드로클로라이드 (P276-00); 1-메틸-5-[[2-[5-(트리플루오로메틸)-1H-이미다졸-2-일]-4-피리디닐]옥시]-N-[4-(트리플루오로메틸)페닐]-1H-벤즈이미다졸-2-아민 (RAF265); 인디술람 (E7070); 로스코비틴 (CYC202); 팔보시클립 (PD0332991); 디나시클립 (SCH727965); N-[5-[[(5-tert-부틸옥사졸-2-일)메틸]티오]티아졸-2-일]피페리딘-4-카르복스아미드 (BMS 387032); 4-[[9-클로로-7-(2,6-디플루오로페닐)-5H-피리미도[5,4-d][2]벤즈아제핀-2-일]아미노]-벤조산 (MLN8054); 5-[3-(4,6-디플루오로-1H-벤즈이미다졸-2-일)-1H-인다졸-5-일]-N-에틸-4-메틸-3-피리딘메탄아민 (AG-024322); 4-(2,6-디클로로벤조일아미노)-1H-피라졸-3-카르복실산 N-(피페리딘-4-일)아미드 (AT7519); 4-[2-메틸-1-(1-메틸에틸)-1H-이미다졸-5-일]-N-[4-(메틸술포닐)페닐]-2-피리미딘아민 (AZD5438); 및 XL281 (BMS908662)로부터 선택된 CDK4 억제제이다.

[0974] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 CDK4 억제제, 예를 들어 팔보시클립 (PD0332991)이고, 팔보시클립은 일정 기간 동안 매일, 예를 들어 28일 사이클의 14-21일 동안 매일 또는 21일 사이클의 7-12일 동안 매일 약 50 mg, 60 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg (예를 들어, 75 mg, 100 mg 또는 125 mg)의 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12회 또는 그 초과의 사이클의 팔보시클립이 투여된다.

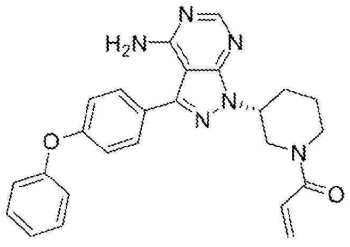
[0975] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 시클린-의존성 키나제 (CDK) 4 또는 6 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 CDK4 억제제 또는 CDK6 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CDK4/6 억제제 (예를 들어, CDK4 및 CDK6 둘 다를 표적화하는 억제제), 예를 들어 본원에 기재된 CDK4/6 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, 대상체는 MCL을 갖는다. MCL은 현행 이용가능한 요법에 대해 불량한 반응성의, 즉 본질적으로 치유불가능한 공격성 암이다. MCL의 많은 경우에, 시클린 D1 (CDK4/6의 조절제)이 MCL 세포에서 발현된다 (예를 들어, 이뮤노글로불린 및 시클린 D1 유전자를 수반하는 염색체 전위로 인함). 따라서, 이론에 얽매이지는 않지만, MCL 세포는 CDK4/6 억제에 대해 높은 특이성으로 고도로 감수성인 것으로 생각된다 (즉, 정상 면역 세포에 대해서는 최소 효과). CDK4/6 억제제 단독은 MCL을 치료하는데 있어서 일부 효능을 갖지만, 높은 재발률을 갖는 부분적 완화만이 달성된다. 예시적인 CDK4/6 억제제는 LEE011 (리보시클립으로도 불림)로, 그의 구조가 하기 제시된다.

[0976] 

[0977] 이론에 얽매이지는 않지만, CDK4/6 억제제 (예를 들어, LEE011 또는 본원에 기재된 다른 CDK4/6 억제제)와 함께 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여는, 예를 들어 CDK4/6 억제제 단독과 비교하여, 예를 들어 더 높은 완화율 및/또는 더 낮은 재발률을 갖는 더 높은 반응성을 달성할 수 있는 것으로 여겨진다.

[0978] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 이브루티닙 (PCI-32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; 및 LFM-A13으로부터 선택된 BTK 억제제이다. 바람직한 실시양태에서, BTK 억제제는 인터류킨-2-유도성 키나제 (ITK)의 키나제 활성을 감소시키거나 억제하지 않고, GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; 및 LFM-A13으로부터 선택된다.

[0979] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 BTK 억제제, 예를 들어 이브루티닙 (PCI-32765)이다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 BTK 억제제 (예를 들어, 이브루티닙)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 이브루티닙 (PCI-32765로도 불림)과 조합되어 대상체에게 투여된다. 이브루티닙
(1-[(3R)-3-[4-아미노-3-(4-페녹시페닐)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일]피페리딘-1-일]프로프-2-엔-1-온)의 구조가 하기 제시된다.

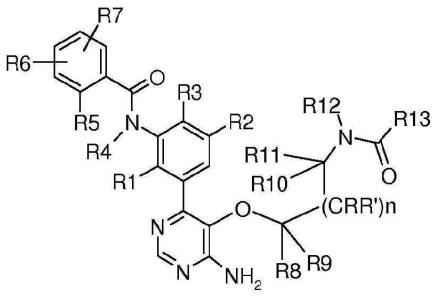
[0980] 

[0981] 실시양태에서, 대상체는 CLL, 외투 세포 림프종 (MCL), 또는 소림프구성 림프종 (SLL)을 갖는다. 예를 들어, 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실 (del(17p), 예를 들어 백혈병성 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 재발성 CLL 또는 SLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다 (예를 들어, 이전에 1, 2, 3, 또는 4종의 선행 암 요법을 투여받은 바 있음). 실시양태에서, 대상체는 불응성 CLL 또는 SLL을 갖는다. 다른 실시양태에서, 대상체는 여포성 림프종, 예를 들어 재발 또는 불응성 여포성 림프종을 갖는다. 일부 실시양태에서, 이브루티닙은 약 300-600 mg/일 (예를 들어, 약 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550, 또는 550-600 mg/일, 예를 들어, 약 420 mg/일 또

는 약 560 mg/일)의 투여량으로, 예를 들어 경구로 투여된다. 실시양태에서, 이브루티닙은 약 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 560 mg, 580 mg, 600 mg (예를 들어, 250 mg, 420 mg 또는 560 mg)의 용량으로 소정의 기간 동안 매일, 예를 들어 21일 사이클 동안 매일, 또는 28일 사이클 동안 매일 투여된다. 한 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12사이클 또는 그 초과의 사이클의 이브루티닙이 투여된다. 일부 실시양태에서, 이브루티닙은 리툭시맙과 조합되어 투여된다. 예를 들어, 문헌 [Burger et al. (2013) Ibrutinib In Combination With Rituximab (iR) Is Well Tolerated and Induces a High Rate Of Durable Remissions In Patients With High-Risk Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): New, Updated Results Of a Phase II Trial In 40 Patients, Abstract 675 presented at 55th ASH Annual Meeting and Exposition, New Orleans, LA 7-10 Dec]을 참조한다. 이론에 얽매이지는 않지만, 이브루티닙의 첨가는 T 세포 증식 반응을 증진시키고, T 세포를 T-헬퍼-2 (Th2)에서 T-헬퍼-1 (Th1) 표현형으로 이동시킬 수 있는 것으로 생각된다. Th1 및 Th2는 헬퍼 T 세포의 표현형으로, Th1 대 Th2는 상이한 면역 반응 경로를 지시한다. Th1 표현형은 예를 들어 세포, 예컨대 세포내 병원체/바이러스 또는 암성 세포를 사멸시키거나 자가면역 반응을 영속시키는 염증유발 반응과 연관된다. Th2 표현형은 호산구 축적 및 항-염증 반응과 연관된다.

[0982] 본원의 방법, 용도 및 조성물의 일부 실시양태에서, BTK 억제제는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 국제 출원 WO/2015/079417에 기재된 BTK 억제제이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, BTK 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다.

[0983] <화학식 I>

[0984] 

[0985] 여기서,

[0986] R1은 수소, 또는 히드록시에 의해 임의로 치환된 C1-C6 알킬이고;

[0987] R2는 수소 또는 할로겐이고;

[0988] R3은 수소 또는 할로겐이고;

[0989] R4는 수소이고;

[0990] R5는 수소 또는 할로겐이거나;

[0991] 또는 R4 및 R5는 서로 부착되고, 결합, -CH2-, -CH2-CH2-, -CH=CH-, -CH=CH-CH2-; -CH2-CH=CH-; 또는 -CH2-CH2-CH2-를 나타내고;

[0992] R6 및 R7은 서로 독립적으로 H, 히드록실에 의해 임의로 치환된 C1-C6 알킬, 할로겐 또는 히드록시에 의해 임의로 치환된 C3-C6 시클로알킬, 또는 할로겐을 나타내고;

[0993] R8, R9, R, R', R10 및 R11은 서로 독립적으로 H, 또는 C1-C6 알콕시에 의해 임의로 치환된 C1-C6 알킬을 나타내거나; 또는 R8, R9, R, R', R10 및 R11 중 임의의 2개는 이들이 결합되어 있는 탄소 원자와 함께 3 - 6원 포화 카르보시클릭 고리를 형성할 수 있고;

[0994] R12는 수소, 또는 할로겐 또는 C1-C6 알콕시에 의해 임의로 치환된 C1-C6 알킬이거나;

[0995] 또는 R12 및 R8, R9, R, R', R10 또는 R11 중 어느 하나는 이들이 결합되어 있는 원자와 함께, 할로겐, 시아노, 히드록실, C1-C6 알킬 또는 C1-C6 알콕시에 의해 임의로 치환될 수 있는 4, 5, 6 또는 7원 아자시클릭 고리를 형성할 수 있고;

[0996] n은 0 또는 1이고;

[0997] R13은 C1-C6 알킬, C1-C6 알콕시 또는 N,N-디-C1-C6 알킬 아미노에 의해 임의로 치환된 C2-C6 알케닐; C1-C6 알킬 또는 C1-C6 알콕시에 의해 임의로 치환된 C2-C6 알키닐; 또는 C1-C6 알킬에 의해 임의로 치환된 C2-C6 알킬레닐 옥시드이다.

[0998] 일부 실시양태에서, 화학식 I의 BTK 억제제는 하기로부터 선택된다: N-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-3-일)옥시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-에노일)아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-((1-프로피올로일아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-이노일)아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-((1-아크릴로일피페리딘-4-일)옥시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸아크릴아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-엔아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸프로피올아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(4-메톡시-N-메틸부트-2-엔아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-인아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(2-((4-아미노-6-(3-(4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미도)-5-플루오로-2-메틸페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸옥시란-2-카르복스아미드; N-(2-((4-아미노-6-(3-(6-시클로프로필-8-플루오로-1-옥소이소퀴놀린-2(1H)-일)페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸아크릴아미드; N-(3-(5-(2-아크릴아미도에톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-에틸아크릴아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-(2-플루오로에틸)아크릴아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-((1-아크릴아미도시클로프로필)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-(2-아크릴아미도프로폭시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(부트-2-인아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸아크릴아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-인아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(3-(N-메틸아크릴아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-((1-아크릴로일피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-이노일)피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-2-(3-(5-((1-아크릴로일피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-(히드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; N-(2-((4-아미노-6-(3-(6-시클로프로필-1-옥소-3,4-디히드로이소퀴놀린-2(1H)-일)-5-플루오로-2-(히드록시메틸)페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸아크릴아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4R)-1-(부트-2-이노일)-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; 2-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-(히드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; N-(3-(5-(((2S,4S)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4S)-1-(부트-2-이노일)-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-플루오로피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4R)-1-(부트-2-이노일)-4-플루오로피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-((1-프로피올로일아제티딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-2-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로

-2-(히드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; (R)-N-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (R)-N-(3-(5-((1-아크릴로일피페리딘-3-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2R,3S)-1-아크릴로일-3-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-시아노피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; 또는 N-(3-(5-(((2S,4S)-1-아크릴로일-4-시아노피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드.

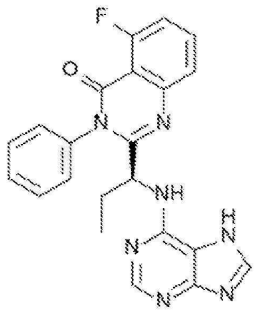
[0999] 달리 제공되지 않는 한, 화학식 I의 BTK 억제제를 기재하는데 상기 사용된 화학 용어는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 국제 출원 WO/2015/079417에 제시된 바와 같은 그의 의미에 따라 사용된다.

[1000] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 하기로부터 선택된 mTOR 억제제이다: 템시롤리무스; 리다포롤리무스 (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2 [(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-디히드록시-19,30-디메톡시-15,17,21,23,29,35-헥사메틸-2,3,10,14,20-펜타옥소-11,36-디옥사-4-아자트리시클로[30.3.1.$0^{4,9}$] 헥사트리아콘타-16,24,26,28-테트라엔-12-일]프로필]-2-메톡시시클로헥실 디메틸포스피네이트, AP23573 및 MK8669로도 공지됨; 에베롤리무스 (RAD001); 라파마이신 (AY22989); 세마피모드; (5-{2,4-비스[(3S)-3-메틸모르폴린-4-일]피리도[2,3-d]피리미딘-7-일}-2-메톡시페닐)메탄올 (AZD8055); 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-히드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온 (PF04691502); 및 N^2-[1,4-디옥소-4-[[4-(4-옥소-8-페닐-4H-1-벤조피란-2-일)모르폴리늄-4-일]메톡시]부틸]-L-아르기닐글리실-L-α-아스파르틸L-세린- (서열식별번호: 64), 내부 염 (SF1126); 및 XL765.

[1001] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 라파마이신이고, 라파마이신은 약 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg (예를 들어, 6 mg)의 용량으로 소정의 기간 동안 매일, 예를 들어 21일 사이클 동안 매일, 또는 28일 사이클 동안 매일 투여된다. 한 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12사이클 또는 그 초과의 사이클의 라파마이신이 투여된다. 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 에베롤리무스이고, 에베롤리무스는 약 2 mg, 2.5 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg (예를 들어, 10 mg)의 용량으로 소정의 기간 동안 매일, 예를 들어 28일 사이클 동안 매일 투여된다. 한 실시양태에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12사이클 또는 그 초과의 사이클의 에베롤리무스가 투여된다.

[1002] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 CGP052088; 4-아미노-3-(p-플루오로페닐아미노)-피라졸로[3,4-d] 피리미딘 (CGP57380); 세르코스포라미드; ETC-1780445-2; 및 4-아미노-5-(4-플루오로아닐리노)-피라졸로[3,4-d] 피리미딘으로부터 선택된 MNK 억제제이다.

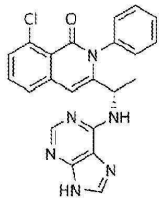
[1003] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 포스포이노시티드 3-키나제 (PI3K) 억제제 (예를 들어, 본원에 기재된 PI3K 억제제, 예를 들어 이델라리십 또는 두벨리십) 및/또는 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 이델라리십 및 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 두벨리십 및 리툭시맙과 조합되어 대상체에게 투여된다. 이델라리십 (GS-1101 또는 CAL-101로도 불림; 길리아드(Gilead))은 PI3K의 델타 이소형을 차단하는 소분자이다. 이델라리십 (5-플루오로-3-페닐-2-[(1S)-1-(7H-퓨린-6-일아미노)프로필]-4(3H)-퀴나졸리논)의 구조가 하기 제시된다.



[1004]

[1005] 두벨리십 (IPI-145로도 불림; 인피니티 파마슈티칼스(Infinity Pharmaceuticals) 및 아브비(Abbvie))은 PI3K-

δ, γ를 차단하는 소분자이다. 두벨리십 (8-클로로-2-페닐-3-[(1S)-1-(9H-퓨린-6-일아미노)에틸]-1(2H)-이소퀴놀리논)의 구조가 하기 제시된다.

[1006] 

[1007] 실시양태에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 재발성 CLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다 (예를 들어, 이전에 항-CD20 항체를 투여받은 바 있거나, 또는 이전에 이브루티닙을 투여받은 바 있음). 예를 들어, 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실 (del(17p), 예를 들어 백혈병성 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함한다. 다른 실시양태에서, 대상체는 이뮤노글로불린 중쇄 가변-영역 (IgV_H) 유전자에서 돌연변이를 포함하는 백혈병성 세포를 포함하지 않는다. 실시양태에서, 대상체는 긴 아암의 염색체 11에서 결실 (del(11q))을 갖는다. 다른 실시양태에서, 대상체는 del(11q)을 갖지 않는다. 실시양태에서, 이델라리십은 약 100-400 mg (예를 들어, 100-125, 125-150, 150-175, 175-200, 200-225, 225-250, 250-275, 275-300, 325-350, 350-375, 또는 375-400 mg)의 투여량으로, 예를 들어 BID 투여된다. 실시양태에서, 두벨리십은 약 15-100 mg (예를 들어, 약 15-25, 25-50, 50-75, 또는 75-100 mg)의 투여량으로, 예를 들어 1일 2회 투여된다. 실시양태에서, 리툭시맙은 약 350-550 mg/m^2 (예를 들어, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475, 또는 475-500 mg/m^2)의 투여량으로, 예를 들어 정맥내로 투여된다.

[1008] 한 실시양태에서, 키나제 억제제는 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-히드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온 (PF-04691502); N-[4-[[4-(디메틸아미노)-1-피페리디닐]카르보닐]페닐]-N'-[4-(4,6-디-4-모르폴리닐-1,3,5-트리아진-2-일)페닐]우레아 (PF-05212384, PKI-587); 2-메틸-2-{4-[3-메틸-2-옥소-8-(퀴놀린-3-일)-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]페닐}프로판니트릴 (BEZ-235); 아피톨리십 (GDC-0980, RG7422); 2,4-디플루오로-N-{2-(메틸옥시)-5-[4-(4-피리다지닐)-6-퀴놀리닐]-3-피리디닐}벤젠술폰아미드 (GSK2126458); 8-(6-메톡시피리딘-3-일)-3-메틸-1-(4-(피페라진-1-일)-3-(트리플루오로메틸)페닐)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-2(3H)-온 말레산 (NVP-BGT226); 3-[4-(4-모르폴리닐피리도[3',2':4,5]푸로[3,2-d]피리미딘-2-일]페놀 (PI-103); 5-(9-이소프로필-8-메틸-2-모르폴리노-9H-퓨린-6-일)피리미딘-2-아민 (VS-5584, SB2343); 및 N-[2-[(3,5-디메톡시페닐)아미노]퀴녹살린-3-일]-4-[(4-메틸-3-메톡시페닐)카르보닐]아미노페닐술폰아미드 (XL765)로부터 선택된 이중 포스파티딜이노시톨 3-키나제 (PI3K) 및 mTOR 억제제이다.

[1009] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 역형성 림프종 키나제 (ALK) 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 예시적인 ALK 키나제는 크리조티닙 (화이자(Pfizer)), 세리티닙 (노파르티스(Novartis)), 알렉티닙 (츄가이(Chugai)), 브리가티닙 (AP26113으로도 불림; 아리아드(Ariad)), 엔트렉티닙 (이그니타(Ignyta)), PF-06463922 (화이자), TSR-011 (테사로(Tesaro)) (예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT02048488 참조), CEP-37440 (테바(Teva)), 및 X-396 (엑스커버리(Xcovery))을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 고형 암, 예를 들어 본원에 기재된 고형 암, 예를 들어 폐암을 갖는다.

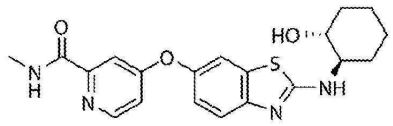
[1010] 크리조티닙의 화학 명칭은 3-[(1R)-1-(2,6-디클로로-3-플루오로페닐)에톡시]-5-(1-피페리딘-4-일피라졸-4-일)피리딘-2-아민이다. 세리티닙의 화학 명칭은 5-클로로-N^2-[2-이소프로폭시-5-메틸-4-(4-피페리디닐)페닐]-N^4-[2-(이소프로필술포닐)페닐]-2,4-피리미딘디아민이다. 알렉티닙의 화학 명칭은 9-에틸-6,6-디메틸-8-(4-모르폴리노피페리딘-1-일)-11-옥소-6,11-디히드로-5H-벤조[b]카르바졸-3-카르보니트릴이다. 브리가티닙의 화학 명칭은 5-클로로-N^2-{4-[4-(디메틸아미노)-1-피페리디닐]-2-메톡시페닐}-N^4-[2-(디메틸포스포릴)페닐]-2,4-피리미딘디아민이다. 엔트렉티닙의 화학 명칭은 N-(5-(3,5-디플루오로벤질)-1H-인다졸-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)-2-((테트라히드로-2H-피란-4-일)아미노)벤즈아미드이다. PF-06463922의 화학 명칭은 (10R)-7-아미노-12-플루오로-2,10,16-트리메틸-15-옥소-10,15,16,17-테트라히드로-2H-8,4-(메테노)피라졸로[4,3-h][2,5,11]-벤족사디아자시클로테트라데신-3-카르보니트릴이다. CEP-37440의 화학 구조는 (S)-2-((5-클로로-2-((6-(4-(2-히드록시에

틸)피페라진-1-일)-1-메톡시-6,7,8,9-테트라히드로-5H-벤조[7]아눌렌-2-일)아미노)피리미딘-4-일)아미노)-N-메틸벤즈아미드이다. X-396의 화학 명칭은 (R)-6-아미노-5-(1-(2,6-디클로로-3-플루오로페닐)에톡시)-N-(4-(4-메틸피페라진-1-카르보닐)페닐)피리다진-3-카르복스아미드이다.

[1011] 칼슘 의존성 포스파타제 칼시뉴린 (시클로스포린 및 FK506)을 억제하거나 또는 성장 인자 유도 신호전달에 중요한 p70S6 키나제를 억제하는 약물 (라파마이신) (Liu et al., Cell 66:807-815, 1991; Henderson et al., Immun. 73:316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993)이 또한 사용될 수 있다. 추가 측면에서, 본 발명의 세포 조성물은 골수 이식, 플루다라빈과 같은 화학요법제를 사용하는 T 세포 절제 요법, 외부-빔 방사선 요법 (XRT), 시클로포스파미드, 및/또는 항체, 예컨대 OKT3 또는 캄파트와 함께 (예를 들어, 그 전에, 동시에 또는 그 후에) 환자에게 투여될 수 있다. 한 측면에서, 본 발명의 세포 조성물은 B-세포 절제 요법, 예컨대 CD20과 반응하는 작용제, 예를 들어 리툭산(Rituxan) 후에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 대상체는 고용량 화학요법에 이어 말초 혈액 줄기 세포 이식을 사용하는 표준 치료를 받을 수 있다. 특정 실시양태에서, 이식 후에, 대상체는 본 발명의 확장된 면역 세포의 주입을 받는다. 추가의 실시양태에서, 확장된 세포는 수술 전 또는 후에 투여된다.

[1012] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 인돌아민 2,3-디옥시게나제 (IDO) 억제제와 조합되어 대상체에게 투여된다. IDO는 아미노산, L-트립토판의 키누레닌으로의 분해를 촉매하는 효소이다. 많은 암, 예를 들어 전립선, 결장직장, 췌장, 자궁경부, 위, 난소, 두부 및 폐암이 IDO를 과다발현한다. pDC, 대식세포 및 수지상 세포 (DC)는 IDO를 발현할 수 있다. 이론에 얽매이지는 않지만, L-트립토판의 감소 (예를 들어, IDO에 의해 촉매됨)는 T-세포 무반응 및 아폽토시스를 유도함으로써 면역억제 환경을 발생시키는 것으로 생각된다. 따라서, 이론에 얽매이지는 않지만, IDO 억제제는 예를 들어 CAR-발현 면역 세포의 억제 또는 사멸을 감소시킴으로써 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 효능을 증진시킬 수 있는 것으로 생각된다. 실시양태에서, 대상체는 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 전립선, 결장직장, 췌장, 자궁경부, 위, 난소, 두부 또는 폐암을 갖는다. IDO의 예시적인 억제제는 1-메틸-트립토판, 인독시모드 (뉴링크 제네틱스(NewLink Genetics)) (예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT01191216; NCT01792050 참조), 및 INCB024360 (인사이트 코포레이션(Incyte Corp.)) (예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT01604889; NCT01685255 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[1013] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 골수-유래 억제자 세포 (MDSC)의 조정제와 조합되어 대상체에게 투여된다. MDSC는 많은 고형 종양의 주변 및 종양 부위에 축적된다. 이들 세포는 T 세포 반응을 억제함으로써 CAR-발현 세포 요법의 효능을 방해한다. 이론에 얽매이지는 않지만, MDSC 조정제의 투여는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 효능을 증진시키는 것으로 생각된다. 한 실시양태에서, 대상체는 고형 종양, 예를 들어 본원에 기재된 고형 종양, 예를 들어 교모세포종을 갖는다. MDSC의 예시적인 조정제는 MCS110 및 BLZ945를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. MCS110은 대식세포 콜로니-자극 인자 (M-CSF)에 대한 모노클로날 항체 (mAb)이다. 예를 들어, 임상 시험 식별자 번호 NCT00757757을 참조한다. BLZ945는 콜로니 자극 인자 1 수용체 (CSF1R)의 소분자 억제제이다. 예를 들어 문헌 [Pyonteck et al. Nat. Med. 19(2013):1264-72]을 참조한다. BLZ945의 구조가 하기 제시된다.



[1014]

[1015] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 면역억제 형질 세포의 활성을 억제 또는 감소시키는 작용제와 조합되어 대상체에게 투여된다. 면역억제 형질 세포는 T 세포-의존성 면역원성 화학요법, 예컨대 옥살라플라틴을 저해하는 것으로 제시된 바 있다 (Shalapour et al., Nature 2015, 521:94- 101). 한 실시양태에서, 면역억제 형질 세포는 IgA, 인터류킨 (IL)-10, 및 PD-L1 중 1종 이상을 발현할 수 있다. 한 실시양태에서, 작용제는 CD19 CAR-발현 세포 또는 BCMA CAR-발현 세포이다.

[1016] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 인터류킨-15 (IL-15) 폴리펩티드, 인터류킨-15 수용체 알파 (IL-15Ra) 폴리펩티드, 또는 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드 둘 다의 조합, 예를 들어 hetIL-15 (애드뮨 테라퓨틱스, 엘엘씨(Admune Therapeutics, LLC))와 조합되어 대상체에게 투여된다. hetIL-15는 IL-15 및 IL-15Ra의 이종이량체 비-공유 복합체이다. hetIL-15는, 예를 들어 본원에 참조로 포함되는 U.S. 8,124,084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413, 및 U.S. 2011/0081311에 기재되어 있다. 실시양

태에서, het-IL-15는 피하로 투여된다. 실시양태에서, 대상체는 암, 예를 들어 고형 암, 예를 들어 흑색종 또는 결장암을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 전이성 암을 갖는다.

[1017] 실시양태에서, 본원에 기재된 질환, 예를 들어 혈액 장애, 예를 들어 AML 또는 MDS를 갖는 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 작용제, 예를 들어 세포독성 또는 화학요법제, 생물학적 요법 (예를 들어, 항체, 예를 들어 모노클로날 항체 또는 세포 요법), 또는 억제제 (예를 들어, 키나제 억제제)와 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 세포독성제, 예를 들어 CPX-351 (세라토르 파마슈티칼스(Celator Pharmaceuticals)), 시타라빈, 다우노루비신, 보사록신 (수네시스 파마슈티칼스(Sunesis Pharmaceuticals)), 사파시타빈 (시클라셀 파마슈티칼스(Cyclacel Pharmaceuticals)), 이다루비신 또는 미톡산트론과 조합되어 투여된다. CPX-351은 시타라빈 및 다우노루비신을 5:1 몰비로 포함하는 리포솜 제제이다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 저메틸화제, 예를 들어 DNA 메틸트랜스퍼라제 억제제, 예를 들어 아자시티딘 또는 데시타빈과 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 생물학적 요법, 예를 들어 항체 또는 세포 요법, 예를 들어 225Ac-린투주맙 (악티맙-A; 악티늄 파마슈티칼스(Actinium Pharmaceuticals)), IPH2102 (이네이트 파마(Innate Pharma)/브리스톨 마이어스 스퀴(Bristol Myers Squibb)), SGN-CD33A (시애틀 제네틱스(Seattle Genetics)), 또는 겜투주맙 오조가미신 (밀로타르그(Mylotarg); 화이자)과 조합되어 투여된다. SGN-CD33A는 항-CD33 항체에 부착된 피롤로벤조디아제핀 이량체를 포함하는 항체-약물 접합체 (ADC)이다. 악티맙-A는 악티늄으로 표지된 항-CD33 항체 (린투주맙)이다. IPH2102는 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)를 표적화하는 모노클로날 항체이다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 FLT3 억제제, 예를 들어, 소라페닙 (바이엘(Bayer)), 미도스타우린 (노파르티스), 퀴자르티닙 (다이이치 산쿄(Daiichi Sankyo)), 크레놀라닙 (아로그 파마슈티칼스(Arog Pharmaceuticals)), PLX3397 (다이이치 산쿄), AKN-028 (아키니온 파마슈티칼스(Akinion Pharmaceuticals)), 또는 ASP2215 (아스텔라스(Astellas))와 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 이소시트레이트 데히드로게나제 (IDH) 억제제, 예를 들어, AG-221 (셀진(Celgene)/아기오스(Agios)) 또는 AG-120 (아기오스/셀진)과 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 세포 주기 조절제, 예를 들어 폴로-유사 키나제 1 (Plk1)의 억제제, 예를 들어 볼라세르팁 (베링거 잉겔하임(Boehringer Ingelheim)); 또는 시클린-의존성 키나제 9 (Cdk9)의 억제제, 예를 들어 알보시딥 (톨레로 파마슈티칼스(Tolero Pharmaceuticals)/사노피 아벤티스(Sanofi Aventis))과 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 B 세포 수용체 신호전달 네트워크 억제제, 예를 들어 B-세포 림프종 2 (Bcl-2)의 억제제, 예를 들어 베네토클락스 (아브비/로슈(Roche)); 또는 브루톤 티로신 키나제 (Btk)의 억제제, 예를 들어 이브루티닙 (파마시클릭스(Pharmacyclics)/존슨 & 존슨 얀센 파마슈티칼(Johnson & Johnson Janssen Pharmaceutical))과 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 대상체에게 본원에 기재된 CAR-발현 세포가 M1 아미노펩티다제의 억제제, 예를 들어 토세도스타트 (씨티아이 바이오파마(CTI BioPharma)/베르날리스(Vernalis)); 히스톤 데아세틸라제 (HDAC)의 억제제, 예를 들어 프라시노스타트 (엠이아이 파마(MEI Pharma)); 다중-키나제 억제제, 예를 들어 리고세르팁 (온코노바 테라퓨틱스(Onconova Therapeutics)/백스터(Baxter)/심바이오(SymBio)); 또는 펩티드성 CXCR4 역 효능제, 예를 들어 BL-8040 (바이오라인알엑스(BioLineRx))과 조합되어 투여된다.

[1018] 또 다른 실시양태에서, 대상체는 이식, 예를 들어 세포의 동종 줄기 세포 이식 전에 본 발명의 CAR-발현 세포 조성물의 주입을 받는다. 바람직한 실시양태에서, CAR 발현 세포는 예를 들어 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 코딩하는 mRNA의 전기천공에 의해 NKR-CAR, 예를 들어 KIR-CAR을 일시적으로 발현하고, 이에 의한 종양 항원의 발현은 생착 실패를 피하기 위해 공여자 줄기 세포의 주입 전에 종결된다.

[1019] 일부 환자는 투여 동안 또는 그 후 본 발명의 화합물 및/또는 다른 항암제(들)에 대해 알레르기 반응을 경험할 수 있고; 따라서, 알레르기 반응의 위험을 최소화하기 위해 항알레르기제가 종종 투여된다. 적합한 항알레르기제는 코르티코스테로이드, 예컨대 덱사메타손 (예를 들어, 데카드론(Decadron)®), 베클로메타손 (예를 들어, 베클로벤트(Beclovent)®), 히드로코르티손 (코르티손, 히드로코르티손 소듐 숙시네이트, 히드로코르티손 인산나트륨으로도 공지됨, 상표명 알라-코르트(Ala-Cort)®, 히드로코르티손 포스페이트, 솔루-코르테프(Solu-Cortef)®, 히드로코르트 아세테이트(Hydrocort Acetate)® 및 라나코르트(Lanacort)® 하에 판매됨), 프레드니솔론 (상표명 델타-코르텔(Delta-Cortel)®, 오라프레드(Orapred)®, 페디아프레드(Pediapred)® 및 프렐론(Prelone)® 하에 판매됨), 프레드니손 (상표명 델타손(Deltasone)®, 리퀴드 레드(Liquid Red)®, 메티코르텐(Meticorten)® 및 오라손(Orasone)® 하에 판매됨), 메틸프레드니솔론 (6-메틸프레드니솔론, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 메틸프레드니솔론 소듐 숙시네이트로도 공지됨, 상표명 듀랄론(Duralone)®, 메드랄론(Medralone)®, 메드롤(Medrol)®, M-프레드니솔(M-Prednisol)® 및 솔루-메드롤(Solu-Medrol)® 하에 판매됨); 항히스타

민제, 예컨대 디펜히드라민 (예를 들어, 베나드릴(Benadryl)®), 히드록시진 및 시프로헵타딘; 및 기관지확장제, 예컨대 베타-아드레날린성 수용체 효능제, 알부테롤 (예를 들어, 프로벤틸(Proventil)®) 및 테르부탈린 (브레틴(Brethine)®)을 포함한다.

[1020] 일부 환자는 본 발명의 화합물 및/또는 다른 항암제(들)의 투여 동안 및 그 후 오심을 경험할 수 있고; 따라서, 항오심제가 오심 (상부 위) 및 구토를 방지하는데 사용된다. 적합한 항구토제는 아프레피탄트 (에멘드(Emend)®), 온단세트론 (조프란(Zofran)®), 그라니세트론 HCl (키트릴(Kytril)®), 로라제팜 (아티반(Ativan)®), 덱사메타손 (데카드론(Decadron)®), 프로클로르페라진 (콤파진(Compazine)®), 카소피탄트 (레조닉(Rezonic)® 및 준리사(Zunrisa)®) 및 그의 조합을 포함한다.

[1021] 치료 기간 동안 경험한 통증을 완화하기 위한 의약은 환자를 보다 더 편안하게 하기 위해 종종 처방된다. 통상적인 일반 진통제, 예컨대 타이레놀(Tylenol)®이 종종 사용된다. 그러나, 오피오이드 진통제 약물, 예컨대 히드로코돈/파라세타몰 또는 히드로코돈/아세트아미노펜 (예를 들어, 비코딘(Vicodin)®), 모르핀 (예를 들어, 아스트라모르프(Astramorph)® 또는 아빈자(Avinza)®), 옥시코돈 (예를 들어, 옥시콘틴(OxyContin)® 또는 페르코셋(Percocet)®), 옥시모르폰 히드로클로라이드 (오파나(Opana)®) 및 펜타닐 (예를 들어, 두라게식(Duragesic)®이 또한 중등도 또는 중증 통증에 유용하다.

[1022] 정상 세포를 치료 독성으로부터 보호하고, 기관 독성을 제한하기 위한 노력에서, 세포보호제 (예컨대 신경보호제, 유리-라디칼 스캐빈저, 심장보호제, 안트라시클린 혈관외유출 중화제, 영양제 등)는 보조 요법으로서 사용될 수 있다. 적합한 세포보호제는 아미포스틴 (에티올(Ethyol)®), 글루타민, 디메스나 (타보셉트(Tavocept)®), 메스나 (메스넥스(Mesnex)®), 덱스라족산 (지네카드(Zinecard)® 또는 토텍트(Totect)®), 크살리프로덴 (크사프릴라(Xaprila)®) 및 류코보린 (칼슘 류코보린, 시트로보룸 인자 및 폴린산으로도 공지됨)을 포함한다.

[1023] 코드 번호, 일반명 또는 상표명에 의해 확인되는 활성 화합물의 구조는 표준 일람의 현행판 "The Merck Index"으로부터 또는 데이터베이스, 예를 들어 페이턴츠 인터내셔널 (예를 들어 IMS 월드 퍼블리케이션즈(IMS World Publications))로부터 입수할 수 있다.

[1024] 본 발명의 화합물과 조합되어 사용될 수 있는 상기 언급된 화합물은 상기 인용된 문헌에서와 같이 관련 기술분야에 기재되어 있는 대로 제조되고 투여될 수 있다.

[1025] 한 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 적어도 1종의 화합물 (예를 들어, 본 발명의 화합물) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 인간 또는 동물 대상체에게 투여하는데 적합한 제약상 허용되는 담체와 함께 단독으로 또는 다른 항암제와 함께 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[1026] 한 실시양태에서, 본 발명은 세포 증식성 질환, 예컨대 암을 앓고 있는 인간 또는 동물 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 이러한 치료를 필요로 하는 인간 또는 동물 대상체에게 치료 유효량의 본 발명의 화합물 (예를 들어, 본 발명의 화합물) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 단독으로 또는 다른 항암제와 조합하여 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.

[1027] 특히, 조성물은 조합 치료제로서 함께 제제화되거나 또는 개별적으로 투여될 것이다.

[1028] 조합 요법에서, 본 발명의 화합물 및 다른 항암제(들)는 동시에, 공동으로 또는 어떠한 구체적 시간 제한 없이 순차적으로 투여될 수 있으며, 여기서 이러한 투여는 환자의 신체 내에서 2종의 화합물의 치료 유효 수준을 제공한다.

[1029] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 화합물 및 다른 항암제(들)는 일반적으로 주입에 의해 또는 경구로 임의의 순서로 순차적으로 투여된다. 투여 요법은 질환의 병기, 환자의 신체적 적합도, 개별 약물의 안전성 프로파일 및 개별 약물의 내성, 뿐만 아니라 조합물을 투여하는 담당 의사 및 의료 진료의(들)에게 널리 공지된 다른 기준에 따라 달라질 수 있다. 본 발명의 화합물 및 다른 항암제(들)는 치료에 사용되는 특정한 사이클에 따라 서로 수분, 수시간, 수일, 또는 심지어 수주 내로 이격되어 투여될 수 있다. 또한, 사이클은 치료 사이클 동안 하나의 약물을 다른 것보다 더 종종 투여하는 것 및 약물의 투여당 상이한 용량으로의 투여를 포함할 수 있다.

[1030] 본 발명의 또 다른 측면에서, 본 발명의 1종 이상의 화합물 및 본원에 개시된 바와 같은 조합 파트너를 포함하는 키트가 제공된다. 대표적인 키트는 (a) 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, (b) 예를 들어 상기 나타낸 바와 같은 적어도 1종의 조합 파트너를 포함하며, 이에 의해 이러한 키트는 패키지 삽입물 및 투여 지침서를 포함한 다른 라벨을 포함할 수 있다.

[1031] 본 발명의 화합물은 또한 공지된 치료 과정, 예를 들어 호르몬의 투여 또는 특히 방사선과 조합되어 유리하게 사용될 수 있다. 본 발명의 화합물은 특히 방사선증감제로서, 특히 방사선요법에 대해 불량한 감수성을 나타내는 종양의 치료를 위해 사용될 수 있다.

[1032] 한 실시양태에서, 대상체에게 CAR-발현 세포의 투여와 연관된 부작용을 감소 또는 호전시키는 작용제를 투여할 수 있다. CAR-발현 세포의 투여와 연관된 부작용은 CRS, 및 대식세포 활성화 증후군 (MAS)으로도 불리는 혈구포식성 림프조직구증식증 (HLH)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. CRS의 증상은 고열, 오심, 일시적 저혈압, 저산소증 등을 포함한다. CRS는 임상적 체질 징후 및 증상, 예컨대 열, 피로, 식욕부진, 근육통, 관절통, 오심, 구토 및 두통을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 피부 징후 및 증상, 예컨대 발진을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 위장 징후 및 증상, 예컨대 오심, 구토 및 설사를 포함할 수 있다. CRS는 임상적 호흡 징후 및 증상, 예컨대 빈호흡 및 저산소혈증을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 심혈관 징후 및 증상, 예컨대 빈맥, 확대된 맥압, 저혈압, 증가된 심장 박출량 (초기) 및 잠재적으로 감소된 심장 박출량 (후기)을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 응고 징후 및 증상, 예컨대 상승된 d-이량체, 저섬유소원혈증 (출혈의 존재 또는 부재 하)을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 신장 징후 및 증상, 예컨대 질소혈증을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 간 징후 및 증상, 예컨대 트랜스아미니티스 및 고빌리루빈혈증을 포함할 수 있다. CRS는 임상 신경계 징후 및 증상, 예컨대 두통, 정신상태 변화, 혼동, 섬망, 단어 찾기 곤란 또는 명백한 실어증, 환각, 진전, 겨냥이상, 변경된 보행, 및 발작을 포함할 수 있다.

[1033] 따라서, 본원에 기재된 방법은 본원에 기재된 CAR-발현 세포를 대상체에게 투여하고, CAR-발현 세포를 사용한 치료로부터 생성되는 상승된 수준의 가용성 인자를 관리하기 위해 1종 이상의 작용제를 추가로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 대상체에서 상승되는 가용성 인자는 IFN-γ, TNFα, IL-2 및 IL-6 중 1종 이상이다. 한 실시양태에서, 대상체에서 상승되는 인자는 IL-1, GM-CSF, IL-10, IL-8, IL-5 및 프랙탈카인 중 1종 이상이다. 따라서, 이러한 부작용을 치료하기 위해 투여되는 작용제는 이들 가용성 인자 중 1종 이상을 중화시키는 작용제일 수 있다. 한 실시양태에서, 이들 가용성 형태 중 1종 이상을 중화시키는 작용제는 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 이러한 작용제의 예는 스테로이드 (예를 들어, 코르티코스테로이드), TNFα의 억제제, 및 IL-6의 억제제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. TNFα 억제제의 예는 항-TNFα 항체 분자, 예컨대 인플릭시맙, 아달리무맙, 세르톨리주맙 페골 및 골리무맙이다. TNFα 억제제의 또 다른 예는 융합 단백질, 예컨대 에타네르셉트이다. TNFα의 소분자 억제제는 크산틴 유도체 (예를 들어 펜톡시필린) 및 부프로피온을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. IL-6 억제제의 예는 항-IL-6 항체 분자, 예컨대 토실리주맙 (toc), 사릴루맙, 엘실리모맙, CNTO 328, ALD518/BMS-945429, CNTO 136, CPSI-2364, CDP6038, VX30, ARGX-109, FE301, 및 FM101이다. 한 실시양태에서, 항-IL-6 항체 분자는 토실리주맙이다. IL-1R 기반 억제제의 예는 아나킨라이다.

[1034] 일부 실시양태에서, 대상체에게 코르티코스테로이드, 예컨대 예를 들어, 특히 메틸프레드니솔론, 히드로코티손이 투여된다.

[1035] 일부 실시양태에서, 대상체에게 혈관수축제, 예컨대 예를 들어, 노르에피네프린, 도파민, 페닐에프린, 에피네프린, 바소프레신, 또는 그의 조합이 투여된다.

[1036] 한 실시양태에서, 대상체에게 해열제가 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 대상체에게 진통제가 투여될 수 있다.

[1037] 한 실시양태에서, 대상체에게 CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제가 투여될 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 작용제는 억제 분자를 억제하는 작용제일 수 있고, 예를 들어 작용제는 체크포인트 억제제이다. 억제 분자, 예를 들어 프로그램화된 사멸 1 (PD1)은 일부 실시양태에서 면역 이펙터 반응을 일으키는 CAR-발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있다. 억제 분자의 예는 PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 및 TGFR 베타를 포함한다. 예를 들어, DNA, RNA 또는 단백질 수준에서 억제에 의한 억제 분자의 억제는 CAR-발현 세포 성능을 최적화할 수 있다. 실시양태에서, 억제 핵산, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 예를 들어 dsRNA, 예를 들어 siRNA 또는 shRNA, 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부 (CRISPR), 전사-활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제 (TALEN), 또는 아연 핑거 엔도뉴클레아제 (ZFN)와 같은 억제 핵산이 CAR-발현 세포에서 억제 분자의 발현을 억제하기 위해 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 억제제는 shRNA이다. 한 실시양태에서, 억제 분자는 CAR-발현 세포 내에서 억제된다. 이들 실시양태에서, 억제 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산에 연결된다.

[1038] 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자가

발현되도록, 예를 들어 CAR-발현 세포 내에서 발현되도록 프로모터, 예를 들어 H1- 또는 U6-유래 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 예를 들어, 문헌 [Tiscornia G., "Development of Lentiviral Vectors Expressing siRNA," Chapter 3, in Gene Transfer: Delivery and Expression of DNA and RNA (eds. Friedmann and Rossi). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 2007; Brummelkamp TR, et al. (2002) Science 296: 550-553; Miyagishi M, et al. (2002) Nat. Biotechnol. 19: 497-500]을 참조한다. 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 동일한 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 존재한다. 이러한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산에 5'- 또는 3'-로 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 위치한다. T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산과 동일하거나 상이한 방향으로 전사될 수 있다. 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터 이외의 벡터 상에 존재한다. 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR-발현 세포 내에서 일시적으로 발현된다. 한 실시양태에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 코딩하는 핵산 분자는 CAR-발현 세포의 게놈 내로 안정적으로 통합된다. 도 44a-44e는 T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 갖는, CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 발현시키기 위한 벡터의 예를 도시한다.

[1039] T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는데 유용한 dsRNA 분자의 예가 하기 제공되고, 여기서 T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자는 PD-1이다.

[1040] PDCD1 (PD1) RNAi 작용제의 명칭 (마우스 PDCD1 유전자 서열 NM_008798.2 내 그의 위치로부터 유래됨)이, DNA 서열을 나타내는 서열식별번호: 216-263과 함께 하기 표 7에 제공된다. 센스 (S) 및 안티센스 (AS) 서열 둘 다는 이러한 표에서 19mer 및 21mer 서열로서 표시된다. 또한, 위치 (PoS, 예를 들어, 176)는 마우스 PDCD1 유전자 서열 NM_008798.2 내 위치 번호로부터 유래된 것임을 주목한다. "sense 19" 서열식별번호: 65-76; "sense 21" 서열식별번호: 77-88; "asense 21" 서열식별번호: 89-100; "asense 19" 서열식별번호: 101-112에 상응하는 12개의 군에 서열식별번호가 표시된다.

[1041] 표 7. 마우스 PDCD1 (PD1) shRNA 서열

NM_008798.2 상에서의 위치	표적 영역	Sense19	Sense21	Asense21	Asense19
176	CDS	GGAGGTCCCTCACCTTCTA (SEQ ID NO: 65)	CTGGAGGTCCCTCACCTTCTA (SEQ ID NO: 77)	TAGAAGGTGAGGGACCTCCAG (SEQ ID NO: 89)	TAGAAGGTGAGGGACCTCC (SEQ ID NO: 101)
260	CDS	CGGAGGATCTTATGCTGAA (SEQ ID NO: 66)	GTCGGAGGATCTTATGCTGAA (SEQ ID NO: 78)	TTCAGCATAAGATCCTCCGAC (SEQ ID NO: 90)	TTCAGCATAAGATCCTCCG (SEQ ID NO: 102)
359	CDS	CCCGCTTCCAGATCATACA (SEQ ID NO: 67)	TGCCCGCTTCCAGATCATACA (SEQ ID NO: 79)	TGTATGATCTGGAAGCGGGCA (SEQ ID NO: 91)	TGTATGATCTGGAAGCGGG (SEQ ID NO: 103)
528	CDS	GGAGACCTCAACAAGATAT (SEQ ID NO: 68)	CTGGAGACCTCAACAAGATAT (SEQ ID NO: 80)	ATATCTTGTTGAGGTCTCCAG (SEQ ID NO: 92)	ATATCTTGTTGAGGTCTCC (SEQ ID NO: 104)
581	CDS	AAGGCATGGTCATTGGTAT (SEQ ID NO: 69)	TCAAGGCATGGTCATTGGTAT (SEQ ID NO: 81)	ATACCAATGACCATGCCTTGA (SEQ ID NO: 93)	ATACCAATGACCATGCCTT (SEQ ID NO: 105)
584	CDS	GCATGGTCATTGGTATCAT (SEQ ID NO: 70)	AGGCATGGTCATTGGTATCAT (SEQ ID NO: 82)	ATGATACCAATGACCATGCCT (SEQ ID NO: 94)	ATGATACCAATGACCATGC (SEQ ID NO: 106)
588	CDS	GGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 71)	ATGGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 83)	ATGGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 95)	ATGGTCATTGGTATCATGA (SEQ ID NO: 107)
609	CDS	CCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 72)	GCCCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 84)	GCCCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 96)	GCCCTAGTGGGTATCCCTG (SEQ ID NO: 108)
919	CDS	GAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 73)	ATGAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 85)	ATGAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 97)	ATGAGGATGGACATTGTTC (SEQ ID NO: 109)
1021	3'UTR	GCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 74)	GAGCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 86)	GAGCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 98)	GAGCATGCAGGCTACAGTT (SEQ ID NO: 110)
1097	3'UTR	CCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 75)	TTCCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 87)	TTCCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 99)	TTCCAGCACATGCACTGTT (SEQ ID NO: 111)
1101	3'UTR	CACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 76)	AGCACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 88)	AGCACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 100)	AGCACATGCACTGTTGAGT (SEQ ID NO: 112)

[1042]

[1043] PDCD1 (PD1) RNAi 작용제의 명칭 (인간 PDCD1 유전자 서열 내 그의 위치로부터 유래됨)이, DNA 서열을 나타내는 서열식별번호: 264-311과 함께 하기 표 8에 제공된다. 센스 (S) 및 안티센스 (AS) 서열 둘 다는 19mer 및 21mer 서열로서 표시된다. "sense 19" 서열식별번호: 113-124; "sense 21" 서열식별번호: 125-136; "asense 21" 서열식별번호: 137-148; "asense 19" 서열식별번호: 149-160에 상응하는 12개의 군에 서열식별번호가 표시된다.

[1044] 표 8. 인간 PDCD1 (PD1) shRNA 서열

NM_005018.2 상에서의 위치	표적 영역	Sense19	Asense19	Sense21	Asense21
145	CDS	GGCCAGGATGG TTCTTAGA (SEQ ID NO: 113)	TCTAAGAACCA TCCTGGCC (SEQ ID NO: 125)	GCGGCCAGGAT GGTTCTTAGA (SEQ ID NO: 137)	TCTAAGAACCA TCCTGGCCGC (SEQ ID NO: 149)
271	CDS	GCTTCGTGCTA AACTGGTA (SEQ ID NO: 114)	TACCAGTTTAG CACGAAGC (SEQ ID NO: 126)	GAGCTTCGTGC TAAACTGGTA (SEQ ID NO: 138)	TACCAGTTTAG CACGAAGCTC (SEQ ID NO: 150)
393	CDS	GGGCGTGACTT CCACATGA (SEQ ID NO: 115)	TCATGTGGAAG TCACGCCC (SEQ ID NO: 127)	ACGGGCGTGAC TTCCACATGA (SEQ ID NO: 139)	TCATGTGGAAG TCACGCCCGT (SEQ ID NO: 151)
1497	3'UTR	CAGGCCTAGAG AAGTTTCA (SEQ ID NO: 116)	TGAAACTTCTC TAGGCCTG (SEQ ID NO: 128)	TGCAGGCCTAG AGAAGTTTCA (SEQ ID NO: 140)	TGAAACTTCTC TAGGCCTGCA (SEQ ID NO: 152)
1863	3'UTR	CTTGGAACCCA TTCCTGAA (SEQ ID NO: 117)	TTCAGGAATGG GTTCCAAG (SEQ ID NO: 129)	TCCTTGGAACC CATTCCTGAA (SEQ ID NO: 141)	TTCAGGAATGG GTTCCAAGGA (SEQ ID NO: 153)
1866	3'UTR	GGAACCCATTC CTGAAATT (SEQ ID NO: 118)	AATTTCAGGAA TGGGTTCC (SEQ ID NO: 130)	TTGGAACCCAT TCCTGAAATT (SEQ ID NO: 142)	AATTTCAGGAA TGGGTTCCAA (SEQ ID NO: 154)
1867	3'UTR	GAACCCATTCC TGAAATTA (SEQ ID NO: 119)	TAATTTCAGGA ATGGGTTC (SEQ ID NO: 131)	TGGAACCCATT CCTGAAATTA (SEQ ID NO: 143)	TAATTTCAGGA ATGGGTTCCA (SEQ ID NO: 155)
1868	3'UTR	AACCCATTCCT GAAATTAT (SEQ ID NO: 120)	ATAATTTCAGG AATGGGTT (SEQ ID NO: 132)	GGAACCCATTC CTGAAATTAT (SEQ ID NO: 144)	ATAATTTCAGG AATGGGTTCC (SEQ ID NO:156)
1869	3'UTR	ACCCATTCCTG AAATTATT (SEQ ID NO: 121)	AATAATTTCAG GAATGGGT (SEQ ID NO: 133)	GAACCCATTCC TGAAATTATT (SEQ ID NO: 145)	AATAATTTCAG GAATGGGTTC (SEQ ID NO: 157)
1870	3'UTR	CCCATTCCTGA AATTATTT (SEQ ID NO: 122)	AAATAATTTCA GGAATGGG (SEQ ID NO: 134)	AACCCATTCCT GAAATTATTT (SEQ ID NO: 146)	AAATAATTTCA GGAATGGGTT (SEQ ID NO: 158)
2079	3'UTR	CTGTGGTTCTAT TATATTA (SEQ ID NO: 123)	TAATATAATAG AACCACAG (SEQ ID NO: 135)	CCCTGTGGTTCT ATTATATTA (SEQ ID NO: 147)	TAATATAATAG AACCACAGGG (SEQ ID NO: 159)
2109	3'UTR	AAATATGAGAG CATGCTAA (SEQ ID NO: 124)	TTAGCATGCTC TCATATTT (SEQ ID NO: 136)	TTAAATATGAG AGCATGCTAA (SEQ ID NO: 148)	TTAGCATGCTC TCATATTTAA (SEQ ID NO: 160)

[1045]

[1046] 한 실시양태에서, 억제 신호의 억제제는, 예를 들어 억제 분자에 결합하는 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 예를 들어, 작용제는 PD1, PD-L1, PD-L2 또는 CTLA4 (예를 들어, 이필리무맙 (MDX-010 및 MDX-101로도 지칭되고, 예르보이(Yervoy)®로서 시판됨; 브리스톨-마이어스 스퀴(Bristol-Myers Squibb)); 트레멜리무맙 (화이자(Pfizer)로부터 이용가능한 IgG2 모노클로날 항체, 이전에 티실리무맙, CP-675,206으로서 공지됨))에 결합하는 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 한 실시양태에서, 작용제는 TIM3에 결합하는 항체 또는 항체 단편이다. 한 실시양태에서, 작용제는 LAG3에 결합하는 항체 또는 항체 단편이다. 실시양태에서, CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제, 예를 들어 억제 분자의 억제제는 동종 CAR, 예를 들어 본원에 기재된 동종 CAR (예를 들어, 본원의 동종 CAR 섹션에 기재된)과 조합되어 투여된다.

[1047] PD-1은 CD28, CTLA-4, ICOS, 및 BTLA를 또한 포함하는 CD28 패밀리의 수용체의 억제 구성원이다. PD-1은 활성화된 B 세포, T 세포 및 골수 세포 상에서 발현된다 (Agata et al. 1996 Int. Immunol 8:765-75). PD-1에 대한 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2는 PD-1에 결합 시 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 제시된 바 있다 (Freeman et al. 2000 J Exp Med 192:1027-34; Latchman et al. 2001 Nat Immunol 2:261-8; Carter et al. 2002 Eur J Immunol 32:634-43). PD-L1은 인간 암에서 풍부하다 (Dong et al. 2003 J Mol Med 81:281-7; Blank et al. 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314; Konishi et al. 2004 Clin Cancer Res 10:5094). 면역 억제는 PD-1과 PD-L1의 국부 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있다.

[1048] PD-1, PD-L1 및 PD-L2의 항체, 항체 단편 및 다른 억제제는 관련 기술분야에서 입수가능하고, 본원에 기재된 본 발명의 CAR과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 니볼루맙 (BMS-936558 또는 MDX1106으로도 지칭됨; 브리스톨-마이어스 스퀴)은 PD-1을 특이적으로 차단하는 완전 인간 IgG4 모노클로날 항체이다. 니볼루맙 (클론 5C4) 및 PD-1에 특이적으로 결합하는 다른 인간 모노클로날 항체는 US 8,008,449 및 WO2006/121168에 기재되어 있다. 피딜리주맙 (CT-011; 큐어 테크(Cure Tech))은 PD-1에 결합하는 인간화 IgG1k 모노클로날 항체이다. 피딜리주맙 및 다른 인간화 항-PD-1 모노클로날 항체는 WO2009/101611에 기재되어 있다. 펨브롤리주맙 (이전에 람브롤

리주맙으로 공지되고, MK03475로도 지칭됨; 머크(Merck))은 PD-1에 결합하는 인간화 IgG4 모노클로날 항체이다. 펨브롤리주맙 및 다른 인간화 항-PD-1 항체는 US 8,354,509 및 WO2009/114335에 개시되어 있다. MEDI4736 (메드이뮨(Medimmune))은 PDL1에 결합하는 인간 모노클로날 항체이고, 리간드가 PD1과 상호작용하는 것을 억제한다. MDPL3280A (제넨테크/로슈)는 PD-L1에 결합하는 인간 Fc 최적화된 IgG1 모노클로날 항체이다. MDPL3280A 및 PD-L1에 대한 다른 인간 모노클로날 항체는 미국 특허 번호 7,943,743 및 미국 특허 출원 공개 번호 20120039906에 개시되어 있다. 다른 항-PD-L1 결합제는 YW243.55.S70 (중쇄 및 경쇄 가변 영역이 WO2010/077634의 서열식별번호: 20 및 21에 제시되어 있음) 및 MDX-1 105 (BMS-936559로도 지칭됨, 예를 들어 WO2007/005874에 개시된 항-PD-L1 결합제)를 포함한다. AMP-224 (B7-DCIg; 암플리뮨 (Amplimmune); 예를 들어 WO2010/027827 및 WO2011/066342에 개시됨)는 PD-1 및 B7-H1 사이의 상호작용을 차단하는 PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체이다. 다른 항-PD-1 항체는 AMP 514 (암플리뮨), 특히 예를 들어 US 8,609,089, US 2010028330 및/또는 US 20120114649에 개시된 항-PD-1 항체를 포함한다.

[1049] 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 그 전문이 참조로 포함되는 US 2015/0210769, 표제 "Antibody Molecules to PD-1 and Uses Thereof"에 기재된 바와 같은 항-PD-1 항체 분자이다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체 분자는 BAP049-hum01, BAP049-hum02, BAP049-hum03, BAP049-hum04, BAP049-hum05, BAP049-hum06, BAP049-hum07, BAP049-hum08, BAP049-hum09, BAP049-hum10, BAP049-hum11, BAP049-hum12, BAP049-hum13, BAP049-hum14, BAP049-hum15, BAP049-hum16, BAP049-Clone-A, BAP049-Clone-B, BAP049-Clone-C, BAP049-Clone-D, 또는 BAP049-Clone-E 중 임의의 것으로부터 선택된; 또는 US 2015/0210769의 표 1에 기재된 바와 같은, 또는 표 1의 뉴클레오티드 서열, 또는 상기 서열 중 임의의 것과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 초과로 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR (또는 집합적으로 모든 CDR); 또는 밀접하게 관련된 CDR, 예를 들어 동일하거나 또는 적어도 1개의 아미노산 변경을 갖지만 2, 3 또는 4개 이하의 변경 (예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 CDR을 포함한다.

[1050] 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 분자는 본원에 기재된 항체, 예를 들어 BAP049-hum01, BAP049-hum02, BAP049-hum03, BAP049-hum04, BAP049-hum05, BAP049-hum06, BAP049-hum07, BAP049-hum08, BAP049-hum09, BAP049-hum10, BAP049-hum11, BAP049-hum12, BAP049-hum13, BAP049-hum14, BAP049-hum15, BAP049-hum16, BAP049-Clone-A, BAP049-Clone-B, BAP049-Clone-C, BAP049-Clone-D, 또는 BAP049-Clone-E 중 임의의 것으로부터 선택된; 또는 US 2015/0210769의 표 1에 기재된 바와 같은, 또는 표 1의 뉴클레오티드 서열; 또는 상기 서열 중 임의의 것과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 초과로 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체로부터의 적어도 1, 2, 3 또는 4개의 가변 영역을 포함한다.

[1051] TIM3 (T 세포 이뮤노글로불린-3)은 또한, 특히 IFN-g-분비 CD4+ T 헬퍼 1 및 CD8+ T 세포독성 1 세포에서 T 세포 기능을 음성적으로 조절하고, T 세포 소진에서 중요한 역할을 한다. TIM3 및 그의 리간드, 예를 들어 갈렉틴-9 (Gal9), 포스포티딜세린 (PS), 및 HMGB1 사이의 상호작용의 억제는 면역 반응을 증가시킬 수 있다. TIM3 및 그의 리간드의 항체, 항체 단편, 및 다른 억제제는 관련 기술분야에서 이용가능하고, 본원에 기재된 CD19 CAR과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, TIM3을 표적화하는 항체, 항체 단편, 소분자, 또는 펩티드 억제제는 TIM3의 IgV 도메인에 결합하여, 그의 리간드와의 상호작용을 억제한다. TIM3을 억제하는 항체 및 펩티드는 WO2013/006490 및 US20100247521에 개시되어 있다. 다른 항-TIM3 항체는 인간화 버전의 RMT3-23 (문헌 [Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551]에 개시됨), 및 클론 8B.2C12 (문헌 [Monney et al., 2002, Nature, 415:536-541]에 개시됨)를 포함한다. TIM3 및 PD-1을 억제하는 이중-특이적 항체는 US20130156774에 개시되어 있다.

[1052] 한 실시양태에서, 항-TIM3 항체 또는 그의 단편은 그 전문이 참조로 포함되는 US 2015/0218274, 표제 "Antibody Molecules to TIM3 and Uses Thereof"에 기재된 바와 같은 항-TIM3 항체 분자이다. 한 실시양태에서, 항-TIM3 항체 분자는 ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23 중 임의의 것으로부터 선택된; 또는 US 2015/0218274의 표 1-4에 기재된 바와 같은; 또는 표 1-4의 뉴클레오티드 서열; 또는 상기 서열 중 임의의 것과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 초과로 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역으로부터의 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR (또는 집합적으로 모든 CDR), 또는 밀접하게 관련된 CDR, 예를 들어 동일하거나 또는 적어도 1개의 아미노산 변경을 갖지만 2, 3 또는

4개 이하의 변경 (예를 들어, 치환, 결실, 또는 삽입, 예를 들어 보존적 치환)을 갖는 CDR을 포함한다.

[1053] 또 다른 실시양태에서, 항-TIM3 항체 분자는 본원에 기재된 항체, 예를 들어 ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23 중 임의의 것으로부터 선택된; 또는 US 2015/0218274의 표 1-4에 기재된 바와 같은, 또는 표 1-4의 뉴클레오티드 서열; 또는 상기 서열 중 임의의 것과 실질적으로 동일한 (예를 들어, 적어도 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 그 초과로 동일한) 서열에 의해 코딩된 항체로부터의 적어도 1, 2, 3 또는 4개의 가변 영역을 포함한다.

[1054] 다른 실시양태에서, CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 CEACAM 억제제 (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3, 및/또는 CEACAM-5 억제제)이다. 한 실시양태에서, CEACAM의 억제제는 항-CEACAM 항체 분자이다. 예시적인 항-CEACAM-1 항체, 예를 들어 모노클로날 항체 34B1, 26H7, 및 5F4가 WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 및 WO 2014/022332에 기재되어 있거나; 또는 그의 재조합 형태는 예를 들어 US 2004/0047858, US 7,132,255 및 WO 99/052552에 기재된 바와 같다. 다른 실시양태에서, 항-CEACAM 항체는 예를 들어 문헌 [Zheng et al. PLoS One. 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529 (DOI:10:1371/journal.pone.0021146)]에 기재된 바와 같이 CEACAM-5에 결합하거나, 또는 예를 들어 WO 2013/054331 및 US 2014/0271618에 기재된 바와 같이 CEACAM-1 및 CEACAM-5와 교차반응한다.

[1055] 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 암배아성 항원 세포 부착 분자 (CEACAM), 예컨대 CEACAM-1 및 CEACAM-5는, 적어도 부분적으로, 항종양 면역 반응의 억제를 매개하는 것으로 여겨진다 (예를 들어, 문헌 [Markel et al. J Immunol. 2002 Mar 15;168(6):2803-10; Markel et al. J Immunol. 2006 Nov 1;177(9):6062-71; Markel et al. Immunology. 2009 Feb;126(2):186-200; Markel et al. Cancer Immunol Immunother. 2010 Feb;59(2):215-30; Ortenberg et al. Mol Cancer Ther. 2012 Jun;11(6):1300-10; Stern et al. J Immunol. 2005 Jun 1;174(11):6692-701; Zheng et al. PLoS One. 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529] 참조). 예를 들어, CEACAM-1은 TIM-3에 대한 이종친화성 리간드로서 및 TIM-3-매개 T 세포 관용 및 소진에서 역할을 하는 것으로서 기재되어 있다 (예를 들어, WO 2014/022332; 문헌 [Huang, et al. (2014) Nature doi:10.1038/nature13848] 참조). 실시양태에서, CEACAM-1 및 TIM-3의 공동-차단은 이종이식편 결장직장암 모델에서 항종양 면역 반응을 증진시키는 것으로 밝혀진 바 있다 (예를 들어, WO 2014/022332; 상기 문헌 [Huang, et al. (2014)] 참조). 다른 실시양태에서, CEACAM-1 및 PD-1의 공동-차단은 예를 들어 WO 2014/059251에 기재된 바와 같이 T 세포 관용을 감소시킨다. 따라서, CEACAM 억제제는 본원에 기재된 다른 면역조정제 (예를 들어, 항-PD-1 및/또는 항-TIM-3 억제제)와 함께 사용되어 암, 예를 들어 흑색종, 폐암 (예를 들어, NSCLC), 방광암, 결장암, 난소암 및 본원에 기재된 바와 같은 다른 암에 대한 면역 반응을 증진시킬 수 있다.

[1056] LAG3 (림프구 활성화 유전자-3 또는 CD223)은 CD8+ T 세포 소진에서 소정의 역할을 하는 것으로 밝혀진 바 있는, 활성화된 T 세포 및 B 세포 상에서 발현되는 세포 표면 분자이다. LAG3 및 그의 리간드의 항체, 항체 단편, 및 다른 억제제는 관련 기술분야에서 이용가능하고, 본원에 기재된 CD19 CAR과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, BMS-986016 (브리스톨-마이어스 스퀴)은 LAG3을 표적화하는 모노클로날 항체이다. IMP701 (이뮤텝 (Immutep))은 길항제 LAG3 항체이고, IMP731 (이뮤텝 및 글락소스미스클라인(GlaxoSmithKline))은 고갈 LAG3 항체이다. 다른 LAG3 억제제는, MHC 부류 II 분자에 결합하고 항원 제시 세포 (APC)를 활성화시키는 LAG3의 가용성 부분 및 Ig의 재조합 융합 단백질인 IMP321 (이뮤텝)을 포함한다. 다른 항체는 예를 들어 WO2010/019570에 개시되어 있다.

[1057] 일부 실시양태에서, CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 예를 들어, 제1 도메인 및 제2 도메인을 포함하는 융합 단백질일 수 있고, 여기서 제1 도메인은 억제 분자 또는 그의 단편이고, 제2 도메인은 양성 신호와 연관된 폴리펩티드, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, 양성 신호와 연관된 폴리펩티드는 CD28, CD27, ICOS의 공동자극 도메인, 예를 들어 CD28, CD27 및/또는 ICOS의 세포내 신호전달 도메인, 및/또는 예를 들어 본원에 기재된, 예를 들어 CD3 제타의 1차 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 융합 단백질은 CAR을 발현하는 동일한 세포에 의해 발현된다. 또 다른 실시양태에서, 융합 단백질은 CAR을 발현하지 않는 세포, 예를 들어 T 세포에 의해 발현된다.

[1058] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 miR-17-92이다.

[1059] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR의 활성을 증진시키는 작용제는 시토카인이다. 시토카인은 T 세포 확장,

분화, 생존, 및 항상성과 관련하여 중요한 기능을 갖는다. 본원에 기재된 CAR-발현 세포를 제공받은 대상체에게 투여될 수 있는 시토카인은 IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18, 및 IL-21, 또는 그의 조합을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 투여되는 시토카인은 IL-7, IL-15, 또는 IL-21, 또는 그의 조합이다. 시토카인은 1일에 1회, 또는 1일에 1회 초과, 예를 들어 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 1일에 4회 투여될 수 있다. 시토카인은 1일 초과 동안 투여될 수 있고, 예를 들어 시토카인은 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주 또는 4주 동안 투여된다. 예를 들어, 시토카인은 7일 동안 1일에 1회 투여된다.

[1060] 실시양태에서, 시토카인은 CAR-발현 T 세포와 조합되어 투여된다. 시토카인은 CAR-발현 T 세포와 동시에 또는 공동으로 투여, 예를 들어 동일한 날에 투여될 수 있다. 시토카인은 CAR-발현 T 세포와 동일한 제약 조성물 내에 제조될 수 있거나, 또는 개별 제약 조성물로 제조될 수 있다. 대안적으로, 시토카인은 CAR-발현 T 세포의 투여 직후, 예를 들어 CAR-발현 T 세포의 투여 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 또는 7일 후에 투여될 수 있다. 시토카인이 1일 초과에 걸쳐 이루어지는 투여 요법으로 투여되는 실시양태에서, 시토카인 투여 요법의 제1일은 CAR-발현 T 세포에 의한 투여와 동일한 날일 수 있거나, 또는 시토카인 투여 요법의 제1일은 CAR-발현 T 세포의 투여 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 또는 7일 후일 수 있다. 한 실시양태에서, 제1일에 CAR-발현 T 세포가 대상체에게 투여되고, 제2일에 시토카인이 다음 7일 동안 1일에 1회 투여된다. 바람직한 실시양태에서, CAR-발현 T 세포와 조합되어 투여되는 시토카인은 IL-7, IL-15, 또는 IL-21이다.

[1061] 다른 실시양태에서, 시토카인은 CAR-발현 세포의 투여의 소정의 기간 후, 예를 들어 CAR-발현 세포의 투여의 적어도 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 10주, 12주, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 1년 또는 그 초과 후에 투여된다. 한 실시양태에서, 시토카인은 CAR-발현 세포에 대한 대상체의 반응의 평가 후에 투여된다. 예를 들어, 본원에 기재된 투여량 및 요법에 따라 대상체에게 CAR-발현 세포가 투여된다. CAR-발현 세포 요법에 대한 대상체의 반응은 종양 성장의 억제, 순환 종양 세포의 감소, 또는 종양 퇴행을 포함한 본원에 기재된 임의의 방법을 사용하여, CAR-발현 세포의 투여의 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 10주, 12주, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 1년 또는 그 초과 후에 평가된다. CAR-발현 세포 요법에 대해 충분한 반응을 나타내지 않는 대상체에게 시토카인이 투여될 수 있다. CAR-발현 세포 요법에 대해 준-최적 반응을 갖는 대상체에게의 시토카인의 투여는 CAR-발현 세포 효능 또는 항암 활성을 개선시킨다. 바람직한 실시양태에서, CAR-발현 세포의 투여 후에 투여되는 시토카인은 IL-7이다.

[1062] CD19 억제제와의 조합

[1063] 본원에 개시된 방법 및 조성물은 CD19 억제제와 조합되어 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-함유 세포, 예를 들어 NKR-CAR-함유 세포 및 CD19 억제제 (예를 들어, CD19에 결합하는 CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CD19에 결합하는 CAR 분자를 발현하는 1종 이상의 세포)는 동시에 또는 공동으로 또는 순차적으로 투여된다.

[1064] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-함유 세포 및 CD19 억제제는 대상체 내로 동시에 또는 공동으로 주입되고, 예를 들어 동일한 주입 부피로 혼합된다. 예를 들어, CAR-함유 세포 및 CD19CAR-함유 세포의 집단은 함께 혼합된다. 대안적으로, 본원에 기재된 CAR 및 CD19CAR을 공동-발현하는 세포의 집단이 투여된다. 다른 실시양태에서, 동시 투여는 CAR-함유 세포 및 CD19 억제제의, 예를 들어 미리 결정된 시간 간격 내 (예를 들어, 서로 15, 30, 또는 45분 내)에서의 개별 투여를 포함한다.

[1065] 일부 실시양태에서, CAR-함유 세포의 시작 및 CD19 억제제의 시작은 서로 1, 2, 3, 4, 6, 12, 18, 또는 24시간 내, 또는 서로 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 60, 80, 또는 100일 내이다. 일부 실시양태에서, CAR-함유 세포 전달의 종료 및 CD19 억제제 전달의 종료는 서로 1, 2, 3, 4, 6, 12, 18, 또는 24시간 내, 또는 서로 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 60, 80, 또는 100일 내이다. 일부 실시양태에서, 투여와 관련하여 CAR-함유 세포 전달 (예를 들어, 주입)과 CD19 억제제 전달 (예를 들어, 주입)의 종료 사이의 중첩은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30분이다. 한 실시양태에서, CD19 억제제는 CAR-함유 세포 전에 투여된다. 다른 실시양태에서, CAR-함유 세포는 CD19 억제제 전에 투여된다.

[1066] 일부 실시양태에서, CAR-함유 세포는 CD19 억제제 (예를 들어, CD19CAR 분자를 발현하는 하나 이상의 세포)가 대상체 내에 존재하는 (예를 들어, 세포가 확장을 거치고 있는) 동안 투여된다. 다른 실시양태에서, CD19 억제제 (예를 들어, CD19CAR 분자를 발현하는 하나 이상의 세포)는 CAR-함유 세포가 대상체 내에 존재하는 (예를 들어, 세포가 확장을 거치로 있는) 동안 투여된다.

[1067] CD19 억제제는 CD19 CAR-발현 세포, 예를 들어 CD19 CART 세포 또는 항-CD19 항체 (예를 들어, 항-CD19 단일-

또는 이중특이적 항체) 또는 그의 단편 또는 접합체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[1068] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 CD19 CAR-세포 (예를 들어, CART 세포) (예를 들어 본원에 참조로 포함되는 WO2012/079000에 기재된 바와 같은 예를 들어 CTL019)와 조합되어 대상체에게 투여된다.

[1069] 다른 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 본원에 참조로 포함되는 WO2014/153270 (예를 들어, WO2014/153270의 표 3)에 기재된 바와 같은 인간화 항원 결합 도메인을 포함하는 CD19 CAR-세포 (예를 들어, CART 세포)와 조합되어 대상체에게 투여된다.

[1070] CD19 억제제 (예를 들어, 제1 CD19 CAR-발현 세포) 및 제2 CAR-발현 세포는 동일한 세포 유형 또는 상이한 유형에 의해 발현될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, CD19 CAR을 발현하는 세포는 CD4+ T 세포이고 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 CD8+ T 세포이거나, 또는 CD19 CAR을 발현하는 세포는 CD8+ T 세포이고 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 CD4+ T 세포이다. 다른 실시양태에서, CD19 CAR을 발현하는 세포는 T 세포이고 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 NK 세포이거나, 또는 CD19 CAR을 발현하는 세포는 NK 세포이고 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 T 세포이다. 다른 실시양태에서, CD19 CAR을 발현하는 세포 및 본원에 기재된 CAR을 발현하는 세포는 둘 다 NK 세포이거나 또는 둘 다 T 세포이고, 예를 들어 둘 다 CD4+ T 세포이거나 또는 둘 다 CD8+ T 세포이다. 또 다른 실시양태에서, 단일 세포가 CD19 CAR 및 본원에 기재된 CAR을 발현하고, 이 세포는 예를 들어 NK 세포 또는 T 세포, 예컨대 CD4+ T 세포 또는 CD8+ T 세포이다.

[1071] 실시양태에서, 대상체는 급성 골수성 백혈병 (AML), 예를 들어 CD19 양성 AML 또는 CD19 음성 AML을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 CD19+ 림프종, 예를 들어 CD19+ 비-호지킨 림프종 (NHL), CD19+ FL, 또는 CD19+ DLBCL을 갖는다. 실시양태에서, 대상체는 재발성 또는 불응성 CD19+ 림프종을 갖는다. 실시양태에서, 림프구고갈 화학요법은 CD19 CART 세포의 투여 (예를 들어, 주입) 전, 그와 공동으로, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다. 한 예에서, 림프구고갈 화학요법은 CD19 CART 세포의 투여 전 대상체에게 투여된다. 예를 들어, 림프구고갈 화학요법은 CD19 CART 세포 주입의 1-4일 (예를 들어, 1, 2, 3, 또는 4일) 전에 종료된다. 실시양태에서, CD19 CART 세포의 다중 용량은, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 투여된다. 예를 들어, 단일 용량은 약 5×10^8 개의 CD19 CART 세포를 포함한다. 실시양태에서, 림프구고갈 화학요법은 본원에 기재된 CAR-발현 세포, 예를 들어 비-CD19 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입) 전, 그와 공동으로, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다. 실시양태에서, CD19 CART는 비-CD19 CAR-발현 세포, 예를 들어 본원에 기재된 비-CD19 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입) 전, 그와 공동으로, 또는 그 후에 대상체에게 투여된다.

[1072] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 본원에 기재된 종양 항원의 발현과 연관된 질환, 예를 들어 본원에 기재된 암의 치료를 위해 CD19 CAR-발현 세포, 예를 들어 본원에 참조로 포함되는 WO2012/079000에 기재된 바와 같은 예를 들어 CTL019와 조합되어 대상체에게 투여된다. 이론에 얽매이지는 않지만, CD19 CAR-발현 세포를 CAR-발현 세포와 조합하여 투여하는 것은 초기 계열 암 세포, 예를 들어 암 줄기 세포를 표적화하고/거나, 면역 반응을 조정하고/거나, 조절 B 세포를 고갈시키고/거나, 종양 미세환경을 개선시킴으로써 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 효능을 개선시키는 것으로 여겨진다. 예를 들어, CD19 CAR-발현 세포는 초기 계열 마커를 발현하는 암 세포, 예를 들어 암 줄기 세포 및 CD19-발현 세포를 표적화하는 한편, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 후기 계열 마커, 예를 들어 CD123을 발현하는 암 세포를 표적화한다. 이러한 사전컨디셔닝 접근법은 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 효능을 개선시킬 수 있다. 이러한 실시양태에서, CD19 CAR-발현 세포는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 (예를 들어, 주입) 전, 그와 공동으로, 또는 그 후에 투여된다.

[1073] 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR-발현 세포는 또한 CD19를 표적화하는 CAR, 예를 들어 CD19 CAR을 발현한다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 및 CD19 CAR을 발현하는 세포는 본원에 기재된 암, 예를 들어 AML의 치료를 위해 대상체에게 투여된다. 한 실시양태에서, CAR 분자 중 하나 또는 둘 다의 구성은 1차 세포내 신호전달 도메인 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, CAR 분자 중 하나 또는 둘 다의 구성은 1차 세포내 신호전달 도메인 및 2개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 또는 5개 또는 그 초과의 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 분자 및 CD19 CAR은 동일하거나 상이한 1차 세포내 신호전달 도메인, 동일하거나 상이한 공동자극 신호전달 도메인, 또는 동일한 수 또는 상이한 수의 공동자극 신호전달 도메인을 가질 수 있다. 대안적으로, 본원에 기재된 CAR 및 CD19 CAR은 스플릿 CAR로서 구성되고, 여기서 CAR 분자 중 하나는 항원 결합 도메인 및 공동자극 도메인 (예를 들어, 4-1BB)을 포함하는 한편, 다른 CAR 분자는 항원 결합 도메인 및 1차 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3 제타)을 포함한다.

[1074] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 CAR 및 제2 CAR, 예를 들어 CD19 CAR은 동일한 벡터 상에 있거나, 2개의 상이한 벡터 상에 있다. 본원에 기재된 CAR 및 제2 CAR, 예를 들어 CD19 CAR이 동일한 벡터 상에 있는 실시양태에

서, 본원에 기재된 CAR 및 제2 CAR, 예를 들어 CD19 CAR을 코딩하는 핵산 서열은 동일한 프레임 내에 존재하고, 1개 이상의 펩티드 절단 부위, 예를 들어 P2A에 의해 분리된다.

[1075] 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 CAR-발현 세포는 항-CD19 항체 억제제와 조합되어 투여된다. 한 실시양태에서, 항-CD19 항체는 본원에 참조로 포함되는 WO2014/153270 (예를 들어, WO2014/153270의 표 3)에 기재된 바와 같은 인간화 항원 결합 도메인 또는 그의 접합체이다. 다른 예시적인 항-CD19 항체 또는 그의 단편 또는 접합체는 블리나투모맙, SAR3419 (사노피(Sanofi)), MEDI-551 (메드이뮨 엘엘씨(MedImmune LLC)), 콤보톡스, DT2219ARL (매소닉 암 센터), MOR-208 (XmAb-5574로도 불림; 모르포시스(MorphoSys)), XmAb-5871 (젠코르(Xencor)), MDX-1342 (브리스톨-마이어스 스퀴(Bristol-Myers Squibb)), SGN-CD19A (시애틀 제네틱스(Seattle Genetics)), 및 AFM11 (아피메드 테라퓨틱스(Affimed Therapeutics))을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 문헌 [Hammer. MAbs. 4.5(2012): 571-77]을 참조한다. 블리나투모맙은 2개의 scFv - CD19에 결합하는 것과 CD3에 결합하는 것으로 구성된 이중특이적 항체이다. 블리나투모맙은 T 세포가 암 세포를 공격할 것을 지시한다. 예를 들어, 문헌 [Hammer et al.; 임상 시험 식별자 번호 NCT00274742 및 NCT01209286]을 참조한다. MEDI-551은 증진된 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 갖도록 조작된 Fc를 갖는 인간화 항-CD19 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Hammer et al.; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT01957579]를 참조한다. 콤보톡스는 CD19 및 CD22에 결합하는 면역독소의 혼합물이다. 면역독소는 탈글리코실화 리신 A 쇄에 융합된 scFv 항체 단편으로 구성된다. 예를 들어, 문헌 [Hammer et al.; 및 Herrera et al. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 31.12(2009):936-41; Schindler et al. Br. J. Haematol. 154.4(2011):471-6]을 참조한다. DT2219ARL은 2개의 scFv 및 말단절단된 디프테리아 독소를 포함하는, CD19 및 CD22를 표적화하는 이중특이적 면역독소이다. 예를 들어, 문헌 [Hammer et al.; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT00889408]을 참조한다. SGN-CD19A는 합성 세포독성 세포-사멸제, 모노메틸 아우리스타틴 F (MMAF)에 연결된 항-CD19 인간화 모노클로날 항체로 구성된 항체-약물 접합체 (ADC)이다. 예를 들어, 문헌 [Hammer et al.; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT01786096 및 NCT01786135]를 참조한다. SAR3419는 절단가능한 링커를 통해 메이탄신 유도체에 접합된 항-CD19 인간화 모노클로날 항체를 포함하는 항-CD19 항체-약물 접합체 (ADC)이다. 예를 들어, 문헌 [Younes et al. J. Clin. Oncol. 30.2(2012): 2776-82; Hammer et al.; 임상 시험 식별자 번호 NCT00549185; 및 Blanc et al. Clin Cancer Res. 2011;17:6448-58]을 참조한다. XmAb-5871은 Fc-조작된, 인간화 항-CD19 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Hammer et al.]을 참조한다. MDX-1342는 증진된 ADCC를 갖는 인간 Fc-조작된 항-CD19 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Hammer et al.]을 참조한다. 실시양태에서, 항체 분자는 이중특이적 항-CD19 및 항-CD3 분자이다. 예를 들어, AFM11은 CD19 및 CD3을 표적화하는 이중특이적 항체이다. 예를 들어, 문헌 [Hammer et al.; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT02106091]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 항-CD19 항체는 치료제, 예를 들어 화학요법제, 펩티드 백신 (예컨대 문헌 [Izumoto et al. 2008 J Neurosurg 108:963-971]에 기재된 것), 면역억제제 또는 면역절제제, 예를 들어 시클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 미코페놀레이트, FK506, 캄파트, 항-CD3 항체, 시톡신, 플루다라빈, 라파마이신, 미코페놀산, 스테로이드, FR901228 또는 시토카인에 접합되거나 또는 달리 결합된다.

[1076] 낮은 용량의 mTOR 억제제와의 조합

[1077] 본원에 기재된 방법은 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어 라파로그, 예컨대 RAD001을 포함한 알로스테릭 mTOR 억제제를 사용한다. 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제 (예를 들어, 면역계를 완전히 억제하기에 불충분하지만 면역 기능을 개선시키기에는 충분한 용량)의 투여는 대상체에서 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 CAR-발현 세포의 성능을 최적화할 수 있다. mTOR 억제를 측정하는 방법, 투여량, 치료 요법, 및 적합한 제약 조성물은 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 번호 2015/01240036에 기재되어 있다.

[1078] 한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는 하기:

[1079] i) PD-1 양성 면역 이펙터 세포의 수에서의 감소;

[1080] ii) PD-1 음성 면역 이펙터 세포의 수에서의 증가;

[1081] iii) PD-1 음성 면역 이펙터 세포 / PD-1 양성 면역 이펙터 세포의 비에서의 증가;

[1082] iv) 나이브 T 세포의 수에서의 증가;

[1083] v) 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 하기 마커 중 1종 이상의 발현에서의 증가: $CD62L^{고}$, $CD127^{고}$, $CD27^{+}$, 및 BCL2;

[1084] vi) 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 KLRG1의 발현에서의 감소; 또는

[1085] vii) 기억 T 세포 전구체, 예를 들어 하기 특징 중 어느 하나 또는 그의 조합을 갖는 세포의 수에서의 증가: 증가된 $CD62L^{고}$, 증가된 $CD127^{고}$, 증가된 $CD27^{+}$, 감소된 KLRG1, 및 증가된 BCL2

[1086] 중 1종 이상을 발생시킬 수 있고; 여기서 상기 중 임의의 것, 예를 들어 i), ii), iii), iv), v), vi), 또는 vii)은 예를 들어 비-처리 대상체와 비교하여 예를 들어 적어도 일시적으로 발생한다.

[1087] 또 다른 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는, 예를 들어 배양물 또는 대상체에서, 예를 들어 비-처리 CAR-발현 세포 또는 비-처리 대상체와 비교하여 CAR-발현 세포의 증가 또는 연장된 증식을 발생시킨다. 실시양태에서, 증가된 증식은 CAR-발현 세포의 수에서의 증가와 연관된다. 증가 또는 연장된 증식을 측정하는 방법은 실시예 9 및 10에 기재되어 있다. 또 다른 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는, 예를 들어 배양물 또는 대상체에서, 예를 들어 비-처리 CAR-발현 세포 또는 비-처리 대상체와 비교하여 CAR-발현 세포에 의한 암 세포의 증가된 사멸을 발생시킨다. 실시양태에서, 암 세포의 증가된 사멸은 종양 부피에서의 감소와 연관된다. 암 세포의 증가된 사멸을 측정하는 방법은 실시예 2에 기재되어 있다.

[1088] 한 실시양태에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하는 세포는 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어 알로스테릭 mTOR 억제제, 예를 들어 RAD001, 또는 촉매 mTOR 억제제와 조합되어 투여된다. 예를 들어, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 전에 개시되거나; 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 전에 완결되거나; 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여와 동시에 개시되거나; 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여와 중첩되거나; 또는 본원에 기재된 CAR-발현 세포의 투여 후에 계속될 수 있다.

[1089] 대안적으로 또는 추가로, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 투여는 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하도록 조작하기 위해 면역 이펙터 세포를 최적화할 수 있다. 이러한 실시양태에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어 알로스테릭 억제제, 예를 들어 RAD001, 또는 촉매 억제제의 투여는 대상체로부터 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하도록 조작하기 위해 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 수거 전에 개시 또는 완결된다.

[1090] 또 다른 실시양태에서, 예를 들어 대상체로부터의 수거 후의 본원에 기재된 CAR 분자를 발현하도록 조작하기 위한 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포, 또는 예를 들어 대상체에의 투여 전의 CAR-발현 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포는 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 존재 하에 배양될 수 있다.

[1091] 한 실시양태에서, 대상체에게 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제를 투여하는 것은, 예를 들어 1주에 1회, 예를 들어 즉시 방출 투여 형태로, 0.1 내지 20, 0.5 내지 10, 2.5 내지 7.5, 3 내지 6, 또는 약 5 mg의 RAD001 또는 그의 생물학적 등가 양을 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 대상체에게 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제를 투여하는 것은, 예를 들어 1주에 1회, 예를 들어 지속 방출 투여 형태로, 0.3 내지 60, 1.5 내지 30, 7.5 내지 22.5, 9 내지 18, 또는 약 15 mg의 RAD001, 또는 그의 생물학적 등가 양을 투여하는 것을 포함한다.

[1092] 한 실시양태에서, mTOR 억제제의 용량은 적어도 5 내지 90% 이하, 적어도 10 내지 90% 이하, 적어도 15 내지 90% 이하, 적어도 20 내지 90% 이하, 적어도 30 내지 90% 이하, 적어도 40 내지 90% 이하, 적어도 50 내지 90% 이하, 적어도 60 내지 90% 이하, 적어도 70 내지 90% 이하, 적어도 5 내지 80% 이하, 적어도 10 내지 80% 이하, 적어도 15 내지 80% 이하, 적어도 20 내지 80% 이하, 적어도 30 내지 80% 이하, 적어도 40 내지 80% 이하, 적어도 50 내지 80% 이하, 적어도 60 내지 80% 이하, 적어도 5 내지 70% 이하, 적어도 10 내지 70% 이하, 적어도 15 내지 70% 이하, 적어도 20 내지 70% 이하, 적어도 30 내지 70% 이하, 적어도 40 내지 70% 이하, 적어도 50 내지 70% 이하, 적어도 5 내지 60% 이하, 적어도 10 내지 60% 이하, 적어도 15 내지 60% 이하, 적어도 20 내지 60% 이하, 적어도 30 내지 60% 이하, 적어도 40 내지 60% 이하, 적어도 5 내지 50% 이하, 적어도 10 내지 50% 이하, 적어도 15 내지 50% 이하, 적어도 20 내지 50% 이하, 적어도 30 내지 50% 이하, 적어도 40 내지 50% 이하, 적어도 5 내지 40% 이하, 적어도 10 내지 40% 이하, 적어도 15 내지 40% 이하, 적어도 20 내지 40% 이하, 적어도 30 내지 40% 이하, 적어도 35 내지 40% 이하, 적어도 5 내지 30% 이하, 적어도 10 내지 30% 이하, 적어도 15 내지 30% 이하, 적어도 20 내지 30% 이하, 또는 적어도 25 내지 30% 이하의 mTOR 억제와 연관되거나 또는 mTOR 억제를 제공한다.

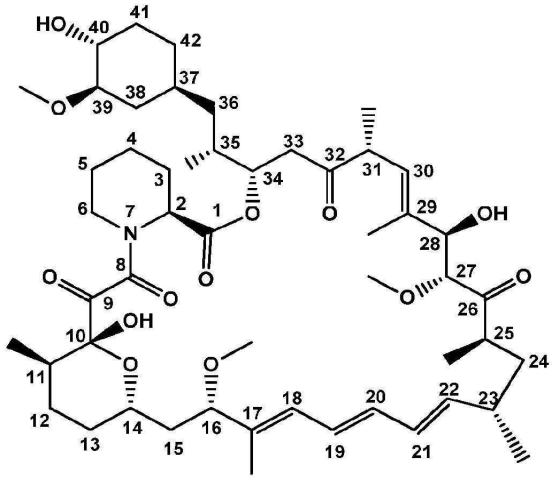
[1093] mTOR 억제의 정도는 P70 S6 키나제 억제의 정도로서 나타내어질 수 있거나 그에 상응하고, 예를 들어 mTOR 억제

의 정도는 P70 S6 키나제 활성에서의 감소 수준에 의해, 예를 들어 P70 S6 키나제 기질의 인산화에서의 감소에 의해 결정될 수 있다. mTOR 억제의 수준은 다양한 방법, 예컨대 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 번호 2015/01240036에 기재된 바와 같은, 또는 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 7,727,950에 기재된 바와 같은 불레이 검정에 의해 P70 S6 키나제 활성을 측정하는 것; 웨스턴 블롯에 의해 인산화 S6의 수준을 측정하는 것; 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포 대 PD1 양성 면역 이펙터 세포의 비에서의 변화를 평가하는 것에 의해 평가될 수 있다.

[1094] 본원에 사용된 용어 "mTOR 억제제"는 세포에서 mTOR 키나제를 억제하는 화합물 또는 리간드, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 지칭한다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 알로스테릭 억제제이다. 알로스테릭 mTOR 억제제는 중성 트리시클릭 화합물 라파마이신 (시롤리무스), 예를 들어 라파마이신 유도체, 라파마이신 유사체 (라파로그로도 지칭됨) 및 mTOR 활성을 억제하는 다른 마크롤리드 화합물을 포함한 라파마이신과 구조적 및 기능적 유사성을 갖는 화합물인 라파마이신-관련 화합물을 포함한다. 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 촉매 억제제이다.

[1095] 라파마이신은 하기 화학식 A에 제시된 구조를 갖는 스트렙토미세스 히그로스코피쿠스(Streptomyces hygroscopicus)에 의해 생산된 공지된 마크롤리드 항생제이다.

[1096] <화학식 A>

[1097] 

[1098] 예를 들어, 문헌 [McAlpine, J.B., et al., J. Antibiotics (1991) 44: 688; Schreiber, S.L., et al., J. Am. Chem. Soc. (1991) 113: 7433]; 미국 특허 번호 3,929,992를 참조한다. 라파마이신에 대해 제안되는 다양한 넘버링 스킴이 존재한다. 혼동을 피하기 위해, 특정 라파마이신 유사체가 본원에서 명명되는 경우에, 명칭은 화학식 A의 넘버링 스킴을 사용하는 라파마이신과 관련하여 주어진다.

[1099] 본 발명에서 유용한 라파마이신 유사체는, 예를 들어 라파마이신의 시클로헥실 고리 상의 히드록실 기가 OR_1 (여기서 R_1은 히드록시알킬, 히드록시알콕시알킬, 아실아미노알킬 또는 아미노알킬임)에 의해 대체된 O-치환된 유사체; 예를 들어 그 내용이 참조로 포함되는 US 5,665,772 및 WO94/09010에 기재된 바와 같은 에베롤리무스로도 공지된 RAD001이다.

[1100] 다른 적합한 라파마이신 유사체는 26- 또는 28-위치에서 치환된 것을 포함한다. 라파마이신 유사체는 상기 언급된 유사체의 에피머, 특히 위치 40, 28 또는 26에서 치환된 유사체의 에피머일 수 있고, 예를 들어 그 내용이 참조로 포함되는 US 6,015,815, WO95/14023 및 WO99/15530에 기재된 바와 같이 임의로 추가로 수소화될 수 있다 (예를 들어 그 내용이 참조로 포함되는 US 7,091,213, WO98/02441 및 WO01/14387에 기재된 조타롤리무스로도 공지된 ABT578 또는 라파마이신 유사체, 예를 들어 리다포롤리무스로도 공지된 AP23573).

[1101] US 5,665,772로부터의 본 발명에서 사용하기에 적합한 라파마이신 유사체의 예는 40-O-벤질-라파마이신, 40-O-(4'-히드록시메틸)벤질-라파마이신, 40-O-[4'-(1,2-디히드록시에틸)]벤질-라파마이신, 40-O-알릴-라파마이신, 40-O-[3'-(2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4(S)-일)-프로프-2'-엔-1'-일]-라파마이신, (2'E,4'S)-40-O-(4',5'-디히드록시펜트-2'-엔-1'-일)-라파마이신, 40-O-(2-히드록시)에톡시카르보닐메틸-라파마이신, 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신, 40-O-(3-히드록시)프로필-라파마이신, 40-O-(6-히드록시)헥실-라파마이신, 40-O-[2-(2-히드록시)에톡시]에틸-라파마이신, 40-O-[(3S)-2,2-디메틸디옥솔란-3-일]메틸-라파마이신, 40-O-[(2S)-2,3-디히드록시프로

프-1-일]-라파마이신, 40-O-(2-아세톡시)에틸-라파마이신, 40-O-(2-니코티노일옥시)에틸-라파마이신, 40-O-[2-(N-모르폴리노)아세톡시]에틸-라파마이신, 40-O-(2-N-이미다졸릴아세톡시)에틸-라파마이신, 40-O-[2-(N-메틸-N'-피페라지닐)아세톡시]에틸-라파마이신, 39-O-데스메틸-39,40-O,O-에틸렌-라파마이신, (26R)-26-디히드로-40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신, 40-O-(2-아미노에틸)-라파마이신, 40-O-(2-아세트아미노에틸)-라파마이신, 40-O-(2-니코틴아미도에틸)-라파마이신, 40-O-(2-(N-메틸-이미다조-2'-일카르브에톡사미도)에틸)-라파마이신, 40-O-(2-에톡시카르보닐아미노에틸)-라파마이신, 40-O-(2-톨릴술폰아미도에틸)-라파마이신 및 40-O-[2-(4',5'-디카르보에톡시-1',2',3'-트리아졸-1'-일)-에틸]-라파마이신을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[1102] 본 발명에 유용한 다른 라파마이신 유사체는 라파마이신의 시클로헥실 고리 상의 히드록실 기 및/또는 28 위치의 히드록실 기가 히드록시에스테르 기로 대체된 유사체이고, 예를 들어 US RE44,768에서 확인되는 라파마이신 유사체, 예를 들어 템시롤리무스가 공지되어 있다.

[1103] 본 발명에 유용한 다른 라파마이신 유사체는 16 위치의 메톡시 기가 또 다른 치환기, 바람직하게는 (임의로 히드록시-치환된) 알키닐옥시, 벤질, 오르토메톡시벤질 또는 클로로벤질에 의해 대체되고/거나 39 위치의 메톡시 기가 39 탄소와 함께 결실되어 라파마이신의 시클로헥실 고리가 39 위치 메톡시 기가 결여된 시클로펜틸 고리로 된 것; 예를 들어 그 내용이 본원에 참조로 포함되는 WO95/16691 및 WO96/41807에 기재된 바와 같은 것을 포함한다. 유사체는 라파마이신의 40-위치의 히드록시가 알킬화되고/거나 32-카르보닐이 환원되도록 추가로 변형될 수 있다.

[1104] WO95/16691로부터의 라파마이신 유사체는 16-데메톡시-16-(펜트-2-이닐)옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-(부트-2-이닐)옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-(프로파르길)옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-(4-히드록시-부트-2-이닐)옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-벤질옥시-40-O-(2-히드록시에틸)-라파마이신, 16-데메톡시-16-벤질옥시-라파마이신, 16-데메톡시-16-오르토-메톡시벤질-라파마이신, 16-데메톡시-40-O-(2-메톡시에틸)-16-펜트-2-이닐)옥시-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-포르밀-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-히드록시메틸-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-카르복시-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-(4-메틸-피페라진-1-일)카르보닐-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-(모르폴린-4-일)카르보닐-42-노르-라파마이신, 39-데메톡시-40-데스옥시-39-[N-메틸, N-(2-피리딘-2-일-에틸)]카르바모일-42-노르-라파마이신 및 39-데메톡시-40-데스옥시-39-(p-톨루엔술포닐히드라조노메틸)-42-노르-라파마이신을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[1105] WO96/41807로부터의 라파마이신 유사체는 32-데옥소-라파마이신, 16-O-펜트-2-이닐-32-데옥소-라파마이신, 16-O-펜트-2-이닐-32-데옥소-40-O-(2-히드록시-에틸)-라파마이신, 16-O-펜트-2-이닐-32-(S)-디히드로-40-O-(2-히드록시에틸)-라파마이신, 32(S)-디히드로-40-O-(2-메톡시)에틸-라파마이신 및 32(S)-디히드로-40-O-(2-히드록시에틸)-라파마이신을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[1106] 또 다른 적합한 라파마이신 유사체는 그 내용이 참조로 포함되는 US2005/0101624에 기재된 바와 같은 우미롤리무스이다.

[1107] 달리 에베롤리무스 (아피니토르(Afinitor)®)로도 공지된 RAD001은 화학 명칭 (1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-디히드록시-12-{(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-히드록시에톡시)-3-메톡시시클로헥실]-1-메틸에틸}-19,30-디메톡시-15,17,21,23,29,35-헥사메틸-11,36-디옥사-4-아자-트리시클로[30.3.1.04,9]헥사트리아콘타-16,24,26,28-테트라엔-2,3,10,14,20-펜타온을 갖는다.

[1108] 알로스테릭 mTOR 억제제의 추가의 예는 시롤리무스 (라파마이신, AY-22989), 40-[3-히드록시-2-(히드록시메틸)-2-메틸프로파노에이트]-라파마이신 (템시롤리무스 또는 CCI-779로도 불림) 및 리다포롤리무스 (AP-23573/MK-8669)를 포함한다. 알로스테릭 mTOR 억제제의 다른 예는 조타롤리무스 (ABT578) 및 우미롤리무스를 포함한다.

[1109] 대안적으로 또는 추가로, 촉매 ATP-경쟁적 mTOR 억제제는 mTOR 키나제 도메인을 직접적으로 표적화하고, mTORC1 및 mTORC2 둘 다를 표적화하는 것으로 발견되었다. 이들은 라파마이신-저항성 mTORC1 결과물, 예컨대 4EBP1-T37/46 인산화 및 캡-의존성 번역을 조정하기 때문에, 또한 라파마이신으로서 이러한 알로스테릭 mTOR 억제제보다 mTORC1의 보다 유효한 억제제이다.

[1110] 촉매 억제제는 BEZ235 또는 2-메틸-2-[4-(3-메틸-2-옥소-8-퀴놀린-3-일-2,3-디히드로-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일)-페닐]-프로피오니트릴 또는 모노토실레이트 염 형태 (BEZ235의 합성은 WO2006/122806에 기재되어 있음); 화학 명칭 {5-[2,4-비스-((S)-3-메틸-모르폴린-4-일)-피리도[2,3d]피리미딘-7-일]-2-메톡시-페닐}-메탄올을 갖는 CCG168 (달리 AZD-8055로 공지됨, 문헌 [Chresta, C.M., et al., Cancer Res, 2010, 70(1), 288-298]); 3-

[2,4-비스[(3S)-3-메틸모르폴린-4-일]피리도[2,3-d]피리미딘-7-일]-N-메틸벤즈아미드 (WO09104019); 3-(2-아미노벤조[d]옥사졸-5-일)-1-이소프로필-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-4-아민 (WO10051043 및 WO2013023184); N-(3-(N-(3-((3,5-디메톡시페닐)아미노)퀴녹살린-2-일)술파모일)페닐)-3-메톡시-4-메틸벤즈아미드 (WO07044729 및 WO12006552); 화학 명칭 1-[4-[4-(디메틸아미노)피페리딘-1-카르보닐]페닐]-3-[4-(4,6-디모르폴리노-1,3,5-트리아진-2-일)페닐]우레아를 갖는 PKI-587 (Venkatesan, A.M., J. Med.Chem., 2010, 53, 2636-2645); 화학 명칭 2,4-디플루오로-N-{2-메톡시-5-[4-(4-피리다지닐)-6-퀴놀리닐]-3-피리디닐}벤젠술폰아미드를 갖는 GSK-2126458 (ACS Med. Chem. Lett., 2010, 1, 39-43); 5-(9-이소프로필-8-메틸-2-모르폴리노-9H-퓨린-6-일)피리미딘-2-아민 (WO10114484); (E)-N-(8-(6-아미노-5-(트리플루오로메틸)피리딘-3-일)-1-(6-(2-시아노프로판-2-일)피리딘-3-일)-3-메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-2(3H)-일리덴)시안아미드 (WO12007926)를 포함한다.

[1111] 촉매 mTOR 억제제의 추가의 예는 8-(6-메톡시-피리딘-3-일)-3-메틸-1-(4-피페라진-1-일-3-트리플루오로메틸-페닐)-1,3-디히드로-이미다조[4,5-c]퀴놀린-2-온 (WO2006/122806) 및 Ku-0063794 (Garcia-Martinez JM, et al.,Biochem J., 2009, 421(1), 29-42]를 포함한다. Ku-0063794는 라파마이신 (mTOR)의 포유동물 표적의 특이적 억제제이다. WYE-354는 촉매 mTOR 억제제의 또 다른 예이다 (Yu K, et al. (2009). Biochemical, Cellular, and In vivo Activity of Novel ATP-Competitive and Selective Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin. Cancer Res. 69(15): 6232-6240).

[1112] 본 발명에 따라 유용한 mTOR 억제제는 상기 중 임의의 것의 전구약물, 유도체, 제약상 허용되는 염, 또는 그의 유사체를 또한 포함한다.

[1113] mTOR 억제제, 예컨대 RAD001은 본원에 기재된 특정한 투여량을 기초로 하여 관련 기술분야에 널리-확립되어 있는 방법을 기초로 전달을 위해 제제화될 수 있다. 특히, 미국 특허 6,004,973 (본원에 참조로 포함됨)은 본원에 기재된 mTOR 억제제와 함께 사용가능한 제제의 예를 제공한다.

[1114] 제약 조성물 및 치료

[1115] 본 발명의 제약 조성물은 본원에 기재된 바와 같은 CAR-발현 세포, 예를 들어 복수개의 CAR-발현 세포를 1종 이상의 제약상 또는 생리학상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제와 조합하여 포함할 수 있다. 상기 조성물은 완충제, 예컨대 중성 완충 염수, 포스페이트 완충 염수 등; 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 덱스트란, 만니톨; 단백질; 폴리펩티드 또는 아미노산, 예컨대 글리신; 항산화제; 킬레이팅제, 예컨대 EDTA 또는 글루타티온; 아주반트 (예를 들어, 수산화알루미늄); 및 방부제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 한 측면에서 정맥내 투여를 위해 제제화된다.

[1116] 본 발명의 제약 조성물은 치료할 (또는 예방할) 질환에 적절한 방식으로 투여될 수 있다. 투여의 양 및 빈도는 환자의 상태, 환자의 질환의 종류 및 중증도와 같은 인자에 의해 결정될 것이지만, 적절한 투여량은 임상 시험에 의해 결정될 것이다.

[1117] 한 실시양태에서, 제약 조성물은 예를 들어 내독소, 미코플라스마, 복제 적격 렌티바이러스 (RCL), p24, VSV-G 핵산, HIV gag, 잔류 항-CD3/항-CD28 코팅된 비드, 마우스 항체, 풀링된 인간 혈청, 소 혈청 알부민, 소 혈청, 배양 배지 성분, 벡터 패키징 세포 또는 플라스미드 성분, 박테리아 및 진균으로 이루어진 군으로부터 선택된 오염물이 실질적으로 없고, 예를 들어 검출가능한 수준의 오염물이 없다. 한 실시양태에서, 박테리아는 알칼리게네스 파에칼리스(Alcaligenes faecalis), 칸디다 알비칸스(Candida albicans), 에스케리키아 콜라이(Escherichia coli), 헤모필루스 인플루엔자(Haemophilus influenza), 네이세리아 메닌기티데스(Neisseria meningitides), 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa), 스타필로코쿠스 아우레우스(Staphylococcus aureus), 스트렙토코쿠스 뉴모니아(Streptococcus pneumonia), 및 스트렙토코쿠스 피오게네스(Streptococcus pyogenes) 군 A로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종이다.

[1118] "면역학적 유효량", "항종양 유효량", "종양-억제 유효량", 또는 "치료량"이 제시되는 경우에, 투여할 본 발명의 조성물의 정확한 양은 연령, 체중, 종양 크기, 감염 또는 전이의 정도, 및 환자 (대상체)의 상태에서의 개별 차이를 고려하여 의사가 결정할 수 있다. 본원에 기재된 T 세포를 포함하는 제약 조성물은 10^4 내지 10^9개 세포/kg 체중, 바람직하게는 10^5 내지 10^6개 세포/kg 체중 (상기 범위 내의 모든 정수 값 포함)의 투여량으로 투여될 수 있는 것으로 일반적으로 언급될 수 있다. T 세포 조성물은 또한 이들 투여량으로 다중 횟수로 투여될 수 있다. 세포는 면역요법에서 통상적으로 공지되어 있는 주입 기술을 사용함으로써 투여될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988] 참조). 특정한 환자를 위한 최적 투여량 및 치료 요법은 질환의 징후에 대해 환자를 모니터링하고 이에 따라 치료를 조정함으로써 관련 의약 기술분야의 통상

의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[1119] 일부 실시양태에서, CAR 세포 (예를 들어, NKR-CAR 세포, 예를 들어 KIR-CAR 세포)의 용량은 약 1 x 10^6, 1.1 x 10^6, 2 x 10^6, 3.6 x 10^6, 5 x 10^6, 1 x 10^7, 1.8 x 10^7, 2 x 10^7, 5 x 10^7, 1 x 10^8, 2 x 10^8, 또는 5 x 10^8개 세포/kg을 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR 세포 (예를 들어, NKR-CAR 세포, 예를 들어 KIR-CAR 세포)의 용량은 적어도 약 1 x 10^6, 1.1 x 10^6, 2 x 10^6, 3.6 x 10^6, 5 x 10^6, 1 x 10^7, 1.8 x 10^7, 2 x 10^7, 5 x 10^7, 1 x 10^8, 2 x 10^8, 또는 5 x 10^8개 세포/kg을 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR 세포 (예를 들어, NKR-CAR 세포, 예를 들어 KIR-CAR 세포)의 용량은 최대 약 1 x 10^6, 1.1 x 10^6, 2 x 10^6, 3.6 x 10^6, 5 x 10^6, 1 x 10^7, 1.8 x 10^7, 2 x 10^7, 5 x 10^7, 1 x 10^8, 2 x 10^8, 또는 5 x 10^8개 세포/kg을 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR 세포 (예를 들어, NKR-CAR 세포, 예를 들어 KIR-CAR 세포)의 용량은 약 1.1 x 10^6 - 1.8 x 10^7개 세포/kg을 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR 세포 (예를 들어, NKR-CAR 세포, 예를 들어 KIR-CAR 세포)의 용량은 약 1 x 10^7, 2 x 10^7, 5 x 10^7, 1 x 10^8, 2 x 10^8, 5 x 10^8, 1 x 10^9, 2 x 10^9, 또는 5 x 10^9개 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR 세포 (예를 들어, NKR-CAR 세포, 예를 들어 KIR-CAR 세포)의 용량은 적어도 약 1 x 10^7, 2 x 10^7, 5 x 10^7, 1 x 10^8, 2 x 10^8, 5 x 10^8, 1 x 10^9, 2 x 10^9, 또는 5 x 10^9개 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, CAR 세포 (예를 들어, NKR-CAR 세포, 예를 들어 KIR-CAR 세포)의 용량은 최대 약 1 x 10^7, 2 x 10^7, 5 x 10^7, 1 x 10^8, 2 x 10^8, 5 x 10^8, 1 x 10^9, 2 x 10^9, 또는 5 x 10^9개 세포를 포함한다.

[1120] 세포는 면역요법에서 통상적으로 공지되어 있는 주입 기술을 사용하여 투여될 수 있다 (예를 들어 [Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988] 참조).

[1121] 특정 실시양태에서, 활성화된 CAR-발현 세포를 대상체에게 투여한 후, 후속적으로 혈액을 재채취하고 (또는 분리반출술을 수행하고), 본 발명에 따라 그로부터 세포를 활성화하고, 환자에게 이들 활성화되고 확장된 세포를 재주입하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 과정은 수주마다 다중 횟수로 수행될 수 있다. 특정 실시양태에서, T 세포는 10cc 내지 400cc의 혈액 채취물로부터 활성화될 수 있다. 특정 실시양태에서, T 세포는 20cc, 30cc, 40cc, 50cc, 60cc, 70cc, 80cc, 90cc 또는 100cc의 혈액 채취물로부터 활성화된다. 이론에 얽매이지는 않지만, 이러한 혈액 채취/다중 재주입 프로토콜을 사용하는 것은 특정 T 세포 집단을 선택하는데 작용할 수 있다.

[1122] 대상 조성물의 투여는 에어로졸 흡입, 주사, 섭취, 수혈, 이식(implantation) 또는 이식(transplantation)에 의한 것을 포함하는 임의의 편리한 방식으로 수행될 수 있다. 본원에 기재된 조성물은 피하로, 피내로, 종양내로, 결절내로, 수질내로, 근육내로, 정맥내 (i.v.) 주사에 의해, 또는 복강내로 환자에게 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포) 조성물은 피부내 또는 피하 주사에 의해 환자에게 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포) 조성물은 i.v. 주사에 의해 바람직하게 투여된다. CAR-발현 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)의 조성물은 종양, 림프절, 또는 감염 부위 내로 직접 주사될 수 있다.

[1123] 본 발명의 특정 실시양태에서, T 세포를 치료 수준까지 확장시키는 본원에 기재된 방법 또는 관련 기술분야에 공지된 다른 방법을 사용하여 활성화 및 확장된 세포는 작용제를 사용한 치료, 예컨대 MS 환자의 경우에 항바이러스 요법, 시도포비르 및 인터류킨-2, 시타라빈 (ARA-C로도 공지됨) 또는 나탈리주맙 치료 또는 건선 환자의 경우에 에팔리주맙 치료 또는 PML 환자의 경우의 다른 치료를 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 수의 관련 치료 양식과 함께 (예를 들어, 그 전에, 동시에 또는 그 후에) 환자에게 투여된다. 추가 실시양태에서, 본 발명의 T 세포는 화학요법, 방사선, 면역억제제, 예컨대 시클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 미코페놀레이트, 및 FK506, 항체 또는 다른 면역 절제제, 예컨대 캄파트, 항-CD3 항체 또는 다른 항체 요법, 시톡신, 플루다라빈, 시클로스포린, FK506, 라파마이신, 미코페놀산, 스테로이드, FR901228, 시토카인, 및 방사선조사와 조합되어 사용될 수 있다. 이들 약물은 칼슘 의존성 포스파타제 칼시뉴린 (시클로스포린 및 FK506)을 억제하거나, 성장 인자 유도 신호전달에 중요한 p70S6 키나제 (라파마이신)를 억제한다 (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 실시양태에서, 본 발명의 세포 조성물은 골수 이식, 플루다라빈과 같은 화학요법제를 사용하는 T 세포 절제 요법, 외부-빔 방사선 요법 (XRT), 시클로포스파미드, 또는 항체, 예컨대 OKT3 또는 캄파트와 함께 (예를 들

어, 그 전에, 동시에 또는 그 후에) 환자에게 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 세포 조성물은 B-세포 절제 요법, 예컨대 CD20과 반응하는 작용제, 예를 들어 리툭산 후에 투여된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 대상체는 고용량 화학요법에 이어 말초 혈액 줄기 세포 이식을 사용하는 표준 치료를 받을 수 있다. 특정 실시양태에서, 이식 후에, 대상체는 본 발명의 확장된 면역 세포의 주입을 받는다. 추가의 실시양태에서, 확장된 세포는 수술 전 또는 후에 투여된다.

[1124] 특정한 예시적인 측면에서, 대상체는 백혈구분리반출술을 거칠 수 있고, 여기서 백혈구는 수집, 풍부화, 또는 생체외 고갈되어 관심 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)를 선택하고/거나 단리한다. 이들 면역 이펙터 세포 (예를 들어, T 세포 또는 NK 세포) 단리물은 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 확장되고, 본 발명의 1종 이상의 CAR 구축물이 도입되어, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어, CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)를 생성할 수 있도록 처리될 수 있다. 그를 필요로 하는 대상체는 후속적으로 고용량 화학요법에 이어 말초 혈액 줄기 세포 이식에 의하는 표준 치료를 거칠 수 있다. 특정 측면에서, 이식 이후에 또는 이식과 공동으로, 대상체는 본 발명의 확장된 CAR-발현 세포 (예를 들어, CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 주입을 받는다. 추가의 측면에서, 확장된 세포는 수술 전에 또는 수술 이후에 투여된다.

[1125] 환자에게 투여할 상기 치료의 투여량은 치료되는 상태의 정확한 속성 및 치료의 수용자에 따라 달라질 것이다. 인간 투여를 위한 투여량의 스케일링은 관련 기술분야에서 허용되는 실시에 따라 수행될 수 있다. CAR T 세포 투여 및 스케줄링에 대한 전략은 문헌 [Ertl et al., 2011, Cancer Res, 71:3175-81; Junghans, 2010, Journal of Translational Medicine, 8:55]에서 논의된 바 있다.

[1126] 한 실시양태에서, CAR은 예를 들어 시험관내 전사를 사용하여 면역 이펙터 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포) 내로 도입되고, 대상체 (예를 들어, 인간)는 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 초기 투여 및 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 1회 이상의 후속 투여를 제공받고, 여기서 1회 이상의 후속 투여는 이전 투여 후 15일 미만에, 예를 들어 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2일에 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 1회 초과의 투여는 1주에 대상체 (예를 들어, 인간)에게 투여되고, 예를 들어 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 2, 3 또는 4회 투여가 1주에 투여된다. 한 실시양태에서, 대상체 (예를 들어, 인간 대상체)는 1주에 1회 초과의 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 투여 (예를 들어, 1주에 2, 3 또는 4회 투여) (본원에서 사이클로도 지칭됨)를 제공받고, 이어서 어떠한 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포) 투여도 없는 1주에 이어서, CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 1회 이상의 추가 투여 (예를 들어, 1주에 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 1회 초과의 투여)가 대상체에게 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 대상체 (예를 들어, 인간 대상체)는 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)의 1회 초과의 사이클을 제공받고, 각각의 사이클 사이의 시간은 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 또는 3일 미만이다. 한 실시양태에서, CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 1주에 3회 투여 동안 격일로 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 또는 그 초과 동안 투여된다.

[1127] 한 측면에서, CD123 CAR-발현 세포 (예를 들어, CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 렌티바이러스 바이러스 벡터, 예컨대 렌티바이러스를 사용하여 생성된다. 그러한 방식으로 생성된 CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 안정한 CAR 발현을 가질 것이다.

[1128] 한 측면에서, CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 또는 CAR-발현 NK 세포는 바이러스 벡터, 예컨대 감마레트로바이러스 벡터, 예를 들어 본원에 기재된 감마레트로바이러스 벡터를 사용하여 생성된다. 이들 벡터를 사용하여 생성된 CAR-발현 세포, 예를 들어 CART 또는 CAR-발현 NK 세포는 안정한 CAR 발현을 갖는다.

[1129] 한 측면에서, CAR-발현 세포 (예를 들어 CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)는 형질도입 후 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15일 동안 CAR 벡터를 일시적으로 발현한다. CAR의 일시적 발현은 RNA CAR 벡터 전달에 의해 실행될 수 있다. 한 측면에서, CAR RNA는 전기천공에 의해 세포 (예를 들어 T 세포 또는 NK 세포) 내로 형질도입된다.

[1130] 일시적으로 발현하는 CAR 세포 (예를 들어, CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포)를 사용하여 (특히, 뮤린 scFv 보유 CAR에 의해) 치료받는 환자에서 일어날 수 있는 잠재적인 이슈는 다중 치료 후 아나필락시스이다.

[1131] 이러한 이론에 얽매이지는 않지만, 이러한 아나필락시스 반응은 체액성 항-CAR 반응, 즉, 항-IgE 이소형을 갖는

항-CAR 항체를 발생시키는 환자에 의해 유발될 수 있는 것으로 여겨진다. 환자의 항체 생산 세포는 항원에의 노출에서 10 내지 14일 중단이 있을 때 IgG 이소형 (아나필락시스를 유발하지 않음)으로부터 IgE 이소형으로 부류 전환을 거치는 것으로 생각된다.

[1132] 환자가 일시적 CAR 요법 (예컨대, RNA 형질도입에 의해 생성된 것)의 과정 동안 항-CAR 항체 반응을 생성할 위험이 크면, CAR-발현 세포 (예를 들어, CAR T 세포 또는 CAR-발현 NK 세포) 주입 중단은 10 내지 14일 초과로 지속되어서는 안된다.

[1133] 실험 실시예

[1134] 본 발명은 하기 실험 실시예를 참조하여 추가로 상세히 기재된다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로 제공되고, 달리 명시되지 않는 한 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 본 발명은 어떠한 방식으로도 하기 실시예에 제한되는 것으로 해석되어서는 안되고, 대신에 본원에 제공된 교시의 결과로서 분명해지는 임의의 및 모든 변형을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[1135] 추가의 설명 없이, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 선행하는 상세한 설명 및 하기 예시적인 실시예를 사용하여, 본 발명의 화합물을 제조 및 이용하고 청구된 방법을 실시할 수 있는 것으로 여겨진다. 따라서 하기 작업 실시예는 본 발명의 바람직한 실시양태를 구체적으로 나타내고, 나머지 개시내용을 어떠한 방식으로도 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[1136] 실시예 1: 키메라 NK 수용체

[1137] 본원에 제시된 결과는 현행 CAR 설계와 비교하여 보다 정교하게 조절될 수 있는 T 세포에 대한 CAR을 구축하기 위한 대안적 접근법을 입증한다. 적어도 2 또는 3개의 키메라 융합 단백질을 포함하는 신규한, 조절 CAR 시스템을 개발하기 위한 실험을 설계하였다. 1차 T 세포 활성화 신호 및 억제 신호는 킬러 세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)로서 공지되어 있는 NK 세포의 자연 발생 활성화 및 억제 수용체를 기반으로 한다.

[1138] KIR은 수용체의 세포내 도메인에 의존하여 활성화 및 억제 형태 둘 다로서 존재한다. 활성화 KIR은 이들 단백질의 막횡단 도메인 내의 잔기에 의해 동원되는, 이뮤노티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM) 함유 막 단백질, DAP12와의 상호작용을 통해 그의 신호를 전달한다. 억제 KIR은 이뮤노티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 함유하는 세포질 도메인을 보유하고, 이는 활성화 신호를 제거하여 NK 세포용해 및 시토카인 생산 활성의 억제로 이어진다. TCR과 유사하게, KIR은 단백질 수용체의 이뮤노글로불린 패밀리에 속하고, 많은 것이 불변 MHC 및 MHC-유사 리간드에 결합한다. 어떠한 특정한 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 이들 상호작용은 정상 세포 (통상적으로 고밀도의 MHC 부류 I을 발현함)를 악성 또는 바이러스 감염된 세포 (종종 MHC 부류 I이 낮거나 손실됨)와 자연적으로 구별하는데 사용되는 것으로 여겨진다.

[1139] KIR-유사 키메라 항원 수용체 (KIR-CAR)는 도 1에 제시된 바와 같이 관심 표적 항원에 대한 scfv를 활성 및 억제 KIR과 융합시켜 구축된 바 있다. T 세포의 조건부 활성화는 scfv를 보유하는 활성화 KIR-CAR (actKIR-CAR) 또는 표준 TCR-제타 CAR이 관심 악성 세포 상의 항원과 연관되는 것에 의해 생성된다. 정상에는 존재하지만 악성 조직에는 존재하지 않는 항원에 대해 지시된 scfv를 보유하는 억제 CAR (inhCAR)은 T 세포가 정상 세포를 직면한 경우에 활성화 CAR 1차 신호의 약화를 제공할 것이다. 억제 CAR에 대한 유용한 표적으로서의 역할을 하는 항원의 예는, 정상 조직으로부터의 상피 세포에 의해 발현되지만 종종 암에 의해 선택적으로 소실되는 에프린 수용체 (Pasquale, 2010, Nat Rev Cancer 10(3):165-80) 및 클라우딘 (Singh et al., 2010, J Oncol, 2010:541957) (예를 들어 EPHA7)을 포함한다.

[1140] 실시예 2: 활성화 KIR-CAR 구축 및 활성

[1141] 현재 임상 시험 중인 TCR-제타 세포질 도메인을 기반으로 한 CAR 내로 이전에 혼입된 항-CD19 또는 항-메소텔린 scFv (SS-1)의 융합을 기반으로 한 활성화 KIR-CAR을 구축하기 위한 실험을 설계하였다. 인간 KIR2DS2 활성화 KIR 수용체를 actKIR-CAR을 위한 초기 기재 수용체로서 선택하였다. 활성화 신호를 전달하기 위해, actKIR-CAR은, 정상적으로는 T 세포에서 발현되지 않는 DAP12의 공동발현을 필요로 하였다. 따라서, 2A 리보솜 스킵 펩티드를 기반으로 한 "비시스트론" 유전자 카세트를 사용하여 인간 DAP12와 함께 actKIR-CAR을 둘 다 발현하는 렌티바이러스 벡터를 구축하였다. 렌티바이러스 벡터의 다이어그램을 도 2에 예시한다. 초기 연구는 actKIR-CAR이 1차 인간 T 세포에서 효율적으로 발현되고 SS1 actKIR-CAR이 메소텔린에 결합한다는 것을 입증하였다 (도 3). 이전에 개발되고 공개된 SS1 scFv CD3 제타 (SS1-ζ) CAR (Carpenito et al., 2009, Proc Natl Acad Sci USA 106(9):3360-5)과 유사하게, SS1 actKIR-CAR을 발현하는 T 세포는 도 4에 제시된 바와 같이 메소텔린 리간드를 발현하도록 조작된 표적 K562 세포 (KT-meso)에 대해 세포독성 활성을 입증하였다. 어떠한 수용체도 메소

텔린 표적이 결여된 야생형 K562의 사멸을 나타내지 않았다.

[1142] 메소텔린-양성 표적 세포에 대한 SS1 KIR CAR의 세포독성 활성이 대등한 CAR 표면 발현을 갖는 동일한 항원을 표적화하는 표준 TCR제타-기반 CAR보다 낮기 때문에, 메소텔린 CAR은 그의 길이로 인해 CD45로부터의 분리에 비-최적인 세포외 힌지 (야생형 KIR2DS2를 기반으로 함)를 가질 수 있는 것으로 여겨진다. CD45로부터 활성화 ITAM-기반 수용체의 동역학적 분리는 TCR 활성화를 위한 주요 메카니즘이고, 이는 T 세포와 표적 세포 막 사이의 ~14-15 nm의 길이 규모에 의존하는 것으로 여겨진다 (Choudhuri et al., 2005, Nature 436(7050):578-82). SS1 에피토프가 표적 세포 막으로부터 아마도 ~10 nm 거리에 있고 (Ma et al., 2012, J Biol Chem 287(40):33123-31), 각각의 Ig-유사 도메인이 scFv에 더하여 KIR2DS2 힌지에서 ~3.5 nm인 것으로 가정하여 ~10 nm인 것으로 추정되는 CAR을 입증하는 메소텔린의 부분 결정 구조를 기반으로 하여, KIR2DS2 기반 SS1 KIR-CAR은 20 nm 초과의 길이 규모를 갖는 것으로 추정된다. 따라서 도 5에 개략적으로 제시된 바와 같은 KIR2DS2 힌지가 제거된 활성화 KIR CAR (KIRS2 CAR)을 구축하였다. SS1 scFv 기반 KIRS2 CAR은 SS1 scFv의 전장 야생형 KIR2DS2에의 융합에 의해 형성된 CAR과 비교하여 메소텔린-발현 표적 세포에 대해 증진된 세포용해 활성을 나타내는 것으로 제시되었다 (도 6). 이러한 최적화된 KIRS2 CAR은 또한 CD8 알파 세포외 힌지를 갖는 SS1 scFv 기반 TCR제타 CAR보다 증진된 활성을 제시하였다.

[1143] 실시예 3: InhKIR-CAR 구축 및 활성

[1144] 억제 KIR2DL3 수용체 기재에의 항-메소텔린 SS1 scFv의 융합을 기반으로 하여 억제 KIR-CAR을 구축하였다. 초기 연구는 inhKIR-CAR이 1차 인간 T 세포에서 효율적으로 발현된다는 것을 입증하였다. CD19 actKIR-CAR, SS1 actKIR-CAR 및 SS1 inhKIR-CAR을 단독으로 또는 조합하여 NFAT-구동 프로모터의 제어 하에 dsGFP 리포터를 보유하는 Jurkat T 세포 내로 도입하여, 이러한 중요 T 세포 신호전달 경로의 활성화를 모니터링한 바 있다. CD19 actKIR-CAR 또는 SS1 actKIR-CAR을 단독으로 발현하는 Jurkat T 세포는 CD19 및 메소텔린 둘 다를 발현하는 K562 (KT-meso/CD19)에 의해 효율적으로 활성화된 반면에, CD19 actKIR-CAR 및 SS1 inhKIR-CAR을 공동-발현하는 Jurkat T 세포는 동일한 KT-meso/CD19 표적 세포에 의해 현저하게 감소된 활성화를 제시하였지만 (도 7a); 이디오타입 특이적 시약을 사용한 CD19 및 메소텔린 scFv 결합의 표면 발현의 분석은 놀랍게도, 상이한 scFv 표적 특이성의 발현이 상호 배타적이라는 것을 입증하였다 (도 7b).

[1145] 실시예 4: 천연 억제 수용체 시스템에 대한 활성화 KIR-CAR 설계의 감수성

[1146] 2종의 scFv CAR의 공동-발현은 제한되기 때문에, 전략은 PD-1 수용체로부터 유래된 억제 신호에 대한 KIR-기반 활성화 CAR의 감수성을 평가하는 것을 추구하였다. PD-1은 TCR 신호전달을 음성 조절하는 포스파타제를 동원하는 억제 KIR과 유사하게 세포질 도메인에서 ITIM을 사용하는 T 세포에서의 천연 수용체이다. 개략적 발현을 도 19에 제시한다. 본원에 제시된 결과는 야생형 PD-1이 메소텔린을 표적화하는 활성화 KIR-기반 CAR 및 TCR-제타 기반 CAR 둘 다와 과다-발현될 수 있다는 것을 입증하였다 (도 8a 및 8c). 결과는 또한 이러한 조합이 메소텔린-특이적 활성화 KIR-CAR 세포독성의 PD-1 리간드 1 (PDL-1) 의존성 억제로 이어진다는 것을 제시한다 (도 9). T 세포 (즉, PD-1 형질감염이 없는 T 세포)에 의한 정상 PD-1 발현과 관련하여, KIR-CAR은 TCR-제타 기반 CAR과 비교하여 PD-L1 과다발현 표적 세포와 직면한 경우에 더 낮은 억제를 나타내었다. 어떠한 특정한 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 이는 통상적으로 억제 수용체 리간드를 발현하는 종양과의 직면 시, KIR-CAR의 이점일 수 있는 것으로 여겨진다.

[1147] 실시예 5: KIR CAR의 공동-자극 의존 활성화

[1148] 클로스(Kloss) 등에 의한 (Kloss et al., 2013, Nat Biotechnol 31(1):71-5) 표준 CAR에 의해 기재된 것과 비교하여 KIR-CAR 시스템에서의 키메라 공동-자극 수용체 (CCR)의 효과를 평가하기 위한 실험을 설계하였다. 또한, 효능제 항체, 클론 9.3을 사용하여 T 세포에서 내인성 CD28 수용체와 연관시킴으로써 KIR에 대한 공동자극 의존 활성화 요건을 평가하기 위한 실험을 설계하였다. 도 14에 제시된 바와 같이, KIRS2 CAR은 CD28 공동자극의 부재 하에 메소텔린-양성 표적에 반응하여 강건한 증식을 제시하였다. 이러한 증식은 공동-자극이 증식에 중요한 것으로 제시된 바 있는 TCR-제타 CAR에 의해 관찰된 것보다 뛰어났다. 이러한 데이터는 KIR-기반 CAR이 항원-특이적 증식을 위해 TCR-제타 CAR과 동일한 공동자극 요건을 갖지 않을 수 있고 (Milone et al., 2009, Mol Ther 17(8):1453-64; Carpenito et al., 2009, Proc Natl Acad Sci USA 106(9):3360-5), 이러한 공동자극 비의존성은 KIR-기반 CAR의 현행 TCR-제타-기반 CAR에 대한 유의한 이점일 수 있다는 것을 시사한다. 생체내 전-임상 세팅에서 KIR-기반 CAR을 공동자극 도메인의 존재 및 부재 하의 CAR에 대해 시험하기 위해 인간화 마우스에서 KIR-기반 CAR을 평가하기 위한 실험이 설계된 바 있다 (실시예 5에서의 데이터 및 실험이 또한 실시예 6에서 제시됨).

[1149] 실시예 6: 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)-기반 키메라 항원 수용체 (CAR)는 고형 종양에서 강건한 세포독성 활성을 촉발한다

[1150] CD3-ζ의 세포질 도메인에 시스로 연결된 항원-결합 도메인을 보유하는 키메라 항원 수용체 (CAR) 및 공동자극 수용체는 종양에 대한 T 세포 세포독성을 조작하기 위한 강력한 방법을 제공한다 (Grupp et al., The New England journal of medicine, 368(16):1509-18, 2013; Brentjens et al., Science translational medicine, 5(177):177ra38, 2013; Porter et al., The New England journal of medicine, 365(8):725-33, 2011). 자연 킬러 (NK) 세포에 의해 정상적으로 발현되는 자극 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)인 KIR2DS2의 막횡단 및 세포질 도메인에 메소텔린 (SS1)을 표적화하는 단일 쇄 가변 단편 (scFv)이 융합된 대안적 키메라 수용체가 본원에 기재되어 있다. 이러한 SS1-KIRS2 KIR-기반 CAR은 어댑터 분자 DAP12와 조합되어 인간 T 세포 내로 도입된 경우에 강건한 시험관내 항원-특이적 세포독성 활성 및 이펙터 기능, 예컨대 시토카인 분비 및 증식을 촉발한다. KIR-CAR 및 DAP12를 발현하도록 변형된 T 세포는 저항성 종양 이종이식편 모델에서 표준 CD3ζ-기반 CAR로 형질도입된 T 세포와 비교하여 유의하게 증진된 항종양 활성을 나타내었고, 이는 KIR-기반 CAR이 종양 내 억제 신호를 극복할 수 있다는 것을 시사하여, 제2 및 제3 세대 CD3ζ-기반 CAR을 제한한다. 본원에 제시된 데이터는 고형 종양을 포함한 암에서의 KIR-기반 CAR의 향후 임상 평가를 지지한다.

[1151] "제1 세대" CAR은 이뮤노티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)를 함유하는 세포질 도메인을 특이적 항원 표적화를 위한 항체로부터의 단일 쇄 가변 단편 (scFv)을 사용한 단일 키메라 수용체 내로 혼입시킴으로써 설계되었다 (Sadelain et al., Cancer discovery, 3(4):388-98, 2013). 공동-자극 수용체로부터의 다수의 상이한 추가의 신호전달 도메인, 예컨대 CD28, ICOS, 4-1BB 및 OX-40을 이후에 이들 수용체 내로 탠덤 혼입시켜 T 세포의 증식, 생존 및 기능을 증진시켰다 (Finney HM et al. J Immunol. 1998;161:2791-2797; Maher J. et al. Nat Biotech 2002; 20:70-75; Finney HM et al. J Immunol. 2004; 18:676-684; Milone et al., 2009, Mol Ther 17(8):1453-64; Carpenito et al., 2009, Proc Natl Acad Sci USA 106(9):3360-5). 이들 "제2 세대" (1개의 공동-자극 도메인) 및 "제3 세대" (2개의 공동-자극 도메인) CAR은 암의 전임상 동물 모델에서 증진된 기능을 입증하였고, 여러 공동-자극-증진 CAR은 현재 암에 대한 초기 단계 인간 임상 시험 중에 있다 (문헌 [Barrett DM et al. Ann Rev Med 2014; 65:333-347]에서 검토됨).

[1152] 단일쇄 CAR이 강건한 항원-특이적 세포독성 활성을 촉발하지만, 고도로 보존된 ITAM 도메인을 이용하는 천연 수용체는 일반적으로 개별 리간드 결합 및 ITAM-함유 신호전달 쇄로 구성된 다중-쇄 복합체, 예컨대 T 세포 수용체 (TCR)-CD3 복합체, B 세포 수용체 (BCR)-Igα/β 복합체 및 Fc 수용체 (FcR) 복합체로 구조화된다. 다중-쇄 면역수용체 복합체의 잠재적 이익은, 리간드 결합과 신호전달 분자 사이의 다중 상호작용을 통해 이용가능한 신호의 보다 큰 다양성 및 리간드-결합 쇄의 내재화와 분리가능한 지속적인 ITAM 신호전달을 포함하여 다양하다 (Sigalov et al., Advances in experimental medicine and biology, 640:ix-xi, 2008). 이종 수용체에서 통상적으로 발견되는 여러 수용체 성분을 CAR 내로 조합하는 것의 결과는 완전히 규명되어 있지 않지만; 일부 설계에 의해 무반응 및 항원-비의존성 신호전달이 관찰된 바 있다 (Brocker, Blood, 96(5):1999-2001, 2000; Brocker et al., The Journal of experimental medicine. 181(5):1653-9, 1995; Milone et al., Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy, 17(8):1453-64, 2009).

[1153] 본원에 청구되는 본 발명은 면역 세포 내에서 수용체 복합체 및 다른 수용체 내의 서브유닛 사이의 자연-선택 상호작용으로 인해 T 세포를 활성화시키는데 있어서 보다 큰 효력을 갖는 보다 "천연" 다중-쇄 면역수용체 설계로 구축된 CAR을 기재한다. CAR을 위한 토대로서 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR) 및 DAP12 다중쇄 면역수용체 복합체가 선택되었다 (Thielens et al., Current opinion in immunology, 24(2):239-45, 2012). 자연 킬러 세포에 의해 발현되어 그의 천연 세포독성에 기여하지만, KIR 발현은 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 다에서도 관찰된 바 있다 (Moretta et al., Immunological reviews, 155:105-17, 1997; Falk et al., Human immunology; 61(12):1219-32, 2000; Remtoula et al., Journal of immunology, 180(5):2767-71, 2008). 활성화 KIR, 예컨대 KIR2DS2는 어떠한 공지된 내인성 신호전달 활성도 갖지 않는 짧은 세포질 도메인을 보유한다. 그러나, KIR은 NK 세포에서 Syk 및 Zap70 키나제에 결합할 수 있는 ITAM-함유 어댑터 분자인 DAP12의 이량체와 비-공유 복합체를 형성한다 (Lanier et al., Nature, 391(6668):703-7, 1998). 리간드 결합 시 세포독성을 자극하는 것에 더하여, KIR은 또한 DAP12의 부재 하에 T 세포 내에서 공동자극 효과를 나타내는 것으로 제시된 바 있고, 이는 이들 분자가 T 세포에서 1차 촉발 활성 및 공동자극 둘 다를 제공할 수 있다는 것을 시사한다 (Snyder et al., Journal of immunology, 173(6):3725-31, 2004).

[1154] 도 1에 개략적으로 예시된 바와 같이 메소텔린-특이적 SS1 scFv를 활성화 KIR, KIR2DS2의 막횡단 및 짧은 세포질 도메인 상에 스플라이싱함으로써 (SS1-KIRS2) KIR-기반 CAR을 구축하였다 (Hassan et al., Clinical cancer

research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 8(11):3520-6, 2002). ITAM-함유 어댑터 분자, DAP12는 자연 킬러 (NK) 세포에서 구성적으로 발현되지만, 이는 단지 인간 T 세포의 하위세트에서만 발현된다 (Moretta et al.). 따라서, 토세아아시그나(Thoseaasigna) 바이러스 2A (T2A) 서열에 의해 분리된 메소텔린-특이적 KIR-기반 CAR (SS1-KIRS2) 및 DAP12 분자 둘 다를 코딩하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터를 생성하여 둘 다의 분자의 공동-발현을 달성하였다 (도 2). 항-CD3 및 항-CD28 활성화 후 SS1-KIRS2 및 DAP12 비시스트론 렌티바이러스에 의한 1차 인간 T 세포의 형질도입은 CD3ζ-기반 SS1ζ CAR과 대등한 SS1-KIRS2의 강건한 표면 발현을 입증하였다 (도 6). SS1-KIRS2/DAP12 공동-형질도입된 T 세포는 폴리클로날 항-CD3/항-CD28 자극 후 모의 형질도입된 T 세포 또는 CD3ζ 세포질 도메인을 함유하는 메소텔린-특이적 CAR로 형질도입된 T 세포에 의해 관찰되는 것과 대등한 동역학으로 확장되었다 (데이터는 제시되지 않음). KIR-기반 대 CD3ζ (SS1-z) CAR T 세포의 세포독성 활성을 비교하였다. SS1-KIRS2/DAP12-형질도입된 T 세포는 SS1ζ 구축물에 대한 것과 유사한 규모로 인간 메소텔린을 발현하는 K562 세포 (K-meso)에 대해 강력한 세포독성 활성을 제시하였다. 어떠한 조작된 T 세포도 야생형 K562 (Kwt)에 대해 용해 활성을 입증하지 않았고, 이는 동족 메소텔린 표적 항원에 의한 SS1-KIRS2 수용체의 특이적 활성화를 지지한다 (도 6).

[1155] 검출가능한 DAP12 발현의 부재 하에 KIR2DS2의 발현이 T 세포에서 기재된 바 있기 때문에, DAP12의 공동-전달의 존재 또는 부재 하의 SS1-KIRS2 수용체의 발현 및 기능을 평가하였다. DAP12이 적색 형광 단백질과 공동-발현되는 렌티바이러스 벡터, dsRed (DAP12-dsRed) 또는 dsRed-발현 대조군 벡터 (dsRed)를 사용하여, T 세포를 렌티바이러스 DAP12 또는 대조군 벡터로 형질도입한 다음, SS1-KIRS2을 발현하는 시험관내 전사된 RNA로 형질감염시켰다. SS1-KIRS2는 DAP12의 첨가의 부재 하에 T 세포의 표면에서 발현되었지만; SS1-KIRS2의 표면 발현은 DAP12의 첨가에 의해 ~1-log만큼 증가하였다 (도 12a). SS1-KIRS2의 발현에도 불구하고, DAP12의 부재 하의 T 세포는 메소텔린-발현 표적 세포를 용해시키지 못했고, 이는 SS1-KIRS2-촉발 T 세포 세포독성 활성에서의 DAP12의 필요를 입증한다 (도 12b). 이들 데이터는, T 세포 클론에서 천연 KIR2DS2 수용체에 대해 이전에 보고된 바와 같이 (Snyder et al.), 키메라 KIR이 DAP12와 그의 회합에 비의존성인 신호를 제공할 수 있다는 가능성은 배제하지 않는다.

[1156] 천연 KIR2DS2 및 DAP12의 비-공유 회합은 KIR 막횡단 (TM) 도메인 내의 아스파르트산 잔기와 DAP12 TM 도메인 내의 리신 잔기 사이의 정전기적 상호작용에 의존한다 (Feng et al., PLoS biology, 4(5):e142, 2006). TCR 및 CD3 서브유닛의 TM 도메인에서 이들 이온화가능한 아미노산 잔기의 배위가 KIR 및 DAP12와 상이하여 상호작용에 대해 일부 특이성을 제공할 것으로 생각되지만, SS1-KIRS2가 공동-전달된 DAP12 대신 CD3 복합체의 성분과 상호작용할 수 있을 가능성을 조사하였다. CD3 복합체와 TCR 쇄 사이의 회합이 세포 표면 상에서의 TCR 발현에 필요하기 때문에, KIR의 CD3 성분에 대한 경쟁은 클로닝된 TCR의 발현에 의해 이전에 관찰된 바와 같이 정상 TCR 발현을 방해할 것으로 예상될 것이다. 이소성 Vβ 쇄의 T 세포 내로의 도입은 복합체 어셈블리 동안의 경쟁으로 인해 내인성 TCR Vβ의 표면 발현을 감소시키는 것으로 제시된 바 있다 (Varela-Rohena et al., Nature medicine, 14(12):1390-5, 2008). 모의-형질도입된, 대조군 T 세포와 비교하여 KIRS2-형질도입된 폴리클로날 T 세포에서의 TCR Vβ 13.1+의 유사한 빈도 및 강도는 SS1-KIRS2와 내인성 CD3 복합체의 구성원 사이의 유의한 상호작용의 부재를 지지한다 (도 13).

[1157] 세포독성 활성은 T 세포의 생체내 항종양 활성을 위해 중요한 이펙터 기능이지만, 항원-수용체가 시토카인 분비 및 T 세포 증식을 촉발하는 능력도 또한 일반적으로 강건한 생체내 항종양 활성과 상관되는 중요한 특징이다. 따라서, SS1-KIRS2/DAP12-변형된 T 세포, 대 공동자극 도메인 (SS1-ζ)의 부재 하의 또는 CD28 또는 4-1BB 공동-자극 도메인의 존재 하의 (각각 SS1-28ζ 및 SS1-BBζ) CD3ζ-기반 CAR을 보유하는 T 세포에 의한 항원-촉발된 인터페론-γ (IFN-γ) 및 인터류킨-2 (IL-2) 분비를 비교하였다. SS1-ζ 구축물은 IFN-γ 및 IL-2 둘 다의 최저 분비를 자극하였다 (도 10, 11). 인터페론-γ 생산은 SS1-KIRS2/DAP12 또는 SS1-BBζ를 발현하는 T 세포에서 증가하였고 대등한 반면에, SS1-28ζ CAR을 발현하는 T 세포는 유의하게 더 많은 IL-2 및 IFN-γ 생산을 제시하였다 (도 10). 보다 큰 패널의 시토카인 및 케모카인의 분석은 SS1-KIRS2/DAP12가 SS1-ζ 및 SS1-BBζ CAR과 대등한 항원-유도 시토카인 및 케모카인 분비의 규모로 CD3ζ-기반 CAR에 걸쳐 정성적으로 유사한 발현 패턴을 자극한다는 것을 입증하였다 (도 11).

[1158] SS1-KIRS2/DAP12 수용체도 또한 동족 항원에 반응한 T 세포 증식의 강력한 자극제이다 (도 14). 강건한 증식을 위해 추가의 공동자극 신호에 의존하는 표준 SS1-ζ CAR과 달리, SS1-KIRS2/DAP12 T 세포는 항-CD28 효능제 항체가 첨가된 SS1ζ와 대등한 증식을 제시하였다. DAP12의 부재 하에 SS1-KIR2에 의해 제공되는 공동자극의 메카니즘은 다른 어댑터 분자와의 KIR 상호작용과 관련될 수 있다 (Synder et al.). T 세포에 의해 자연 발현되는 추가의 수용체는 또한 공동-전달된 DAP12를 이용할 수 있어서 T 세포 활성화 및 증식에 추가로 기여할 수 있

다. 특히, 인테그린은 T 세포에 대해 공동자극 신호를 제공할 수 있다 (Brunmark et al. (1996) PNAS USA 93(25):14736-41; Zuckerman et al. (1998) J. Immunol. 160(7):3259-68). DAP12는 대식세포 및 호중구에서 인테그린에 의한 외부에서 내부로의 신호전달에 중요한 것으로 보이고 (Jakus et al. (2007) Trends in Cell Biol. 17(10):493-501; Mocsai et al. (2006) Nature Immunol. 7(12):1326-33), T 세포 내 LFA-1 및 다른 인테그린에 대해 고유한 신호전달 활성을 부여하여 SS1-KIRS2/DAP12 활성에 기여할 수 있다.

[1159] CD28 및 4-1BB가 CAR 내로 혼입되어 생체내 CAR T 세포 활성을 증진시킨 바 있지만 (Carpenito et al. (2009) PNAS USA 106(9):3360-65); 공동자극은 항상 면역억제 종양 미세환경을 극복할 수 있는 것은 아니다. 최근에, EM-meso 세포 (악성 중피종을 갖는 환자의 흉막 삼출로부터 유래된 세포주)의 이종이식편을 보유하는 면역결핍 NOD-SCID-$\gamma_c^{-/-}$ (NSG) 마우스 내로 주사한 SS1-BBζ CAR T 세포가 생체내 확장되었지만, 종양 미세환경 내에서 기능저하되었고, 이는 종양 소거의 실패와 연관되었다는 것이 보고되었다 (Moon et al. (2014) Clinical Cancer Res. 20:4262-4273). SS1-KIRS2/DAP12-변형된 T 세포의 활성을 이러한 중피종의 고도로 저항성인 모델에서 평가하였다. 공동자극의 존재 또는 부재 하의 SS1-KIRS2/DAP12 및 CD3ζ-기반 CAR은 대등한 효능으로 EM-meso 세포를 시험관내 용해시킬 수 있었다. 모의-형질도입된 및 DAP12-dsRed-형질도입된 T 세포는 EM-meso 세포에 대해 최소 용해 활성을 제시하였다 (도 36). 모의, SS1ζ, 및 SS1BBζ-형질도입된 T 세포의 단일 정맥내 주사는 확립된 EM-meso 이종이식편에 대해 어떠한 관찰가능한 항종양 효과도 갖지 않았다 (도 15a). 종양 성장은 SS1-28ζ CAR T 세포에 의해 유의하게 지연되었지만; 단지 SS1-KIRS2/DAP12-변형된 T 세포만이 52일째에 EM-meso 종양 성장의 유의한 억제와 함께 종양의 퇴행을 유도하였다 ($p < 0.001$, ANOVA와 함께 사후 쉐페 F-검정). SS1-KIRS2/DAP12 대 DAP12 단독을 발현하는 T 세포 또는 SS1-28ζ 조작된 T 세포를 비교한 제2 실험은 SS1-KIRS2/DAP12 T 세포의 유사한 증진된 항종양 활성을 제시하였다 (도 38). KIR-기반 CAR의 강건한 활성은 메소텔린 특이성으로만 유일하지 않았다. 제2 세대 CD3ζ CAR과 대등한 시험관내 활성을 갖는 CD19-특이적 KIR-기반 CAR을 또한 구축하였다 (도 16b). NALM-6 백혈병 이종이식편 모델에서의 시험은 또한 제1 세대 CAR보다 뛰어나고 4-1BB 공동자극 도메인을 갖는 제2 세대 CAR과 대등한 KIR-CAR 효능을 제시하였다.

[1160] T 세포 생착 및 종양 침윤 림프구 (TIL)의 분석을 수행하여 EM-meso 이종이식편 모델에서의 SS1-KIRS2/DAP12 T 세포의 증진된 항종양 활성의 메카니즘을 연구하였다. 생체내 CAR+ T 세포 지속성에 대해 4-1BB 공동자극 도메인의 이전에 관찰된 효과와 일치하게 (Milone et al.), SS1-BBζ CAR T 세포를 제공받은 마우스만이 혈액 및 비장에서 검출가능한 인간 CD45 (hCD45) 양성 세포를 가졌다. 모의 또는 SS1ζ-처리된 마우스에서 hCD45+ 종양 침윤 림프구 (TIL)는 거의 검출되지 않았다. 대조적으로, SS1-KIRS2/DAP12, SS1-28ζ, 및 SS1-41BBζ CAR T 세포로 처리된 종양은 hCD45+ TIL을 가졌고, 이는 각각의 군과 대등한 빈도를 갖는 2-4%의 총 생존 세포를 포함하였다 (도 15b). 면역조직화학적 염색은 SS1-KIRS2/DAP12, SS1-28ζ, 및 SS1-41BBζ CAR T 세포-처리된 마우스의 종양 내에서 CD8+ 및 CD4+ TIL 둘 다를 제시하였고 (데이터는 제시되지 않음), 유동 세포측정 분석을 확인시켜주었다. SS1-KIRS2/DAP12 T 세포의 증가된 효능은 따라서 종양 성장의 후기 단계에서 종양 내 TIL 빈도와 관련이 없었다. TIL의 비교는 후기 시점에서의 종양 부피의 큰 차이에 의해 제한되기 때문에, T 세포 주사 후 보다 초기 시점에 평가하였다. T 세포 주사 후 10일에, SS1-28ζ 및 SS1-KIRS2/DAP12 CAR T 세포 처리군에서 대등한 빈도의 hCD45+ TIL이 관찰되었지만, SS1-BBζ CAR T 세포 군에서는 CD45+ TIL이 거의 존재하지 않았다 (도 15b). 이들 단리된 TIL의 제한된 분석은 단지 SS1-KIRS2/DAP12 CAR T 세포만이 EM-meso 세포에 대해 시험관내 용해 활성이 있을 수 있다는 것을 제시하였다 (데이터는 제시되지 않음). 이들 결과는 종양-유도된 기능저하와 함께 종양 내로의 SS1-BBζ T 세포의 지연된 축적이, 종양 발생의 후기 단계에서의 그의 높은 빈도에도 불구하고, 이들 세포의 불량한 항종양 활성의 기초가 된다는 것을 나타낸다. 표현형 및 기능적 분석을 위한 보다 많은 수의 TIL을 수득하기 위해 T 세포 주사 후 18일에 TIL 단리를 사용하여 SS1-28ζ 및 SS1-KIRS2/DAP12 CAR T 세포를 비교하는 반복 실험을 수행하였다. 단리된 SS1-28ζ TIL은 치료에 사용된 동결보존된 T 세포와 비교하여 현저하게 감소된 세포독성 활성 및 항원-특이적 IFN-γ 생산을 입증하였다. 대조적으로, SS1-KIRS2/DAP12 CAR T 세포-처리된 종양으로부터의 TIL은 동결보존된 세포와 대등한 시험관내 세포독성 및 IFN-γ 생산을 제시하였다 (도 15e 및 도 37). TIL 및 동결보존된 세포로부터의 단백질 용해물의 CAR 단백질에 대한 이뮤노블롯팅은 CAR 발현의 상실을 입증하였다 (데이터는 제시되지 않음). TIL에서 CAR의 부재는 종양 미세환경 내에서 비-형질도입된 T 세포에 비해 SS1-28ζ CAR T 세포의 발현의 하향조절 또는 불량한 생존으로 인한 것일 수 있다.

[1161] 결론적으로, 본원에 제시된 데이터는 KIR-기반 CAR 및 DAP12의 조합이 T 세포에 대해 인공 항원 특이성을 부여하기 위한 고도로 효과적이고, 항원-특이적인 수용체 시스템을 제공한다는 것을 입증한다. 상대적으로 등가인 시험관내 활성에도 불구하고, 이러한 KIR-기반 CAR은 본원에 사용된 모델 종양 시스템에서 1개 이상의 공동자극

도메인을 갖는 CD3ζ를 기반으로 한 CAR과 비교하여 훨씬 개선된 항종양 효능을 갖는다는 것이 추가로 제시된 바 있으며, 이는 아마도 불활성화에 대한 증가된 저항성으로 인한 것일 수 있다. 이러한 증가된 효능 및 다른 DAP12-연관 리간드-결합 수용체, 뿐만 아니라 추가의 천연 ITAM 함유 수용체 시스템, 예컨대 FcRγ를 기반으로 한 키메라 수용체 설계의 메카니즘에 대한 추가의 연구가 추구될 것이다.

[1162] 실시예 7: KIR-기반 CAR은 표적 세포 상에서의 HLA 발현에 의한 조절을 가능하게 하는 천연 억제 KIR과 공동-발현될 수 있다

[1163] KIR2DL3 리간드 HLA-Cw를 발현하는 K562-meso 세포주의 생성 및 특징화

[1164] 물질 및 방법: 야생형 K562 세포 또는 이전에 메소텔린을 발현하도록 조작된 K562 세포주 (K562-meso)를 HLA-Cw3 대립유전자를 코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 세포를 형광-활성화 세포 분류에 의해 메소텔린 및 HLA-Cw3의 균일한 발현에 대해 분류하였다. HLA-Cw3 발현은 APC에 접합된 W6/32 항-HLA A, B, C 항체를 사용한 염색 후 유동 세포측정법에 의해 확인하였다.

[1165] 결과: 메소텔린 또는 HLA-Cw3을 단독으로 또는 조합하여 발현하는 K562 세포주를 생성할 수 있다 (도 20).

[1166] 1차 인간 T 세포에서의 SS1-KIRS2 및 KIR2DL3의 공동-발현

[1167] 물질 및 방법: 1차 인간 T 세포를 항-CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, DAP12 및 SS1-KIRS2를 발현하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터 단독으로 또는 KIR2DL3을 발현하는 렌티바이러스 벡터와 조합하여 활성화 후 제1일에 형질도입하였다. SS1-KIRS2 CAR의 발현을 비오티닐화 염소-항-마우스 F(ab)2 폴리클로날 항체에 이어 SA-APC를 사용한 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. KIR2DL3 발현은 KIR2D 특이적 모노클로날 항체를 사용하여 결정하였다.

[1168] 결과: DAP12 (KIRS2) 단독, KIR2DL3 단독 또는 2종의 수용체의 조합과 함께 메소텔린-특이적 KIR-기반 CAR을 발현하는 1차 인간 T 세포를 생성할 수 있다 (도 21).

[1169] KIR CAR과 공동발현된 KIR2DL3은 표적 세포 상 HLA-Cw의 존재 하에 항원 특이적 세포독성을 억제할 수 있다

[1170] 물질 및 방법: 1차 인간 T 세포를 항-CD3/28 마이크로비드로 자극한 다음, DAP12 및 SS1-KIRS2를 발현하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. KIR2DL3을 코딩하는 시험관내 전사된 mRNA 5 μg을 생체외 확장 10일 후 전기천공에 의해 렌티바이러스-형질도입된 T 세포 내로 도입하였다. 이들 T 세포 집단을 제시된 바와 같은 ^{51}Cr-표지된 K562 표적 세포 (K562, K562-meso, K562-HLACw 및 K562-meso/HLACw)와 이펙터 T 세포 대 표적 K562 세포의 다양한 비 (E:T 비)로 혼합하였다. 4시간째에 상청액으로 방출된 ^{51}Cr의 분획을 측정함으로써 세포독성을 결정하였다.

[1171] 결과: SS1-KIRS2/DAP12-발현 T 세포는 HLA-Cw3 발현과 관계없이 메소텔린을 발현하는 표적 K562 세포를 사멸시킬 수 있었다. 대조적으로, SS1-KIRS2/DAP12 수용체 복합체 및 억제 KIR, KIR2DL3을 공동-발현하는 T 세포는 HLA-Cw3과 함께 메소텔린을 발현하는 K562에 대해 강건한 세포독성을 나타내는데 실패하였지만; 이들 세포는 메소텔린 단독을 발현하는 K562 세포에 대해 SS1-KIRS2/DAP12-변형된 T 세포와 대등한 세포독성 활성을 입증하였다. 이들 결과는 억제 KIR 수용체가 활성화 KIR-기반 CAR의 기능적 활성을 조절하는 능력을 입증하였다 (도 22).

[1172] 실시예 8: CD19 특이성을 갖는 KIR-기반 CAR은 시험관내 및 생체내에서 항원-특이적 표적 세포 세포독성을 촉발할 수 있다

[1173] CD19 특이성을 갖는 KIR-기반 CAR은 시험관내에서 항원-특이적 표적 세포 세포독성을 촉발할 수 있다

[1174] 물질 및 방법: 항-CD3/항-CD28 비드 활성화 후, T 세포를 FMC63-유래 scFv이 전장 KIR2DS2에 융합된 CD19-특이적 KIR-기반 CAR (CD19-KIR2DS2) 또는 FMC63 scFv를 짧은 링커 $[Gly]_4$-Ser 링커를 통해 KIR2DS2의 막횡단 및 세포질 도메인에 융합시킴으로써 생성된 KIR-기반 CAR (CD19-KIRS2)과 함께 DAP12를 발현하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 형질도입된 T 세포를 대수기 성장 종료 시까지 배양하고, CD19-특이적 KIR-기반 CAR의 발현을 비오티닐화 염소-항-마우스 $F(ab)_2$ 폴리클로날 항체에 이어 SA-PE를 사용한 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. CD19 발현이 있거나 (K562- CD19) 없는 (K562-wt) ^{51}Cr-표지된 K562 표적 세포를 T 세포 대 표적 세포의 다양한 비 (E:T 비)로 혼합하였다. 4시간째에 상청액으로 방출된 ^{51}Cr의 분획을 측정함으로써

세포독성을 결정하였다. 모의 형질도입된 (NTD) 또는 CD19에 특이적인 CD3ζ-기반 CAR로 형질도입된 (CD19-z) 대조군 T 세포를 또한 각각 음성 및 양성 대조군으로서 포함시켰다.

[1175] 결과: 유동 세포측정 분석은 CD19-KIR2DS2, CD19-KIRS2 및 CD19-z로 형질도입된 T 세포의 표면 상에서의 CD19-특이적 scFv의 발현을 입증하였다 (도 16a). CD19-KIR2DS2 또는 CD19-KIRS2와 함께 DAP12를 발현하는 T 세포는 표적 세포를 항원-특이적 방식으로 사멸시킬 수 있었다 (도 16b). KIR-기반 CAR-변형된 T 세포에 의해 나타난 세포독성은 CD19-특이적 CD3ζ-기반 CAR을 발현하는 T 세포와 대등하거나 더 높았다.

[1176] CD19-KIRS2/DAP12로 형질도입된 T 세포는 인간 백혈병 이종이식편에서 종양 퇴행을 유도한다

[1177] 물질 및 방법: NOD-SCID-$\gamma_c^{-/-}$(NSG) 마우스에게 제0일에 1백만개의 Nalm-6 CBG 종양 세포, CD19를 발현하는 백혈병성 세포주를 꼬리 정맥에 의해 정맥내로 생착시켰다. 실험에서, T 세포를 항-CD3/항-CD28 자극제 비드로 자극한 다음, 제1일에 도면에 제시된 바와 같이 공동자극 도메인 (CD19-z, CD19-BBz)의 존재 또는 부재 하의 일련의 CD3-기반 CAR 또는 DAP12를 갖는 CD19-특이적 KIR-기반 CAR, CD19-KIRS2로 렌티바이러스 형질도입하였다. 모의 형질도입된 T 세포 (NTD)를 대조군으로서 사용하였다. T 세포를 대수기 성장의 종료 시까지 생체외 확장시키고, 백혈병성 세포주 주사 후 제5일에 마우스당 2백만개의 CAR T 세포를 정맥내로 주사하였다. 생물발광 영상화를 통해 종양 부담을 평가하였다. 5마리의 동물을 각각의 T 세포 상태에 대해 분석하였다 (도 17).

[1178] 결과: 제시된 생체내 실험에서 (도 17), NTD T 세포는 종양 성장에 대해 어떠한 효과도 갖지 않는 반면에, CD19z, CD19BBz 및 CD19-KIRS2-형질도입된 T 세포는 다양한 항종양 효과를 나타내었다. CD19z T 세포를 주입한 마우스는 종양 부담에서 경미한 감소를 제시하였지만, 발광의 검출가능한 수준을 유지하였다. 대조적으로, CD19BBz 또는 CD19KIRS2 T 세포를 주입한 마우스에서의 종양 세포 발광은 T 세포 주사의 단지 7일 후에 검출 하한치로 떨어졌고 (도 17b, 점선), T 세포-접근불가능한 치아 뿌리 내 백혈병 세포의 작은 저장소 외부에서 완전한 클리어런스를 나타내었다. 제15일즈음, 모의 T 세포 군에서의 종양 부담은 종점 ($2x10^{10}$ 광자/초)을 초과하여 희생시킨 반면에, CD19BBz 및 CD19KIRS2 군에서의 발광은 검출의 하한치에서 유지되었다.

[1179] 실시예 9: 낙타류 단일 VHH 도메인-기반 CAR은 인지가능한 수용체 상호작용 없이 scFv-기반 CAR과 조합하여 T 세포 표면 상에서 발현될 수 있다

[1180] 물질 및 방법: NFAT-의존성 프로모터 하의 GFP (NF-GFP)를 발현하는 Jurkat T 세포를 메소텔린-특이적 활성화 CAR (SS1-CAR), CD19-특이적 활성화 (19-CAR) 또는 EGFR에 특이적인 낙타류 VHH 도메인을 사용하여 생성된 CAR (VHH-CAR)로 형질도입하였다. 활성화 CAR에 의한 형질도입 후, 세포를 이어서 CD19 (19-PD1)를 인식하는 추가의 억제 CAR로 형질도입하여, 활성화 및 억제 CAR 둘 다 (SS1+19PD1, 19+19PD1 또는 VHH+19PD1)를 공동-발현하는 세포를 생성하였다. 형질도입된 Jurkat T 세포를 1) 모든 표적 항원이 결여된 (K562), 2) 메소텔린 (K-meso), CD19 (K-19) 또는 EGFR (A431)만을 발현하는, 3) EGFR 및 메소텔린 (A431-메소텔린) 또는 CD19 (A431-CD19)의 조합을 발현하는, 또는 4) CD19 및 메소텔린 (K-19/meso)의 조합을 발현하는 상이한 세포주와 함께 24시간 동안 공동-배양하였다. 어떠한 자극제 세포도 포함하지 않거나 (no stim) 또는 1 μg/mL의 OKT3과 함께 K562를 포함하는 (OKT3) 추가의 조건을 또한 각각 NFAT 활성화에 대한 음성 및 양성 대조군으로서 포함시켰다. NFAT 활성화의 마커로서 GFP 발현을 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

[1181] 결과: 낙타 및 관련 종 (예를 들어 라마)은 단일 중쇄 유사 가변 도메인을 갖는 항체를 자연 생산하였다. 낙타류 VHH 도메인으로 공지되어 있는 이러한 도메인은 진화하여 경쇄 가변 도메인에 대한 쌍형성없이 존재한다. 도 27a는 수용체 공동-발현 동안 동족 리간드에의 scFv 결합에서 관찰된 붕괴에 의해 입증되는 바와 같이, 2종의 이종 scFv 분자가 세포의 표면 상에 디스플레이된 경우에 해리되고 서로 재-회합할 수 있을 가능성을 개략적으로 제시한다 (도 25 및 도 26). 도 27b는 세포의 표면 상에 디스플레이된 scFv CAR과 VHH 도메인-기반 CAR 사이의 예상되는 감소된 상호작용의 개략적 표현을 제시한다. 도 28은 Jurkat의 표면 상에서의 2종의 scFv-기반 CAR (SS1-z 활성화 CAR 및 CD19-PD1 억제 CAR)의 공동발현이, 활성화 CAR (SS1-z)이 표적 세포 상에서 그의 동족 리간드를 인식하고 억제 수용체의 리간드의 부재에도 불구하고 T 세포 활성화를 촉발하는 것의 불능으로 이어진다는 것을 입증한다. 이는 표면 상에서 관찰된 감소된 리간드 결합과 일치한다 (도 25). 대조적으로, 동일한 억제 CAR (CD19-PD1)과 낙타류 VHH-기반 활성화 CAR (VHH-z)의 공동발현은 VHH-기반 활성화 CAR이 그의 동족 EGFR 리간드를 인식하는 능력에 어떠한 영향도 갖지 않는다. 이들 데이터는 VHH-기반 활성화 CAR이 scFv 및 VHH 도메인의 감소된 상호작용 능력으로 인해 수용체 사이에 유의한 상호작용 없이 scFv-기반 CAR과 함께 발현될 수 있다는 도 27b에 도시된 모델을 지지한다.

[1182] 실시예 10: 메소텔린 특이성을 갖는 NKp46-기반 NCR CAR은 항원 특이적 세포독성을 촉발한다

[1183] 물질 및 방법: 항-CD3/항-CD28 비드 활성화 후, T 세포를 DAP12 및 SS1-KIRS2 (대조군), 또는 FcεRγ 및 메소텔린 특이적 NKp46-기반 CAR (SS1-NKp46), 또는 천연 NKp46 세포외 도메인이 말단절단된 FcεRγ 및 메소텔린-특이적 NKp46 CAR (SS1-TNKp46)을 발현하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 메소텔린-특이적 CAR의 발현을 비오티닐화 염소-항-마우스 F(ab)2 폴리클로날 항체에 이어 SA-PE를 사용한 유동 세포측정법에 의해 평가하였다 (도 18). T 세포를 메소텔린을 발현하는 ^{51}Cr-표지된 K562 표적 세포와 이펙터 T 세포 대 표적 K562 세포의 다양한 비 (E:T 비)로 혼합하였다. 자발적 방출과 비교하여 4시간째에 상청액으로 방출된 ^{51}Cr의 분획을 측정함으로써 세포독성을 결정하였다.

[1184] 결과: SS1-NKp46 및 SS1-NKp46 수용체 둘 다는 T 세포 상에서 표면 발현을 나타내었다. SS1-NKp46 형질도입된 T 세포는 KIR-기반 SS1-KIRS2 CAR과 대등한 강건한 표적 세포 세포용해를 제시하였다. SS1-NKp46은 단지 높은 이펙터 대 표적 세포 비에서만 증명되는 보다 약한 세포독성 활성을 나타내었다 (도 18). 이들 데이터는 T 세포 세포용해 활성을 재지시하는데 사용하기 위한 항원-특이적 키메라 면역수용체가 KIR-기반 CAR을 생성하는데 사용되는 것과 유사한 설계를 사용하여 천연 세포독성 수용체 (NCR)로부터 생성될 수 있다는 것을 입증한다.

[1185] 실시예 11: scFv 도메인의 상호작용

[1186] 물질 및 방법: 도 24에서, Jurkat T 세포를 메소텔린-특이적 억제 KIR-기반 CAR (SS1-KIR2DL3)을 코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 이어서 이들 형질도입된 세포를 다양하게 희석된 CD19-특이적 활성화 KIR-기반 CAR (CD19-KIR2DS2)을 코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 이들 KIR-CAR을 도 23에 개략적으로 제시한다. 둘 다의 CAR에 의한 형질도입 후, 그의 표적 리간드에 결합할 수 있는 무손상 scFv를 갖는 CAR의 표면 발현이 존재하는 세포의 빈도를, 메소텔린-Fc 융합체 단백질에 이어 PE로 표지된 2차 항-Fc 항체 및 APC로 표지된 항-CD19-특이적 (클론 FMC63) 항-이디오타입 모노클로날 항체 둘 다에 의한 염색 후 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. 도 25에서, 항-CD3/28-활성화된 1차 인간 T 세포를 C-말단에 m체리 융합을 보유하는 메소텔린-특이적 CD3z-기반 CAR (SS1z-mCh), CD3z 및 4-1BB 세포질 도메인 (19bbz) 또는 SS1z-mCh 및 19bbz 둘 다의 조합을 갖는 CD19-특이적 CAR을 코딩하는 상이한 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. m체리 및 기능적 SS1 scFv의 발현을 메소텔린-Fc 융합체 단백질에 이어 FITC로 표지된 2차 항-Fc 항체에 의한 염색 후 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. 도 26에서, 항-CD3/28-활성화된 1차 인간 T 세포를 메소텔린-특이적 CD3z-기반 CAR (SS1z), FMC63 scFv를 보유하는 CD19-특이적 CAR (19bbz) 또는 21d4 scFv를 보유하는 CD19-특이적 CAR (21d4bbz) 또는 BL22 scFv를 보유하는 CD19-특이적 CAR (BL22bbz)을 코딩하는 상이한 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였고, 여기서 scFv는 scFv에서 중쇄 가변 도메인 (VH)이 경쇄 가변 도메인 (VL)에 대해 5' (H2L)이거나, VL이 VH에 대해 5'에 위치 (L2H)하는 것으로 구성되었다. 각각의 CD19-특이적 CAR에 의한 형질도입 후, T 세포를 이어서 SS1z로 공동-형질감염하였다. SS1z의 메소텔린에 대한 결합 및 항-CD19 scFv의 표면 발현을 메소텔린-Fc 융합체 단백질에 이어 FITC로 표지된 2차 항-Fc 항체 또는 비오티닐화 단백질 L에 이어 스트렙타비딘-접합된 APC에 의한 염색 후 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

[1187] 결과: 도 24는 세포 표면 상에서의 2종의 무손상, 리간드-결합 scFv-기반 CAR (SS1-KIR2DL3 및 CD19-KIR2DS2)의 공동발현이 상호 배타적임을 제시한다. 도 26은 SS1z-mCh 및 19bbz로 공동-형질도입된 세포에서 감소된 메소텔린 결합을 갖는 m체리 발현 세포의 존재에 의해 예시되는 바와 같이, 세포에서 CAR의 발현에도 불구하고 리간드 결합의 상실이 일어난다는 것을 입증한다. 도 26은 scFv 결합 기능의 상실로 이어지는 scFv 사이의 상호작용이 상이한 scFv-기반 CAR을 사용하여 관찰될 수 있다는 것을 입증하고, 이는 이러한 효과의 보편적인 속성을 지지한다. 이들 관찰은 1종의 scFv의 가변 도메인이 이종 scFv-기반 키메라 수용체와의 분자간 쌍형성을 겪고, 이는 단일 CAR 내의 scFv에 의한 결합의 상실로 이어질 수 있다는 도 27 패널 a에 도시된 모델과 일치한다.

[1188] 실시예 12: 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)를 기반으로 한 키메라 항원 수용체 (CAR)는 고형 종양에서 세포독성 활성을 촉발한다

[1189] CD3ζ의 세포질 도메인에 시스로 연결된 항원 결합 도메인을 보유하는 단일 키메라 분자를 기반으로 한 키메라 항원 수용체 (CAR) 및 공동자극 수용체 CD28 또는 4-1BB는 종양에 대한 T 세포 세포독성을 조작하기 위한 강력한 방법을 제공한다. 자연 킬러 (NK) 세포 및 T 세포에 의해 정상적으로 발현되는 킬러 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)를 기반으로 한 키메라 다중쇄 수용체를 사용하였다. 단일 쇄 가변 단편 (scFv)을 KIR의 막횡단 및 세포질 도메인에 융합시킴으로써 구축된 것은, 메소텔린을 표적화하는 KIR-기반 CAR (SS1-KIR)이 추가의 공

동자극에 의존한 항원-유도된 증식을 갖는 CD3ζ-기반 CAR과 대등한 항원-특이적 세포독성 활성 및 시토카인 생산을 촉발한다는 것을 제시하였다. T 세포 면역요법에 대해 저항성인 중피종의 이종이식편 모델을 사용하여, 메소텔린을 표적화하는 KIR-기반 CAR이 메소텔린-특이적 CD3ζ-기반 CAR을 보유하는 T 세포와 비교하여, 후자의 CAR-변형된 T 세포의 생체내 지속성에도 불구하고, 공동자극에 의해 보다 강력한 항종양 활성을 나타낸다는 것을 추가로 입증하였다. 종양 침윤 림프구의 평가는 KIR-기반 CAR+ T 세포가 공동자극 수용체 도메인을 갖는 CD3ζ-기반 CAR과 비교하여 종양 미세환경 내에서의 획득 기능저하에 대해 저항성을 제시한다는 것을 입증하였다. 제2 세대 CD3ζ-기반 CAR이 제한된 활성을 제시했던 종양의 퇴행을 KIR-기반 CAR이 유도하는 능력은 중피종 및 다른 종양, 예를 들어 다른 고형 종양에서의 KIR-기반 CAR의 향후 임상 평가를 지지한다.

[1190] 실시예 13: 메소텔린-특이적 CAR의 생체내 항종양 활성

[1191] 실시예 6에 기재된 이종이식편 실험에서와 유사하게, 일련의 메소텔린-기반 CAR 구축물을 중피종 모델에서 시험하여 생체내 항종양 활성을 평가하였다. 3종의 메소텔린-특이적 CAR 구축물을 시험하였다 (도 39에 제시된 바와 같음): SS1 항원 결합 도메인, 및 CD28 및 CD3제타 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 세포질 도메인을 함유하는 제2 세대 CAR 구축물 (SS1-28ζ, 도 39c), SS1 항원 결합 도메인, 및 하나의 쇄 상에 KIR2DS2 세포질 도메인 및 또 다른 쇄 상에 어댑터 분자 DAP12를 포함하는 다중-쇄 KIR-CAR (SS1-KIRS2/DAP12, 도 39a), 및 SS1 항원 결합 도메인, 및 DAP12를 함유하는 세포질 도메인을 함유하는 단일 쇄 KIR-CAR (SS1-DAP12, 도 39b). 사용된 SS1-DAP12 구축물의 막횡단 도메인은 CD8 막횡단 도메인이었다.

[1192] 성체 NSG 마우스에게 $2x10^6$개의 EM-meso 세포를 이전 및 실시예 6에 기재된 바와 같이 피하로 주사하였다. 1차 인간 T 세포를 SS1-28ζ, SS1-KIRS2/DAP12, SS1-DAP12로 형질도입하여 90% 형질도입 효율을 달성하거나, 모의 형질도입하였다. $4.3x10^6$개의 CAR-형질도입된 또는 모의-형질도입된 1차 인간 T 세포를 종양 이식 후 제20일에 정맥내로 주사하였다. 상기 시점에서 캘리퍼에 의해 식 (π/6) x (길이) x (너비)^{2}를 사용하여 종양 부피를 측정하였다 (군당 n = 5 마우스). 종양 부피를 CAR T 세포 치료군에 걸쳐 제40일 (종양 퇴행의 최저점) 및 제52일 (실험의 종료)에 사후 쉐페 F-검정에 의해 수행되는 군-사이 비교와 함께 일원 ANOVA ($p < 0.001$)에 의해 비교하였다. *는 둘 다의 시점에서 모의 대조군과 통계적으로 상이하다는 것을 나타낸다 ($p < 0.001$).

[1193] 도 40에 제시된 바와 같이, SS1-DAP12는 모의 형질도입된 및 T 세포가 없는 대조군과 비교하여 종양 부피의 감소를 발생시켜 항종양 활성을 제시하였다. SS1-KIRS2/DAP12는, 실시예 6에 기재된 결과와 유사하게, SS1-28ζ 구축물에 의해 달성된 것과 등가의 강건한 항종양 활성을 제시하였다.

[1194] 실시예 14: 메소텔린에 결합하는 인간 항원 결합 도메인을 함유하는 NKR-CAR의 시험관내 활성

[1195] 메소텔린에 결합하는 인간 항원 결합 도메인을 함유하는 NKR-CAR을 생성하였다. 표 4에 제공된 바와 같은 메소텔린, M-5, M-11, M-12, M-14, M-16, M-17, M-21 및 M-23에 결합하는 인간 scFv 서열을 KIR2DS2로부터 유래된 막횡단 도메인 및 세포질 도메인에 융합시켰고, 이를 이하에서 huMeso-KIRS2로 칭한다. 렌티바이러스 구축물, 예를 들어 펩티드 절단 부위 T2A에 의해 NKR-CAR에 연결된 DAP12를 추가로 포함하는 비시스트론 렌티바이러스 벡터를 이전 실시예에 기재된 바와 같이 생성하였다. 다양한 시험관내 검정을 수행하여 인간 항-메소텔린 scFv를 함유하는 메소텔린-특이적 NKR-CAR의 CAR 활성을 평가하였다.

[1196] 표면 발현

[1197] 1차 인간 T 세포 상에서의 huMeso-KIRS2 구축물의 표면 발현을 결정하기 위해 검정을 수행하였다. 1차 인간 T 세포를 항-CD3/항-CD28 T 세포 활성화제 비드 (디나비즈® CD3/CD28 CTS™, 라이프 테크놀로지스)로 자극하였다. 자극 24시간 후, T 세포를 huMeso-KIRS2 CAR: M-5, M-11, M-12, M-14, M-16, M-17, M-21, 및 M23, 또는 대조군 SS1-PLENS 및 SS1-PTRPE를 코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하였다. 세포를 7-8일 동안 확장시키고, 제시된 CAR의 발현에 대해 가용성 메소텔린-V5-Hisx12에 이어 V5 에피토프에 대한 FITC-접합된 항체, 또는 비오티닐화 염소 항 인간 항체에 이어 PE-접합된 SA를 사용하여 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. huMeso-KIRS2 구축물의 표면 발현을 도 41에 제시된 바와 같이 유동 세포측정법 분석에 의해 정량화하였다. huMeso-KIRS2 구축물은 1차 인간 T 세포의 표면 상에서의 발현을 입증하였다.

[1198] 세포독성

[1199] huMeso-KIRS2를 발현하는 CAR 세포의 표적-특이적 세포독성 활성을 또한 검정하였다. huMeso-KIRS2를 발현하는 1차 인간 T 세포를 ^{51}Cr-표지된 메소텔린-발현 표적 세포 (메소텔린을 발현하도록 조작된 K562 세포, K562-

meso) 또는 메소텔린을 발현하지 않는 대조군 표적 세포 (K562 세포, K562)와 이펙터 T 세포 대 표적 세포의 다양한 비 (0:1, 10:1, 20:1, 및 30:1)로 혼합하였다. 4시간 후에 상청액으로 방출된 ^{51}Cr의 분획을 측정함으로써 세포독성을 결정하였다. 메소텔린을 발현하지 않는 대조군 세포 (K562)를 사용한 대조군 실험에서 예상되는 바와 같이, CAR-발현 세포 중 어느 것도 유의한 양의 세포독성을 입증하지 못했다. 도 42b에서, 비형질도입된 (NTD) 세포는 항원-특이적 세포독성을 입증하지 못했다. M-23 및 M-12 scFv를 함유하는 HuMeso-KIRS2는 항원-특이적 세포독성을 거의 입증하지 못했다. 그러나, M-5, M-11, M-16, M-17, 및 M-21을 함유하는 huMeso-KIRS2는 SS1-함유 대조군의 그것과 유사한 수준의 유의한 항원-특이적 세포독성을 입증하였다.

[1200] 시토카인 생산

[1201] huMeso-KIRS2-발현 CAR 세포의 시토카인 생산을 또한 평가하였다. 이전에 기재된 바와 같이 1차 인간 T 세포를 자극하고, huMes-KIRS2로 형질도입하고, 확장시켰다. 확장 후, 형질도입된 T 세포를 K562 (메소텔린-음성 세포, 백색 막대) 또는 메소텔린을 발현하도록 조작된 K562 세포 (흑색 막대)와 2:1의 비로 혼합하였다. 시토카인 농도 (IFNɣ 및 IL-2)를 자극 24시간 후 상청액에서 상기 시토카인에 대한 ELISA에 의해 결정하였다. 도 43a에 제시된 바와 같이, M-5, M-11, M-14, M-16, M-17, 및 M-23 함유 huMeso-KIRS2-발현 CAR 세포는 IFNɣ를 생산하였다. 도 43b에 제시된 바와 같이, M-5, M-11, M16, 및 M17 함유 huMes-KIRS2-발현 세포는 IL-2를 생산하였다.

[1202] 실시예 15: 낮은 용량의 RAD001은 세포 배양 모델에서 CART 증식을 자극한다

[1203] CART-발현 세포를 표적 세포와 상이한 농도의 RAD001의 존재 하에 공동-배양함으로써 시험관내 CAR T 세포 증식에 대한 낮은 용량의 RAD001의 효과를 평가하였다.

[1204] 물질 및 방법

[1205] CAR-형질도입된 T 세포의 생성

[1206] 인간화, 항-인간 CD19 CAR (huCART19) 렌티바이러스 전달 벡터를 사용하여 VSVg 유사형화 렌티바이러스 입자 내에 패키징된 게놈 물질을 생산하였다. 인간화 항-인간 CD19 CAR (huCART19)의 아미노산 및 뉴클레오티드 서열은 2014년 3월 15일에 출원된 PCT 공개 WO2014/153270에 기재된 CAR 1, ID 104875이고, 거기서 서열식별번호: 85 및 31로 지정되어 있다.

[1207] 렌티바이러스 전달 벡터 DNA를 3종의 패키징 성분 VSVg env, gag/pol 및 rev와, 리포펙타민 시약과 조합하여 혼합하여 렌티-X 293T 세포를 형질감염시켰다. 이후 배지를 24h 및 30h 후에 바꾸고, 바이러스-함유 배지를 수집하고, 여과하고, -80℃에서 저정하였다. 건강한 공여자 혈액 또는 류코팩(leukopak)의 음성 자기 선택에 의해 수득된 신선한 또는 동결된 나이브 T 세포의 형질도입에 의해 CART를 생성하였다. 항-CD3/항-CD28 비드와 24h 동안 인큐베이션하여 T 세포를 활성화시키고, 그 후 바이러스 상청액 또는 농축된 바이러스 (각각 MOI=2 또는 10)를 배양물에 첨가하였다. 변형된 T 세포가 약 10일 동안 확장되게 하였다. 형질도입된 세포 (세포 표면 상에서 CAR을 발현함)의 백분율 및 CAR 발현의 수준 (상대 형광 강도, 기하 평균)을 제7일 내지 제9일에 유동 세포측정 분석에 의해 결정하였다. 성장 속도의 감속 및 ~350 fL에 근접한 T 세포 크기의 조합은 추후 분석을 위해 동결보존될 T 세포에 대한 상태를 결정한다.

[1208] CART의 증식의 평가

[1209] CART의 기능성을 평가하기 위해, T 세포를 해동하고, 카운팅하고, 셀로미터에 의해 생존율을 평가하였다. 각각의 배양물 중 CAR-양성 세포의 수를 비-형질도입된 T 세포 (UTD)를 사용하여 정규화하였다. CART에 대한 RAD001의 영향을 50nM에서 출발하는 RAD001을 사용한 적정에서 시험하였다. 모든 공동-배양 실험에 사용된 표적 세포주는 CD19를 발현하고 루시페라제를 발현하도록 형질도입된 인간 전-B 세포 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 세포주인 Nalm-6이다.

[1210] CART의 증식을 측정하기 위해, T 세포를 표적 세포와 1:1의 비로 배양하였다. 세포가 CD3, CD4, CD8 및 CAR 발현에 대해 염색된 경우에 검정을 4일 동안 실행하였다. T 세포의 수는 참조로서 비드를 카운팅하는 것을 사용하여 유동 세포측정법에 의해 평가하였다.

[1211] 결과

[1212] CART 세포의 증식 능력을 4일 공동-배양 검정에서 시험하였다. CAR-양성 CD3-양성 T 세포 (어두운 막대) 및 총 CD3-양성 T 세포 (연한 막대)의 수는 CAR-형질도입된 및 비-형질도입된 T 세포를 Nalm-6과 배양한 후에 평가하

였다 (도 39). huCART19 세포는 0.016 nM 미만의 RAD001의 존재 하에 배양한 경우에 확장되었고, 보다 높은 화합물의 농도에서 더 낮은 정도로 확장되었다. 중요한 것은, 0.0032 및 0.016 nM RAD001 둘 다에서의 증식이 RAD001의 첨가의 부재 하에 관찰된 것보다 더 높았다. 비-형질도입된 T 세포 (UTD)는 검출가능한 확장을 제시하지 않았다.

[1213] 실시예 16: 낮은 용량의 RAD001은 생체내 CART 확장을 자극한다

[1214] 본 실시예는 huCAR19 세포가 상이한 농도의 RAD001에 의해 생체내 증식하는 능력을 평가한다.

[1215] 물질 및 방법:

[1216] NALM6-luc 세포: NALM6 인간 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 세포주는 재발성 ALL을 갖는 환자의 말초 혈액으로부터 발생하였다. 이어서 세포를 반딧불이 루시페라제로 태그부착하였다. 이들 현탁 세포를 10% 열 불활성화된 태아 소 혈청으로 보충된 RPMI에서 성장시켰다.

[1217] 마우스: 더 잭슨 래보러토리로부터 6주령 NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ) 마우스를 제공받았다 (스톡 번호 005557).

[1218] 종양 이식: NALM6-luc 세포를 10% 열 불활성화된 태아 소 혈청으로 보충된 RPMI에서 시험관내 성장 및 확장시켰다. 이어서 세포를 15 ml 원추형 튜브로 옮기고, 차가운 멸균 PBS로 2회 세척하였다. 이어서 NALM6-luc 세포를 카운팅하고, PBS의 밀리리터당 10x10^{6}개 세포의 농도로 재현탁시켰다. 세포를 빙상에 두고, 즉시 (1시간 내) 마우스에 이식하였다. 마우스당 총 1x10^{6}개 세포를 위해 NALM6-luc 세포를 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 100 μl 부피로 주사하였다.

[1219] CAR T 세포 투여: 마우스에게 종양 이식 7일 후 5x10^{6}개 CAR T 세포를 투여하였다. 세포를 37℃ 수조 내에서 부분적으로 해동한 다음, 세포를 함유하는 튜브에 1 ml의 차가운 멸균 PBS를 첨가하여 완전히 해동하였다. 해동된 세포를 15 ml 팔콘 튜브로 옮기고, PBS를 사용하여 10 ml의 최종 부피로 조정하였다. 세포를 1000rpm에서 각각 10분 동안 2회 세척한 다음, 혈구계 상에서 카운팅하였다. 이어서, T 세포를 차가운 PBS ml당 50x10^{6}개 CAR T 세포의 농도로 재현탁시키고, 마우스에게 투여할 때까지 빙상에 유지시켰다. 마우스당 5x10^{6}개 CAR T 세포의 용량을 위해 마우스에게 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 100 μl의 CAR T 세포를 주사하였다. 군당 8마리의 마우스를 100 μl의 PBS 단독 (PBS) 또는 인간화 CD19 CAR T 세포로 처리하였다.

[1220] RAD001 투여: 1mg RAD001과 동등한 50mg의 농축된 마이크로-에멀전을 제제화한 다음, 투여 시점에 D5W (물 중 덱스트로스 5%) 중에 재현탁시켰다. 마우스에게 200 μl의 목적하는 용량의 RAD001을 경구로 매일 (경구 위관영양을 통해) 투여하였다.

[1221] PK 분석: 마우스에게 RAD001을 종양 이식 7일 후에 시작하여 매일 투여하였다. 투여 군은 하기와 같다: 0.3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 및 10 mg/kg. RAD001의 최초 및 최종 용량 후 제0일 및 제14일에 마우스에서 채혈하고, 하기 시점에 PK 분석하였다: 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간, 및 24시간.

[1222] 결과:

[1223] 확장 및 RAD001의 약동학을 NALM6-luc 종양을 갖는 NSG 마우스에서 시험하였다. RAD001 단독을 매일 경구 투여하는 것은 NALM6-luc 종양의 성장에 대해 영향을 갖지 않았다 (도 40). RAD001의 약동학적 분석은 그것이 종양 보유 마우스의 혈액 중에서 상당히 안정하다는 것을 제시하였다 (도 41a 및 41b). 제0일 및 제14일 둘 다의 PK 분석은 혈액 중 RAD001 농도가 시험된 최저 용량 (0.3 mg/kg)에서 투여 24시간 후에도 10nm을 초과한다는 것을 제시하였다.

[1224] 이들 용량에 기초하여, huCAR19 CAR T 세포를 RAD001의 존재 및 부재 하에 투여하여 이들 세포의 증식 능력을 결정하였다. 투여 24시간 후 혈액 중 RAD001의 수준에 기초하여 사용된 최고 용량은 3 mg/kg이었다. RAD001의 농도가 RAD001의 최종 용량 24시간 후에 10nM을 초과하였기 때문에, CAR T 세포를 사용한 생체내 연구에 여러 더 낮은 용량의 RAD001을 사용하였다. CAR T 세포를 매일 경구 RAD001 투여를 시작하기 1일 전에 IV 투여하였다. FACS를 통해 T 세포 확장에 대해 마우스를 모니터링하였다.

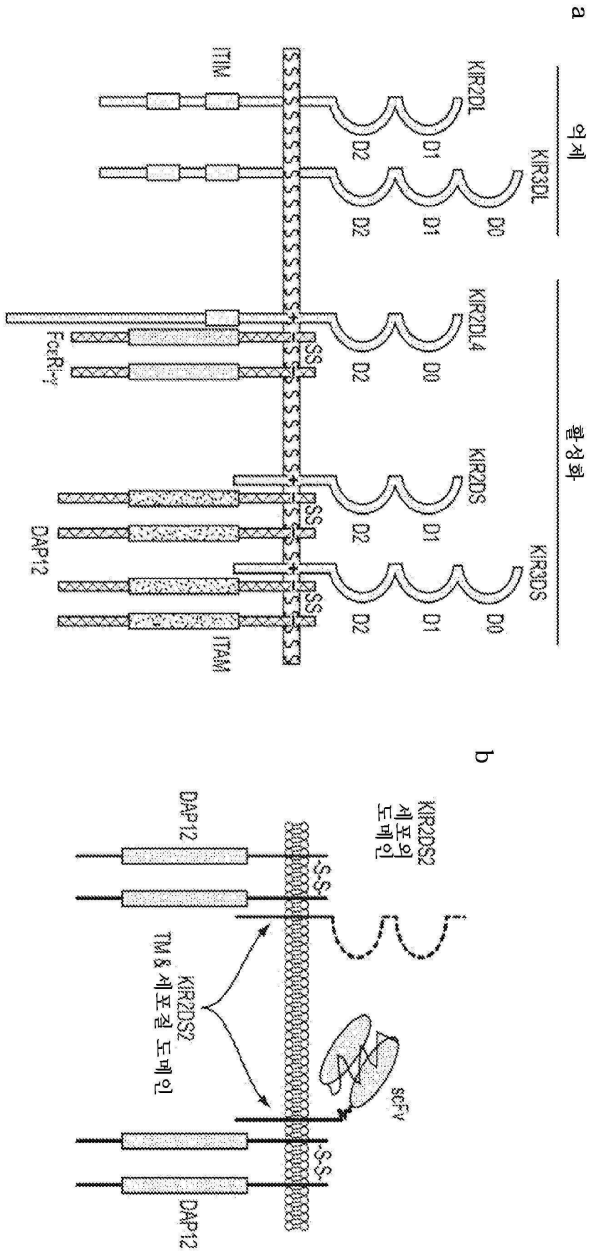
[1225] RAD001의 최저 용량은 CAR T 세포의 증진된 증식을 제시하였다 (도 42). 이러한 증진된 증식은 CD8$^+$ CAR T 세

포보다 $CD4^+$ CAR T 세포를 사용한 경우에 보다 명백했고, 연장되었다. 그러나, $CD8^+$ CAR T 세포에 의하면, CAR T 세포 투여 후 초기 시점에 증진된 증식을 관찰할 수 있었다. 실시양태에서, RNA CART 세포는 또한 체크포인트 억제제와 조합되어 사용될 수 있다.

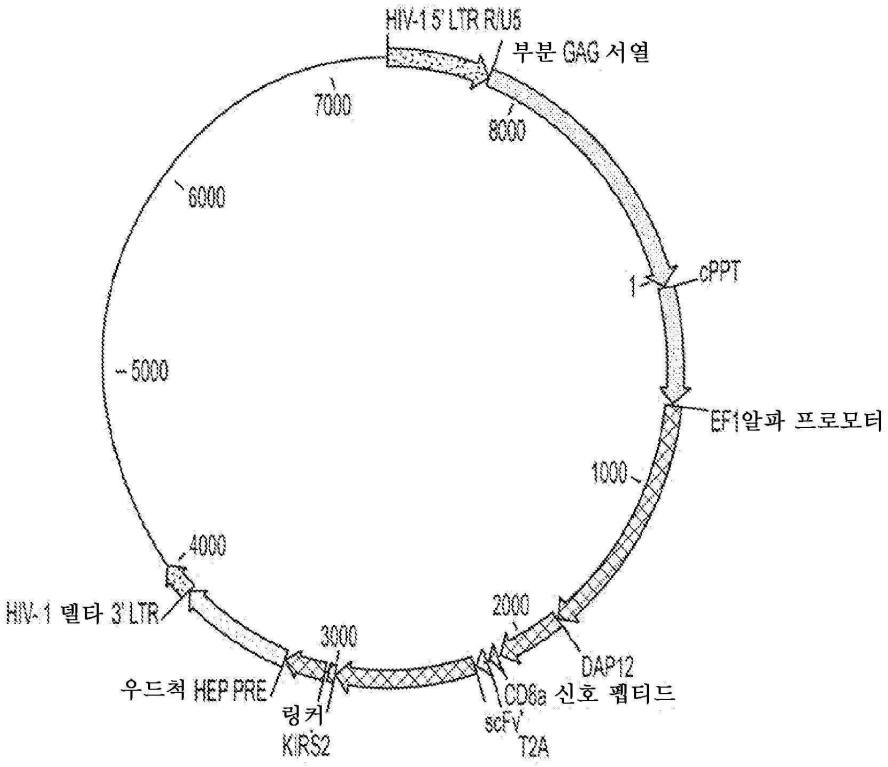
[1226] 본원에 인용된 각각의 및 모든 특허, 특허 출원 및 공개의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 본 발명은 구체적 실시양태와 관련하여 개시되지만, 관련 기술분야의 다른 통상의 기술자가 본 발명의 진정한 취지 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 본 발명의 다른 실시양태 및 변형을 고안할 수 있을 것임이 분명하다. 첨부된 청구범위는 모든 이러한 실시양태 및 동등한 변형을 포함하는 것으로 해석되는 것으로 의도된다.

도면

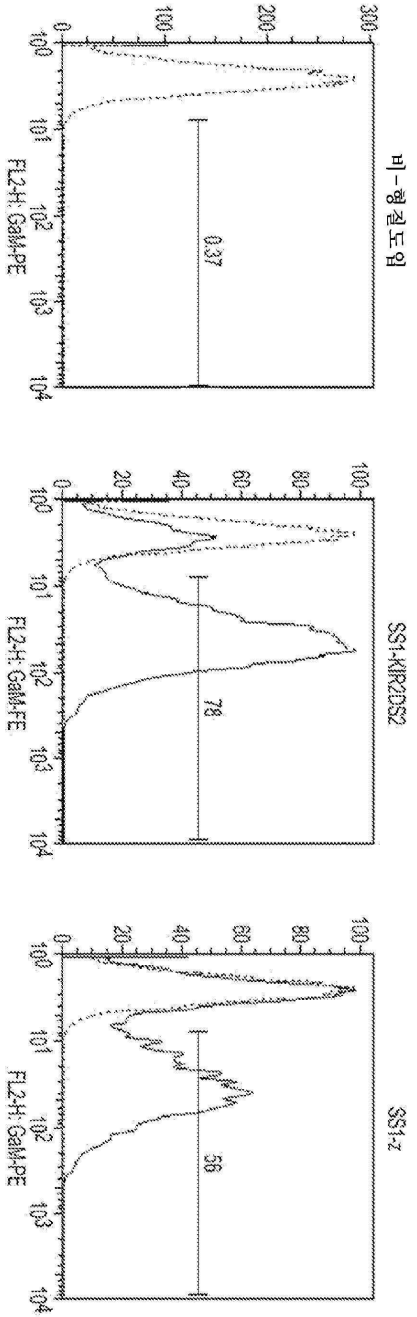
도면1



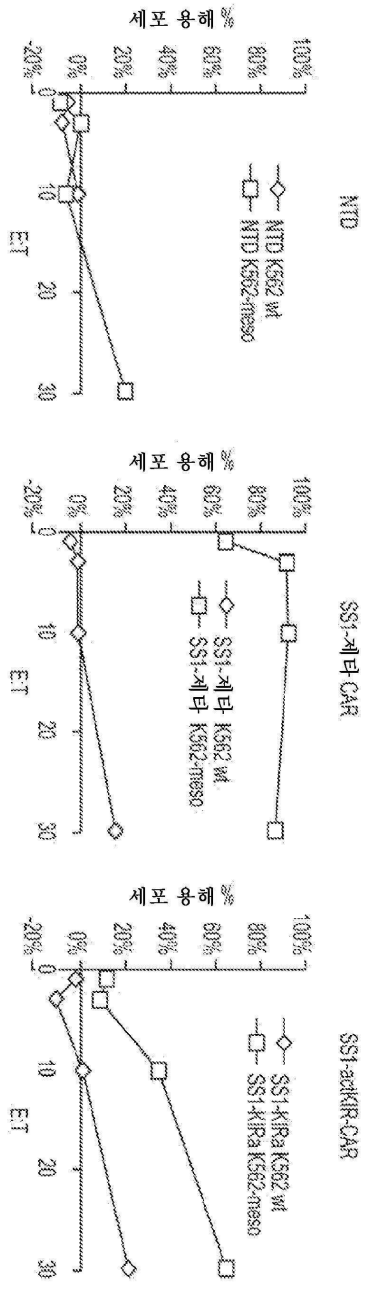
도면2


HIV-1 5' LTR R/U5
부분 GAG 서열
7000
8000
6000
1
cPPT
5000
EF1알파 프로모터
1000
4000
2000
HIV-1 델타 3' LTR
3000
DAP12
우드척 HEP PRE
링커
CD8a 신호 펩티드
scFV
KIRS2
T2A

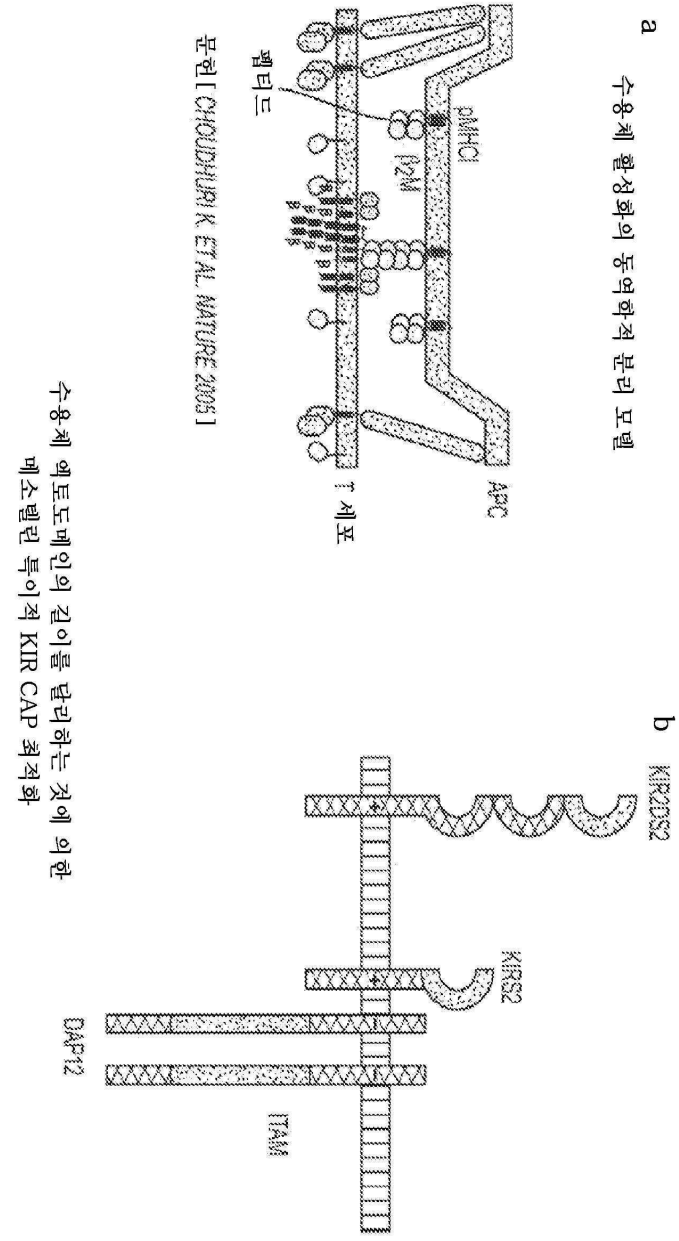
도면3


비-형질도입
0.37
FL2-H: GalM-PE
SS1-KIR2DS2
78
FL2-H: GalM-PE
SS1-z
56
FL2-H: GalM-PE

도면4

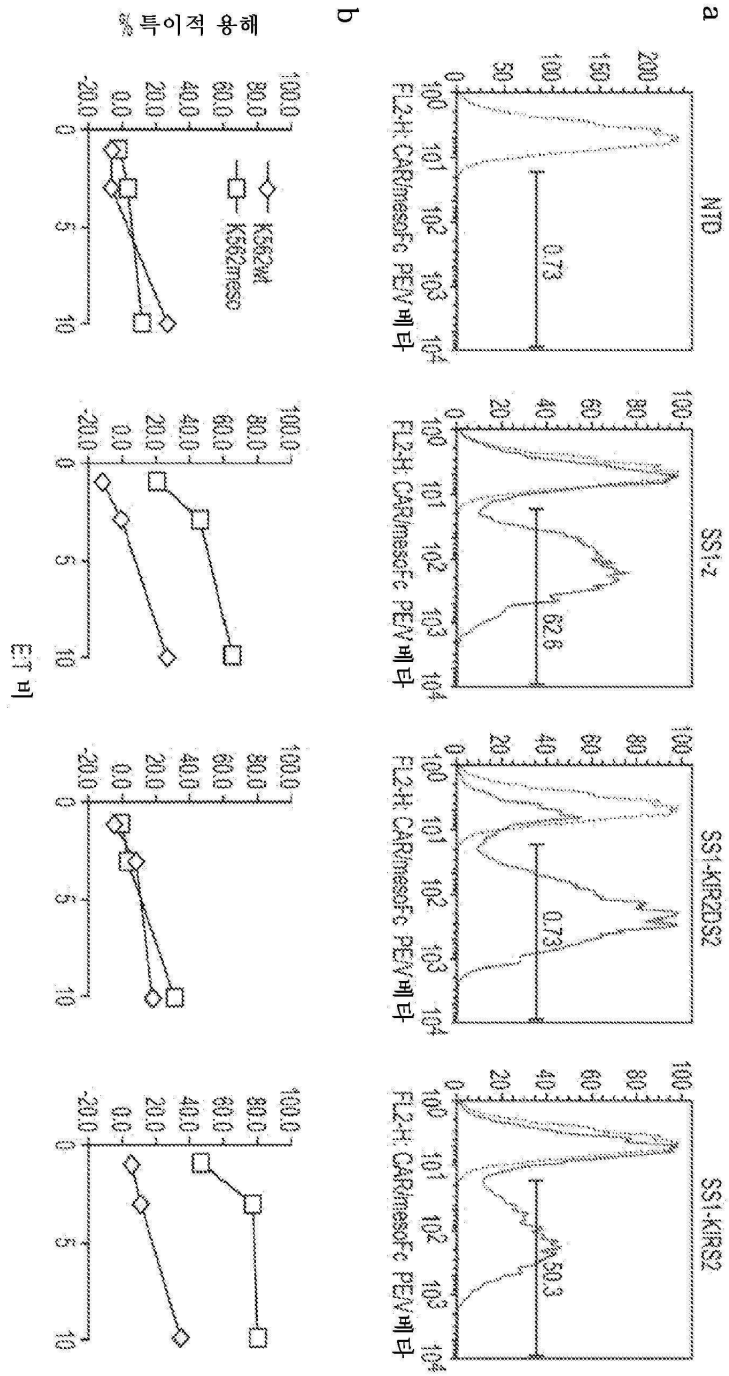

세포 용해 %
-20%
0%
20%
40%
60%
80%
100%
0
10
20
30
ET
MTD K562 wt
MTD K562-meso
MTD
SS1-케타 K562 wt
SS1-케타 K562-meso
SS1-케타 CAR
SS1-KIRa K562 wt
SS1-KIRa K562-meso
SS1-actKIR-CAR

도면5

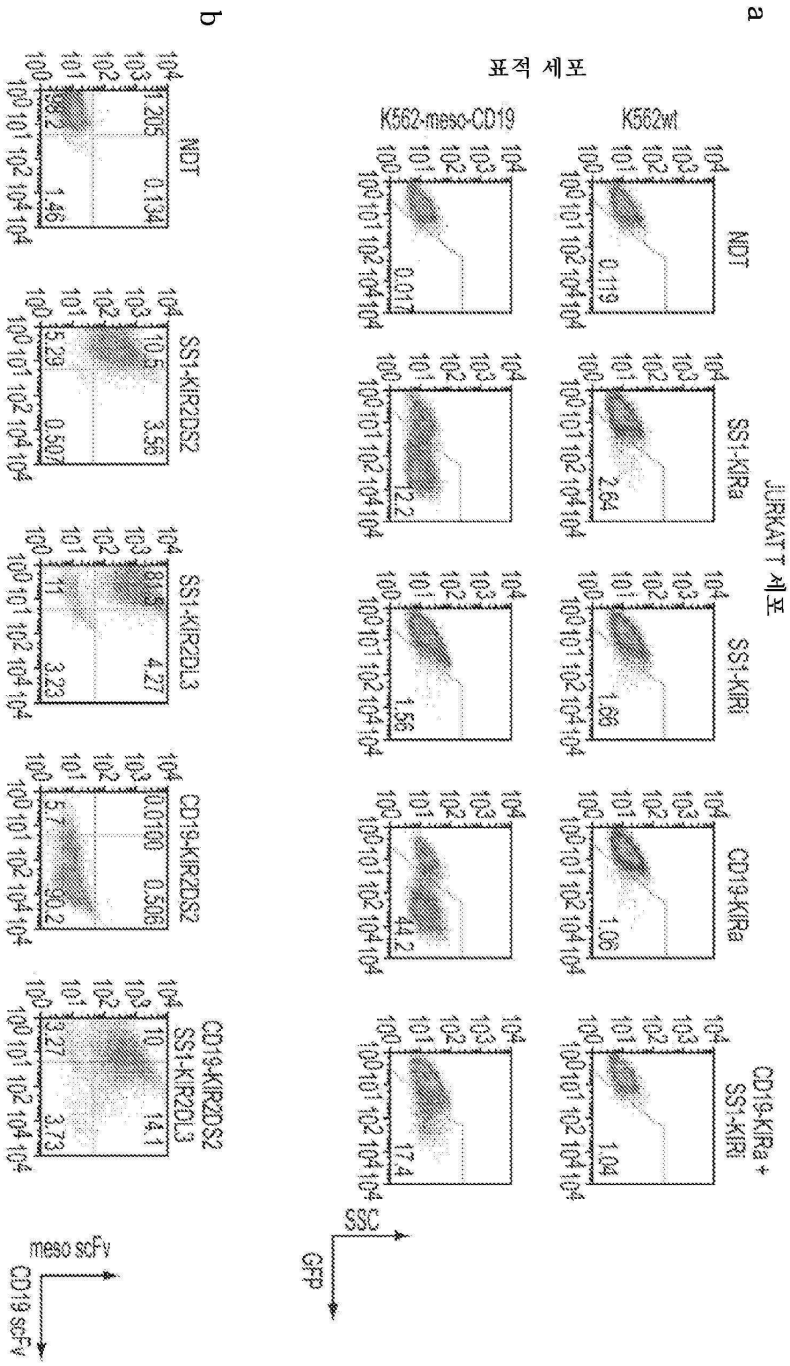


수용체 엑토도메인의 길이를 달리하는 것에 의한
메소렐린 특이적 KIR CAP 최적화

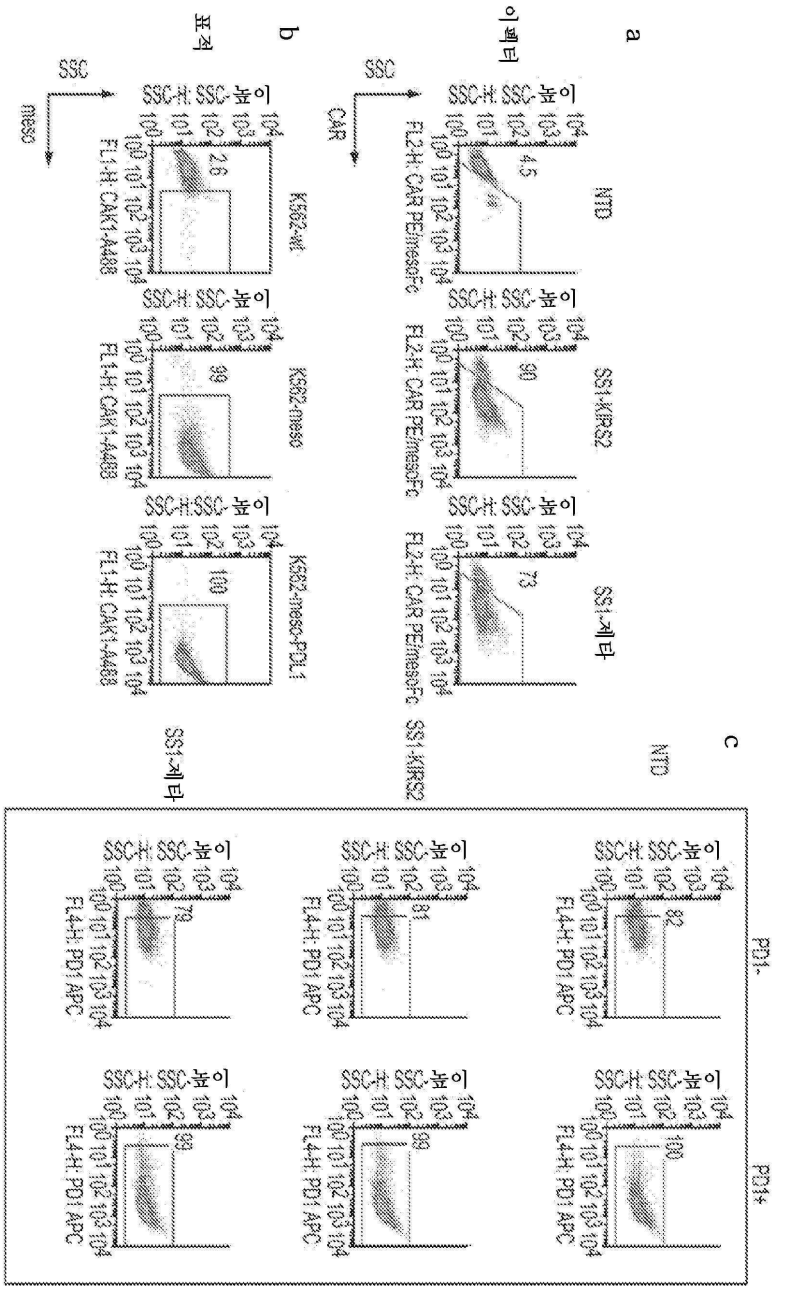
도면6


a
b
NTD
SS1-z
SS1-KIR2DS2
SS1-KIRS2
FL2-H: CAR/mesoFc PE/V베타
0.73
92.8
0.73
AN50.3
E:T 비
% 특이적 용해
K562WT
K562meso

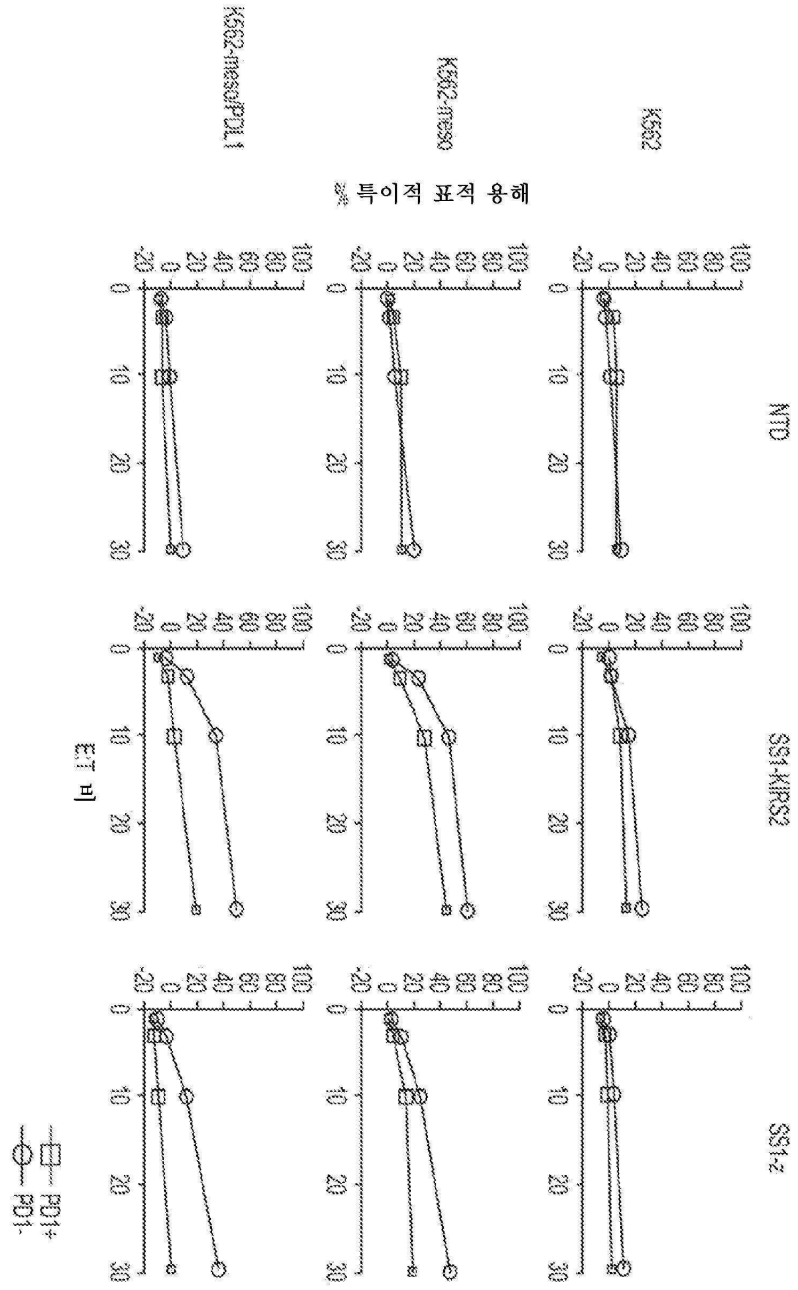
도면7


a
표적 세포
K562wt
K562-meso-CD19
JURKAT 세포
MDT
SS1-KIRa
SS1-KIRI
CD19-KIRa
CD19-KIRa + SS1-KIRI
SSC
GFP
b
MDT
SS1-KIR2DS2
SS1-KIR2DL3
CD19-KIR2DS2
CD19-KIR2DS2 SS1-KIR2DL3
meso scFv
CD19 scFv

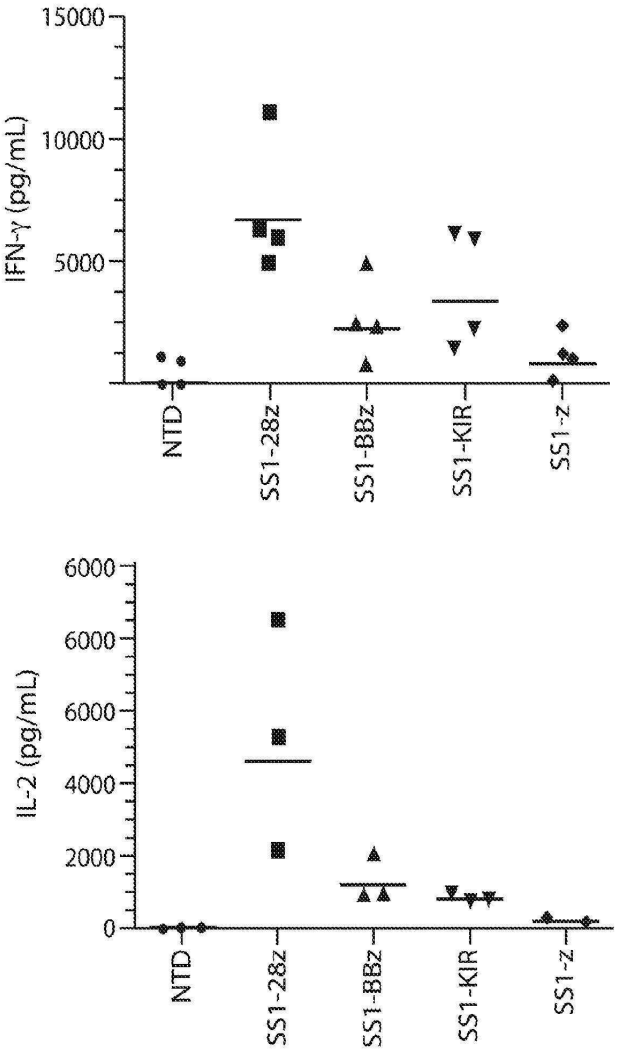
도면8


a
이펙터
SSC
CAR
NTD
SS1-KIRS2
SS1-제타
b
표적
SSC
meso
K562-wt
K562-meso
K562-meso-PDL1
c
NTD
SS1-KIRS2
SS1-제타
PD1-
PD1+
SSC-높이
FL4-H: PD1 APC

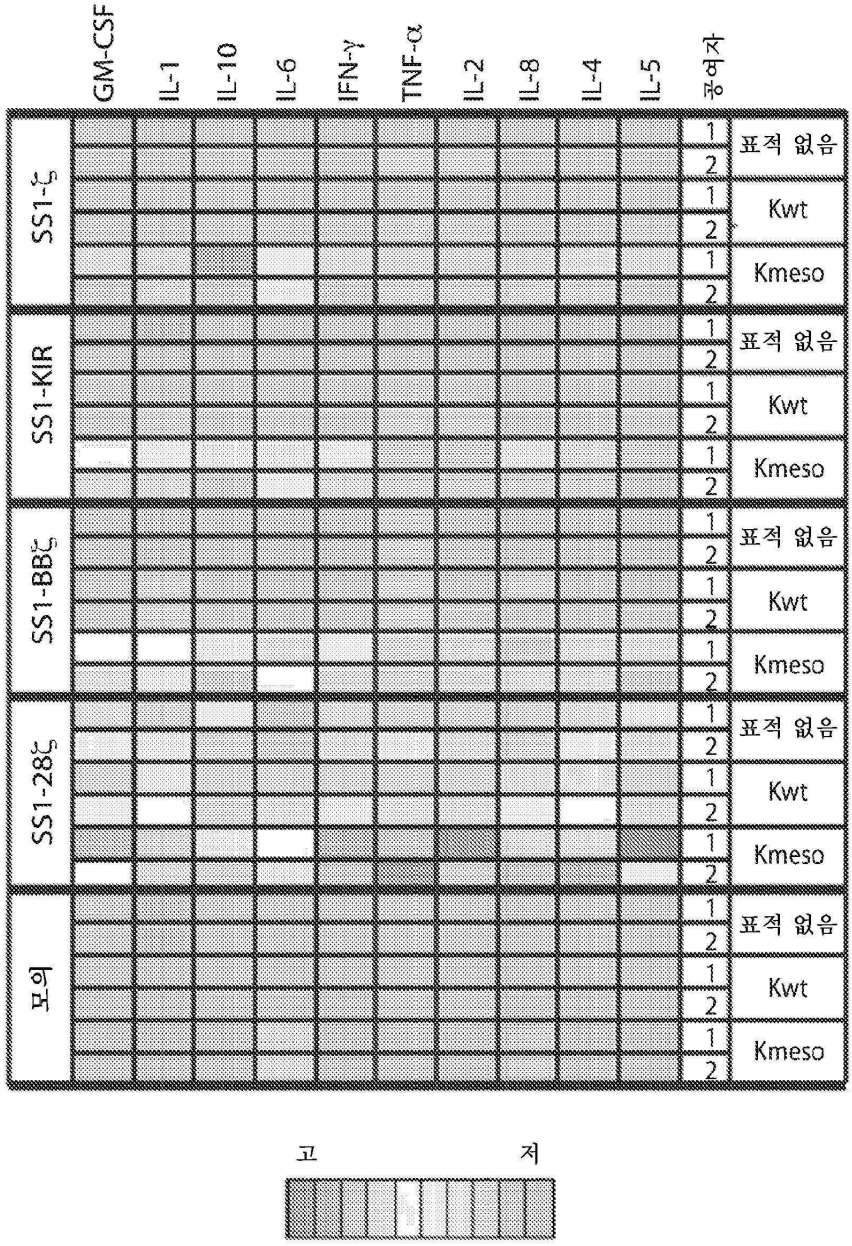
도면9


K562-mesoPDL1
K562-meso
K562
% 특이적 표적 용해
WT1D
SS1-KIRS3
SS1-z
E:T 비
PD1+
PD1-
0
10
20
30
-20
0
20
40
60
80
100

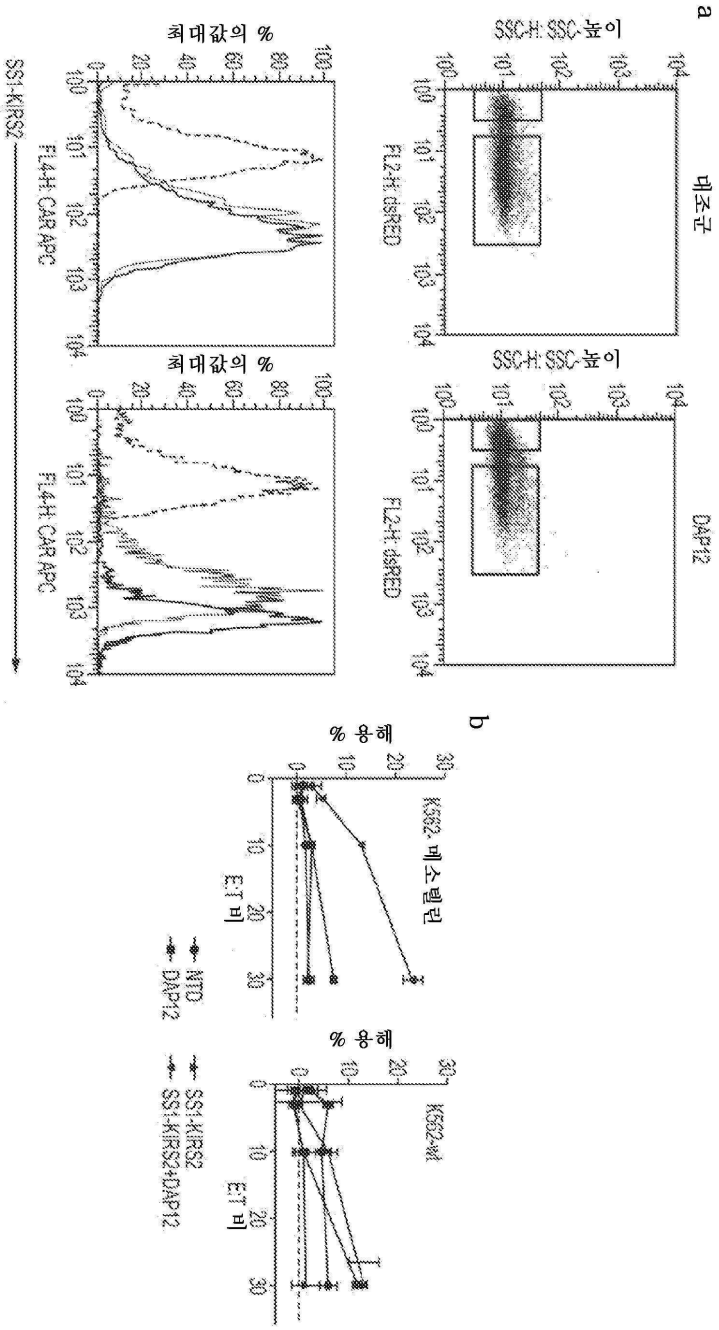
도면10


15000
10000
5000
IFN-γ (pg/mL)
NTD
SS1-28z
SS1-BBz
SS1-KIR
SS1-z
6000
6000
6000
4000
2000
0
IL-2 (pg/mL)
NTD
SS1-28z
SS1-BBz
SS1-KIR
SS1-z

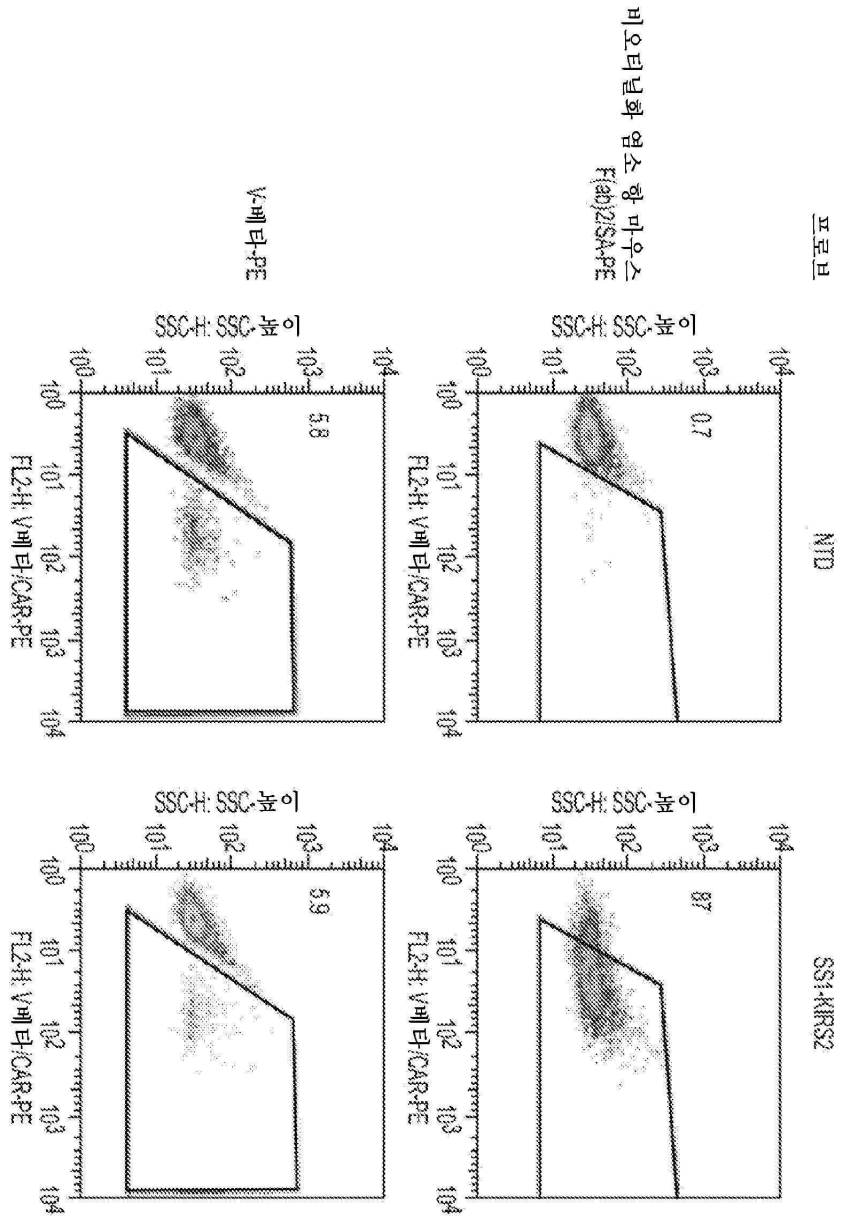
도면11


GM-CSF
IL-1
IL-10
IL-6
IFN-γ
TNF-α
IL-2
IL-8
IL-4
IL-5
공여자
SS1-ζ
SS1-KIR
SS1-BBζ
SS1-28ζ
모의
1
2
표적 없음
Kwt
Kmeso
고
저

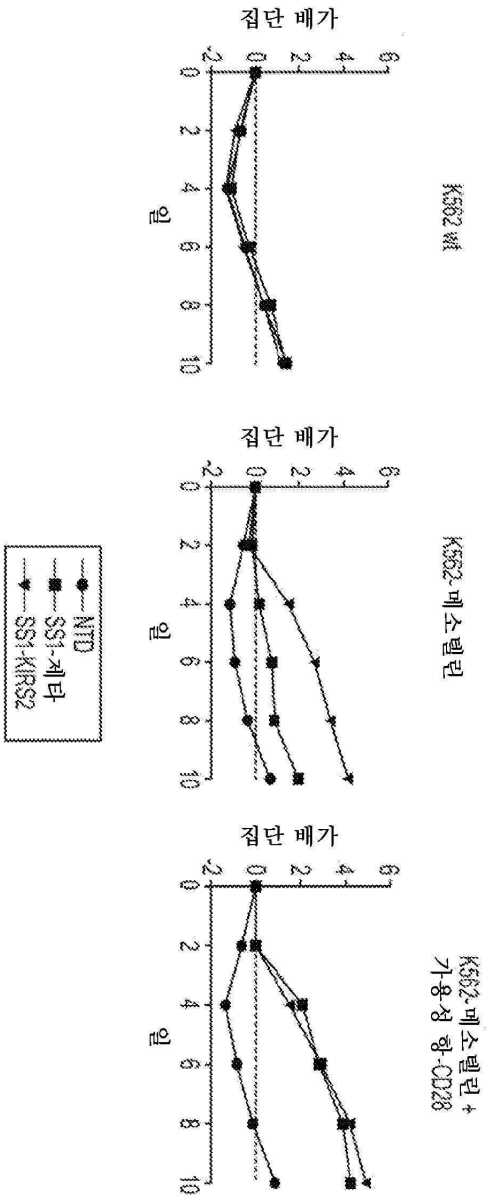
도면12


a
SS1-KIRS2
최대값의 %
FL4-H: CAR APC
SSC-H: SSC-높이
FL2-H: dsRED
대조군
DAP12
b
% 용해
K562-베수렐린
K562-wt
ET 비
NTD
DAP12
SS1-KIRS2
SS1-KIRS2+DAP12

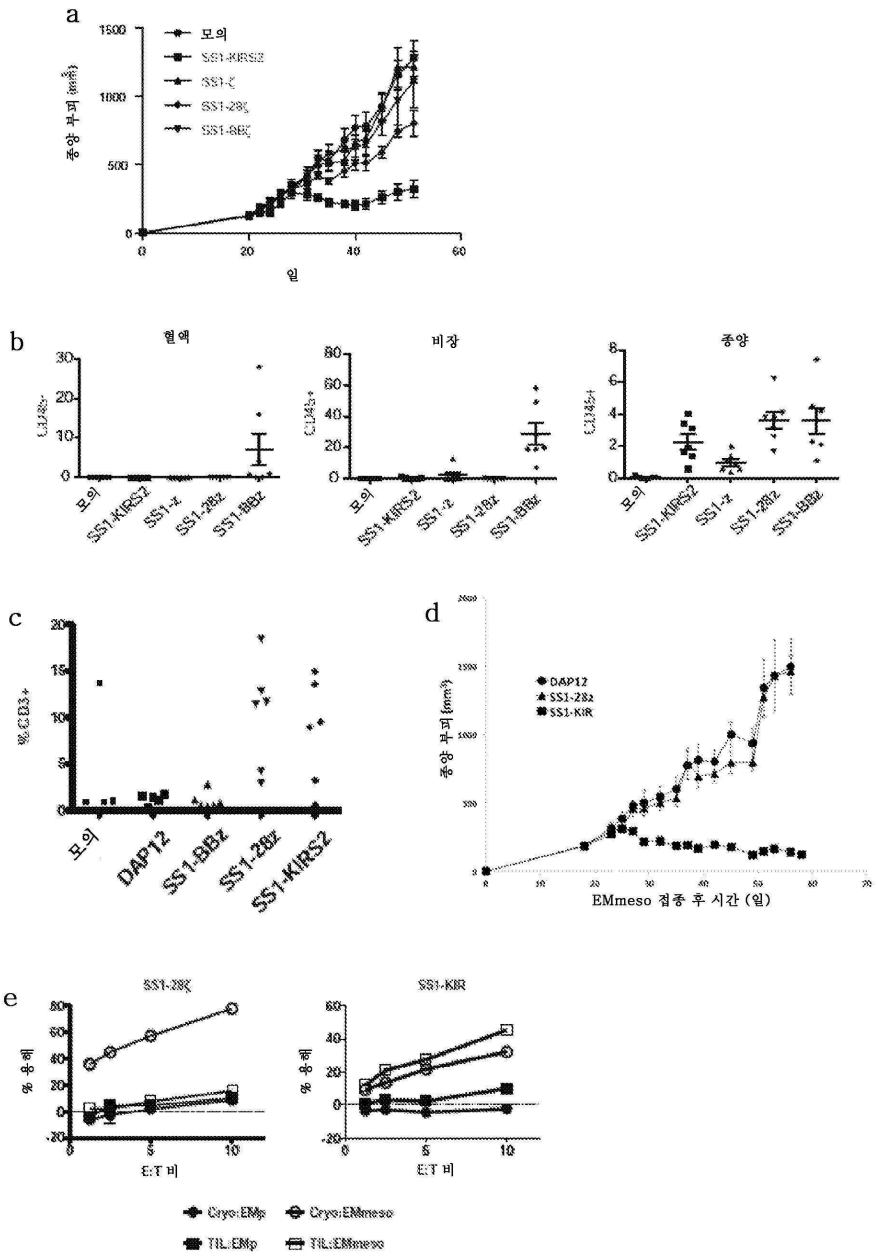
도면13


프로브
비오티닐화 염소 항 마우스 F(ab)2SA-PE
V-베타-PE
NTD
SS1-KIRS2
SSC-H: SSC-높이
FL2-H: V베타/CAR-PE
0.7
5.8
87
5.9

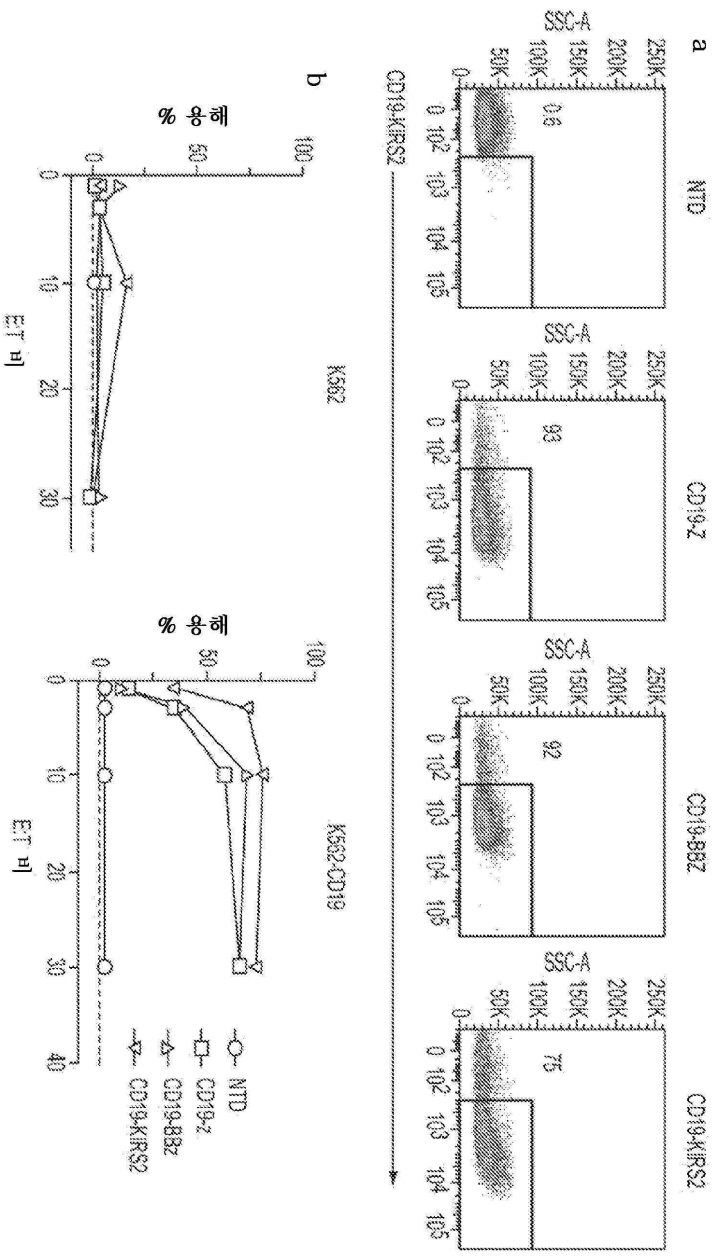
도면14


집단 배가
일
K562 벡
K562-메소텔린
K562-메소텔린 + 가용성 항-CD28
NTD
SS1-제타
SS1-KIRS2

도면15

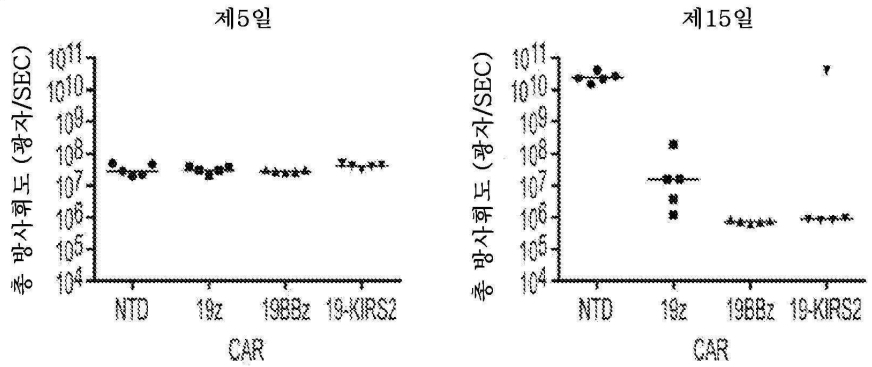

a
종양 부피 (mm³)
일
모의
SS1-KIRS2
SS1-ζ
SS1-28ζ
SS1-BBζ
b
혈액
비장
종양
c
%CD3+
모의
DAP12
SS1-BBz
SS1-28z
SS1-KIRS2
d
종양 부피 (mm³)
DAP12
SS1-28z
SS1-KIR
EMmeso 접종 후 시간 (일)
e
SS1-28ζ
SS1-KIR
% 용해
E:T 비
Cryo:EMp
Cryo:EMmeso
TIL:EMp
TIL:EMmeso

도면16

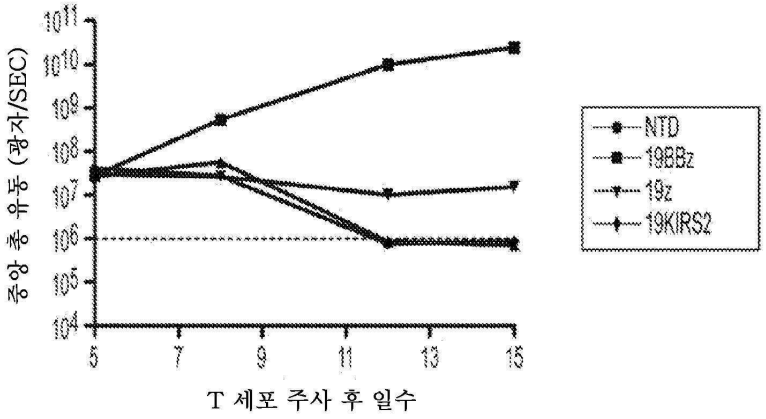

a
CD19-KIRS2
NTD
CD19-Z
CD19-BBZ
CD19-KIRS2
SSC-A
0.6
93
92
75
b
K562
K562-CD19
% 용해
E:T 비
NTD
CD19-z
CD19-BBz
CD19-KIRS2

도면17

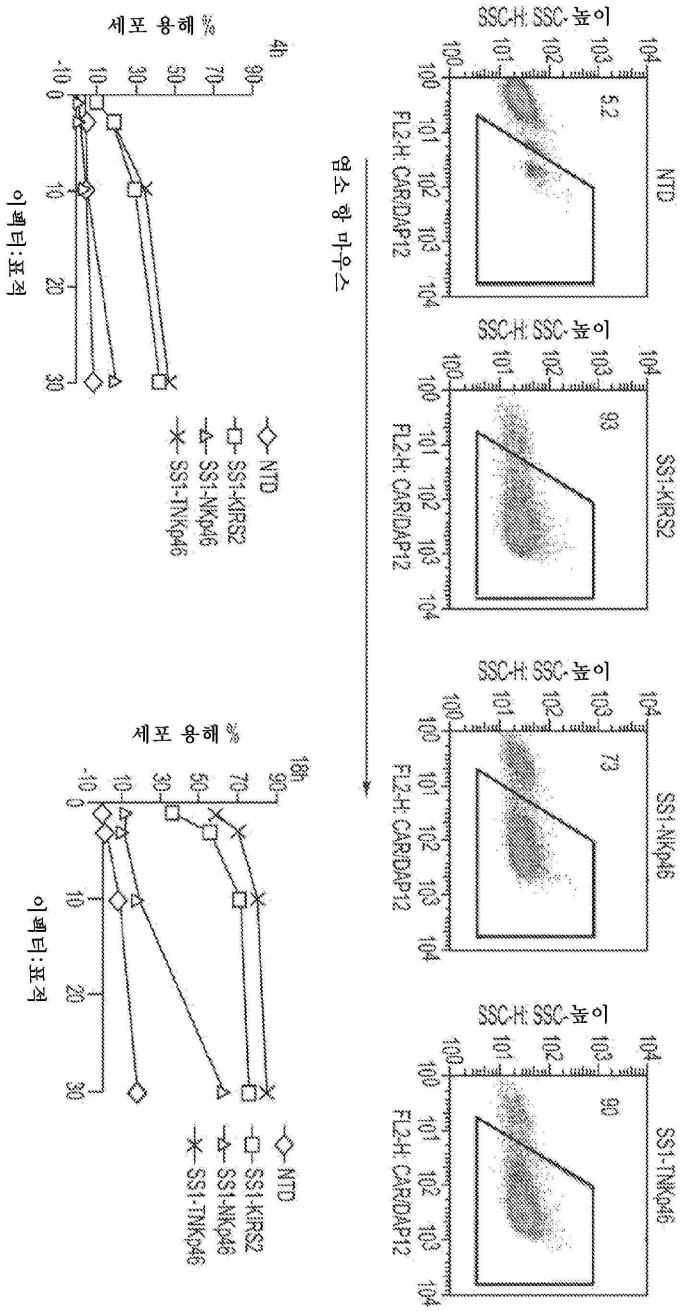
a


제5일
제15일
총 방사휘도 (광자/SEC)
NTD
19z
19BBz
19-KIRS2
CAR

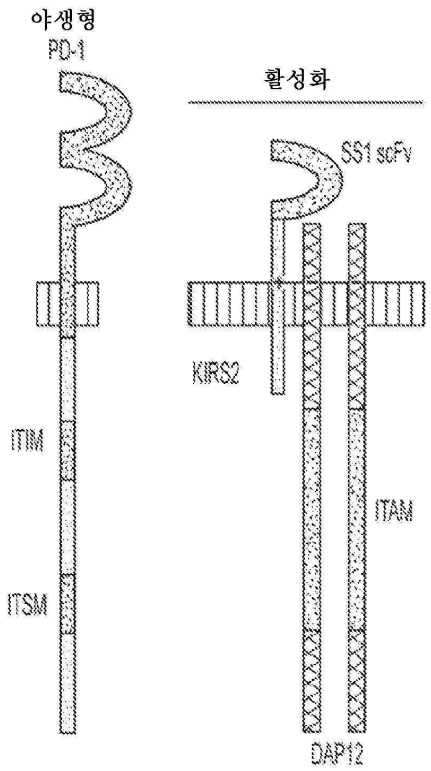
b


중앙 총 유동 (광자/SEC)
NTD
19BBz
19z
19KIRS2
T 세포 주사 후 일수

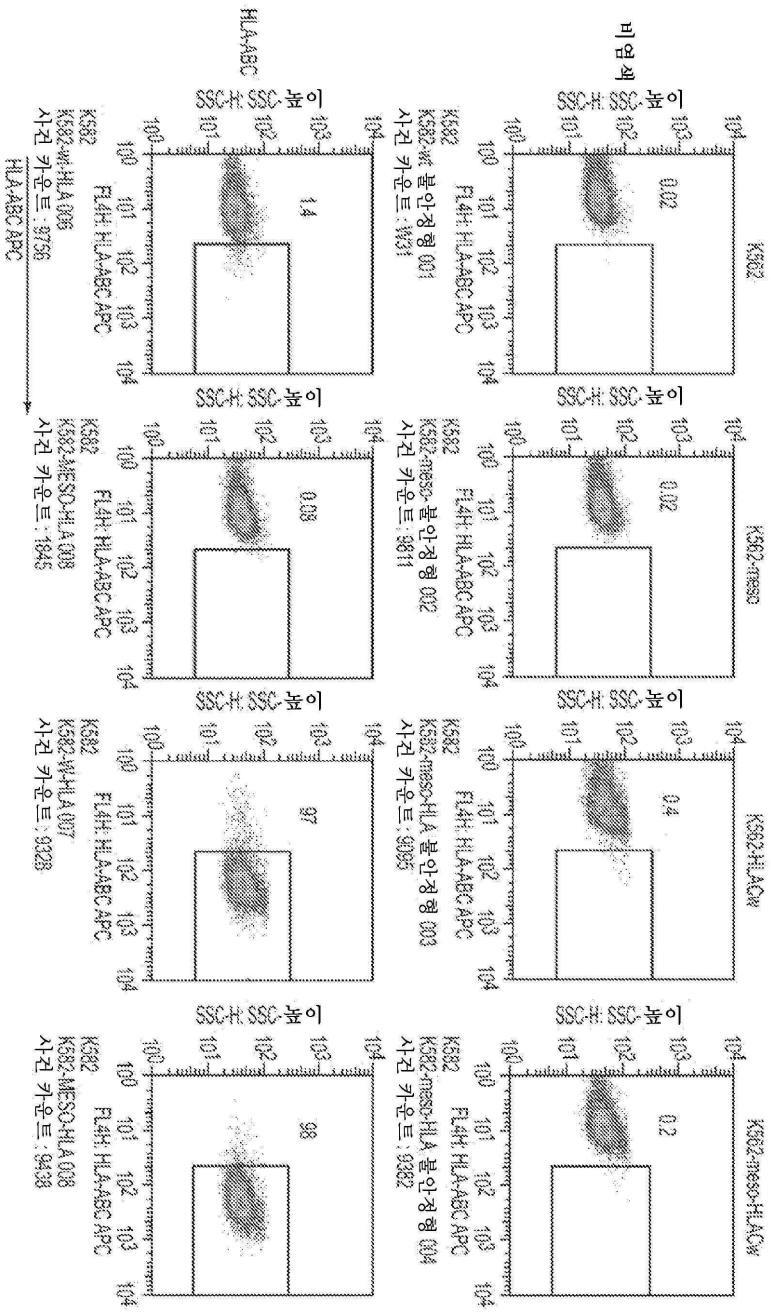
도면18


세포 용해 %
이펙터:표적
NTD
SS1-KIRS2
SS1-NKp46
SS1-TNKp46
염소 항 마우스
SSC-H: SSC-높이
FL2-H: CARDAP12
5.2
93
73
90

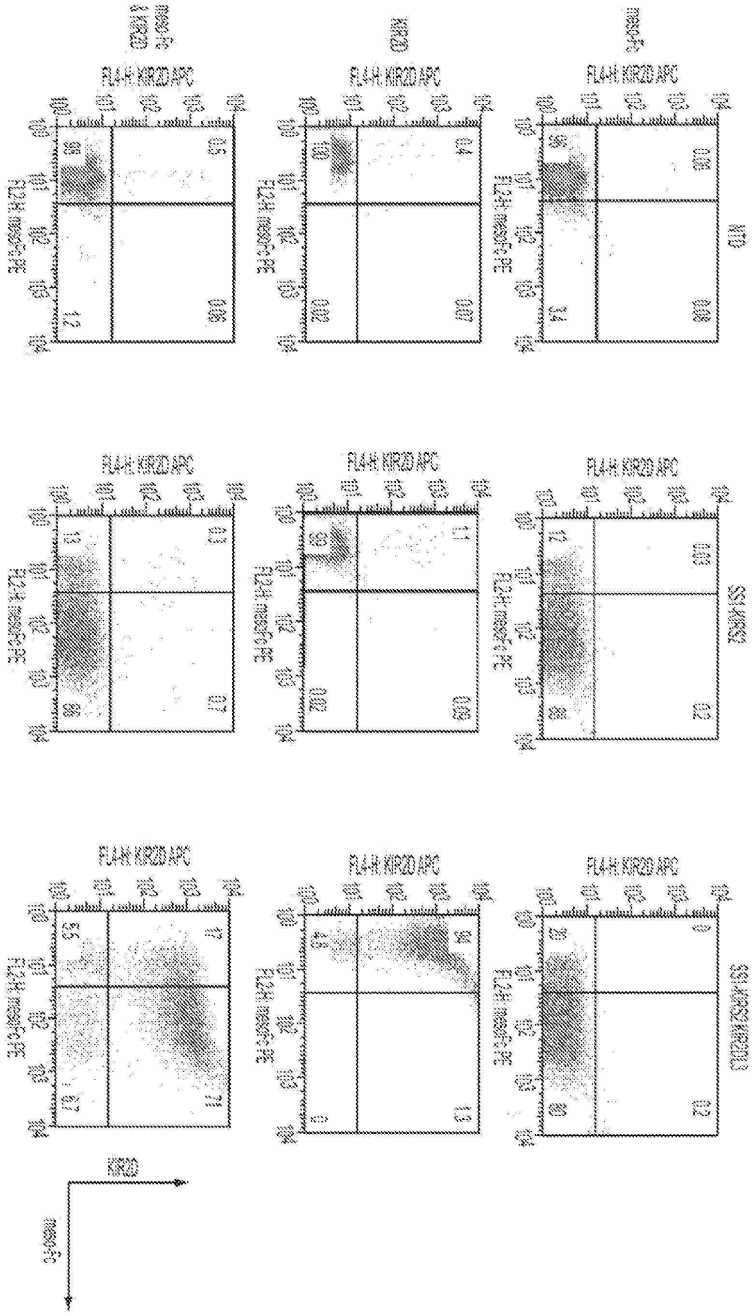
도면19



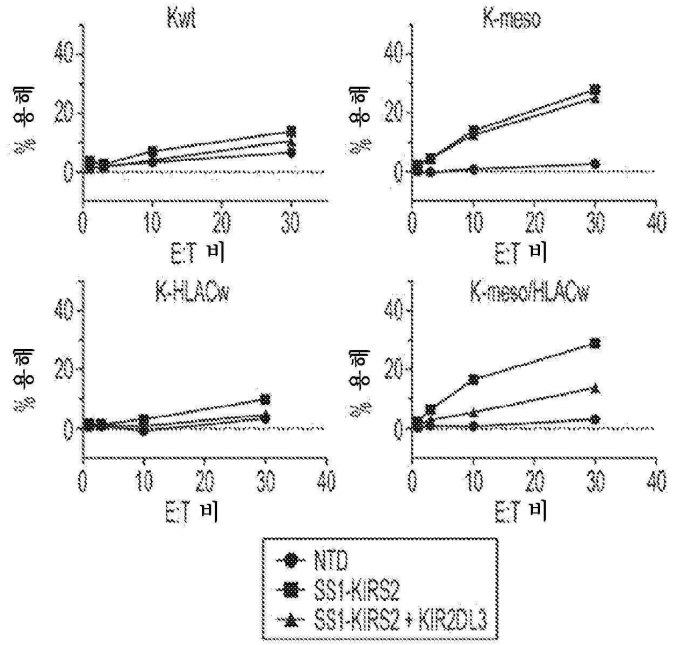
도면20


비염색
HLA-ABC
K562
K562-meso
K562-HLAcw
K562-meso-HLAcw
K562-wt-HLA 005
K562-MESO-HLA 008
K562-W-HLA 007
K562-MESO-HLA 008
K562-wt 불안정형 001
K562-meso 불안정형 002
K562-meso-HLA 불안정형 003
K562-meso-HLA 불안정형 004
FL4H: HLA-ABC APC
SSC-H: SSC-폭
0.02
0.02
0.4
0.2
1.4
0.03
97
98

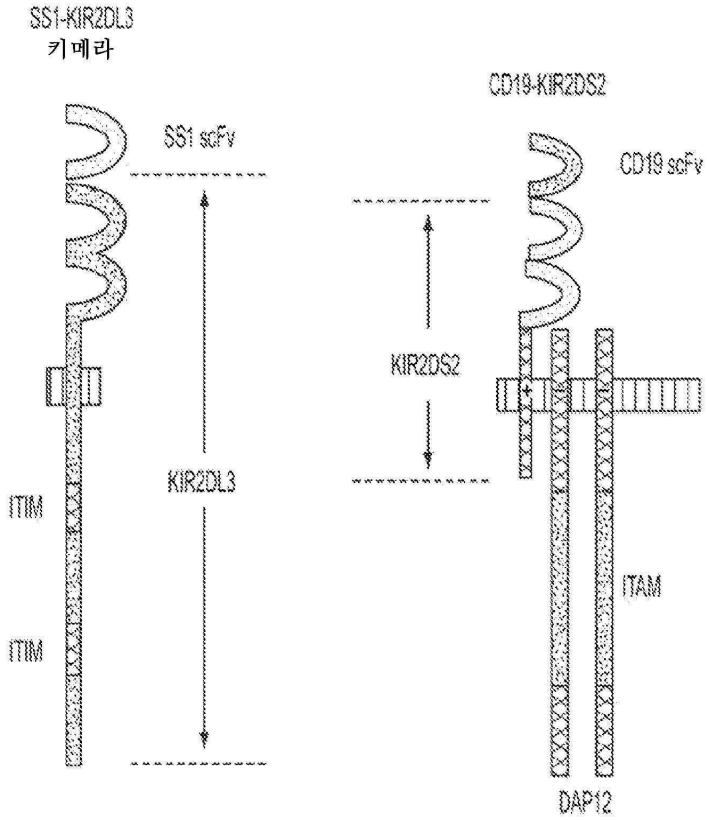
도면21



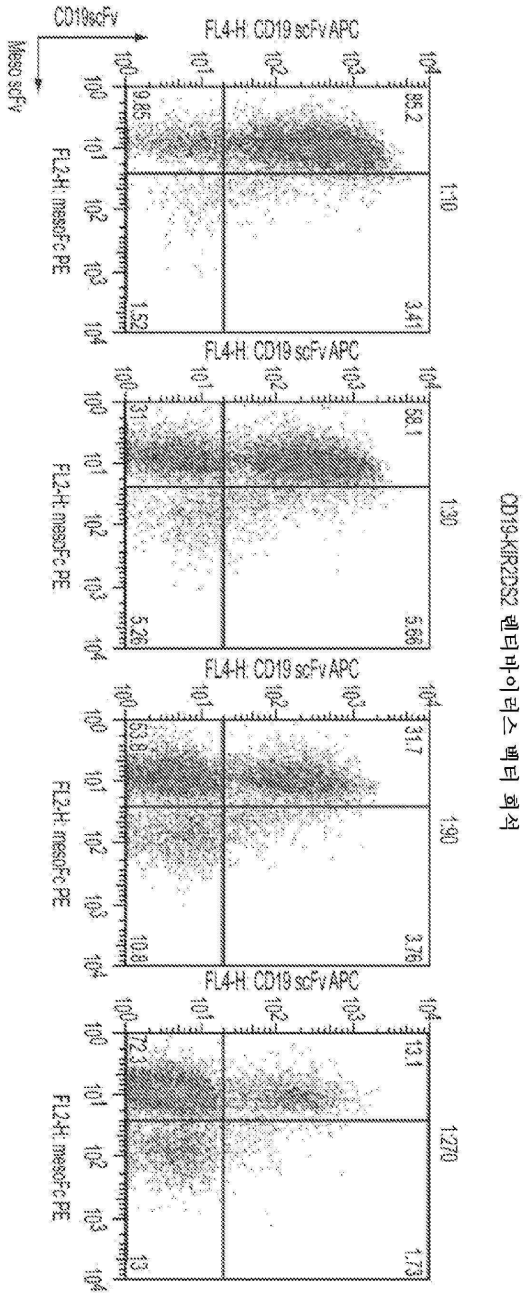
도면22


Kwt
K-meso
K-HLACw
K-meso/HLACw
% 용해
E:T 비
NTD
SS1-KIRS2
SS1-KIRS2 + KIR2DL3

도면23

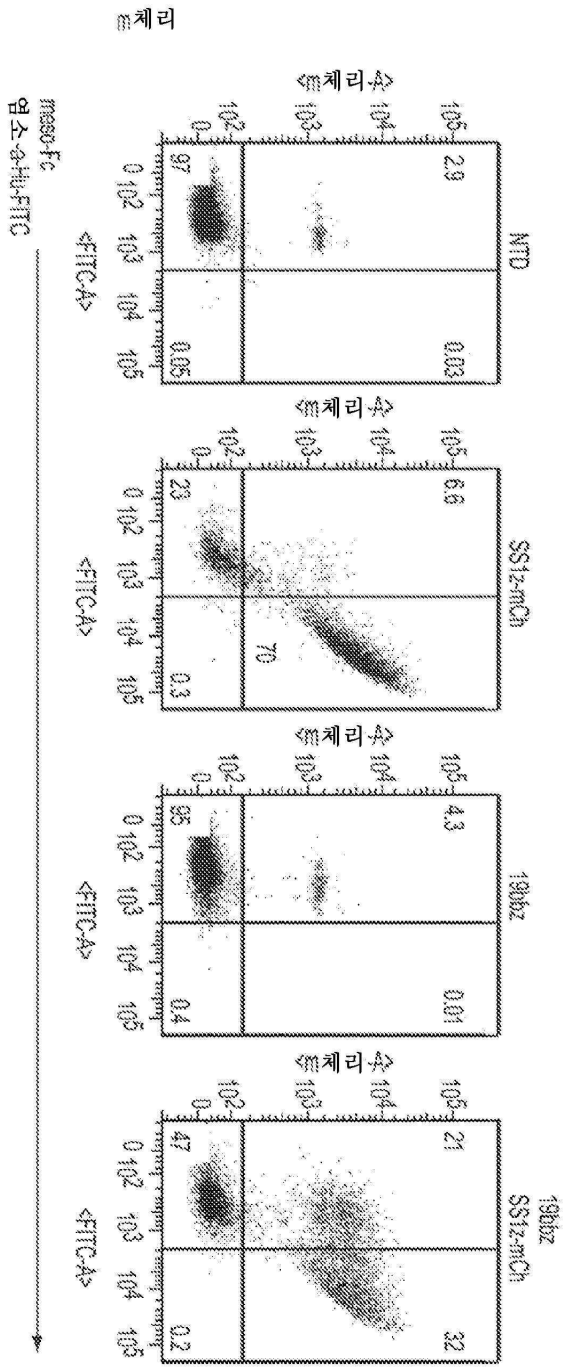

SS1-KIR2DL3
키메라
SS1 scFv
KIR2DL3
ITIM
ITIM
CD19-KIR2DS2
CD19 scFv
KIR2DS2
ITAM
DAP12

도면24

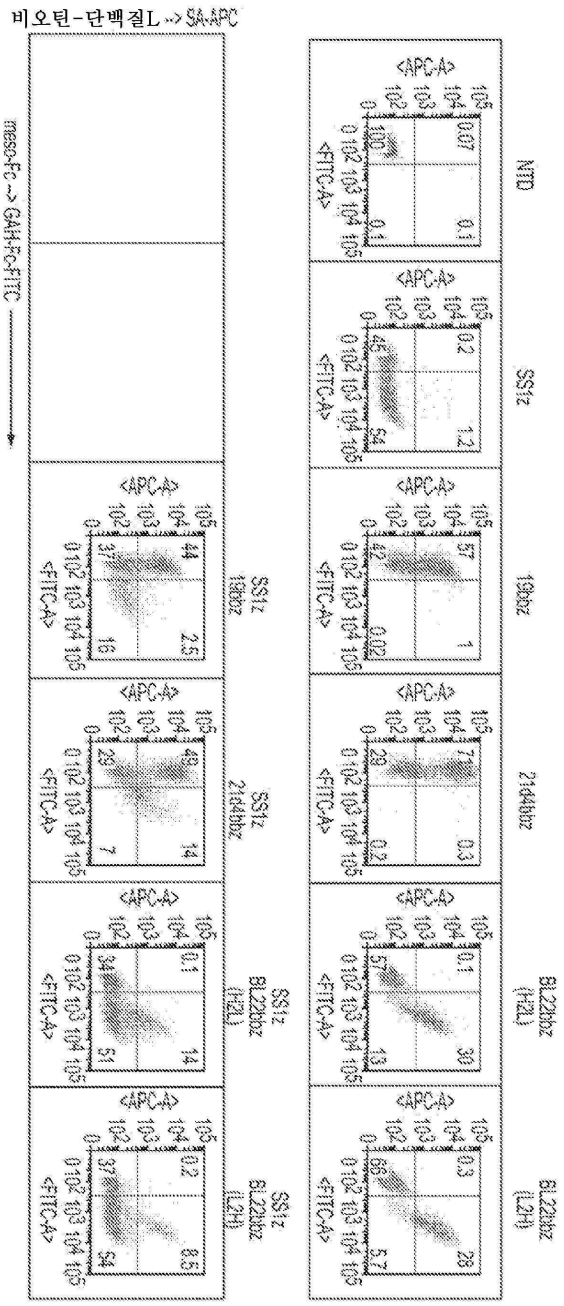


CD19-KIR2DS2 멀티바이러스 벡터 형식

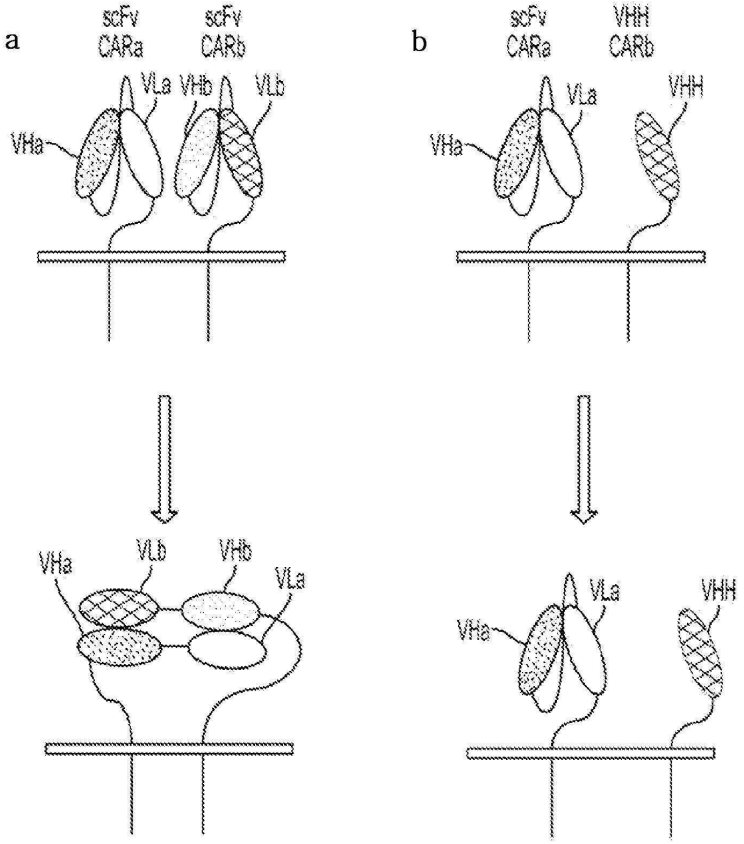
도면25


meso-Fc
엽수-6-His-FITC
<FITC-A>
<세포 수>
NTD
SS1z-mCh
19bbz
19bbz
SS1z-mCh
97
2.9
0.03
0.05
23
6.6
70
0.3
95
4.3
0.01
0.4
47
21
32
0.2

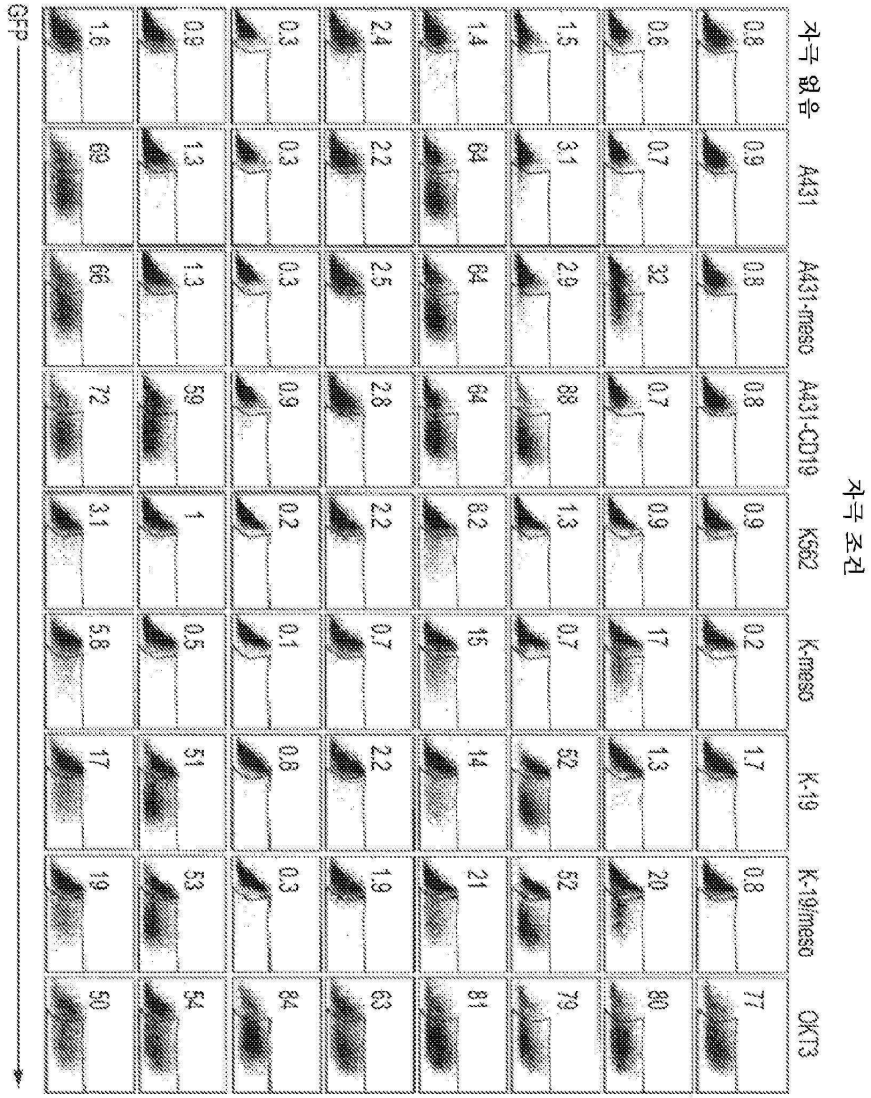
도면26


비오틴-단백질L --> SA-APC
meso-Fc --> GAH-Fc-FITC
<APC-A>
<FITC-A>
NTD
SS1z
19bbz
2144bbz
BL22bbz (H2L)
BL22bbz (L2H)
SS1z 19bbz
SS1z 2144bbz
SS1z BL22bbz (H2L)
SS1z BL22bbz (L2H)

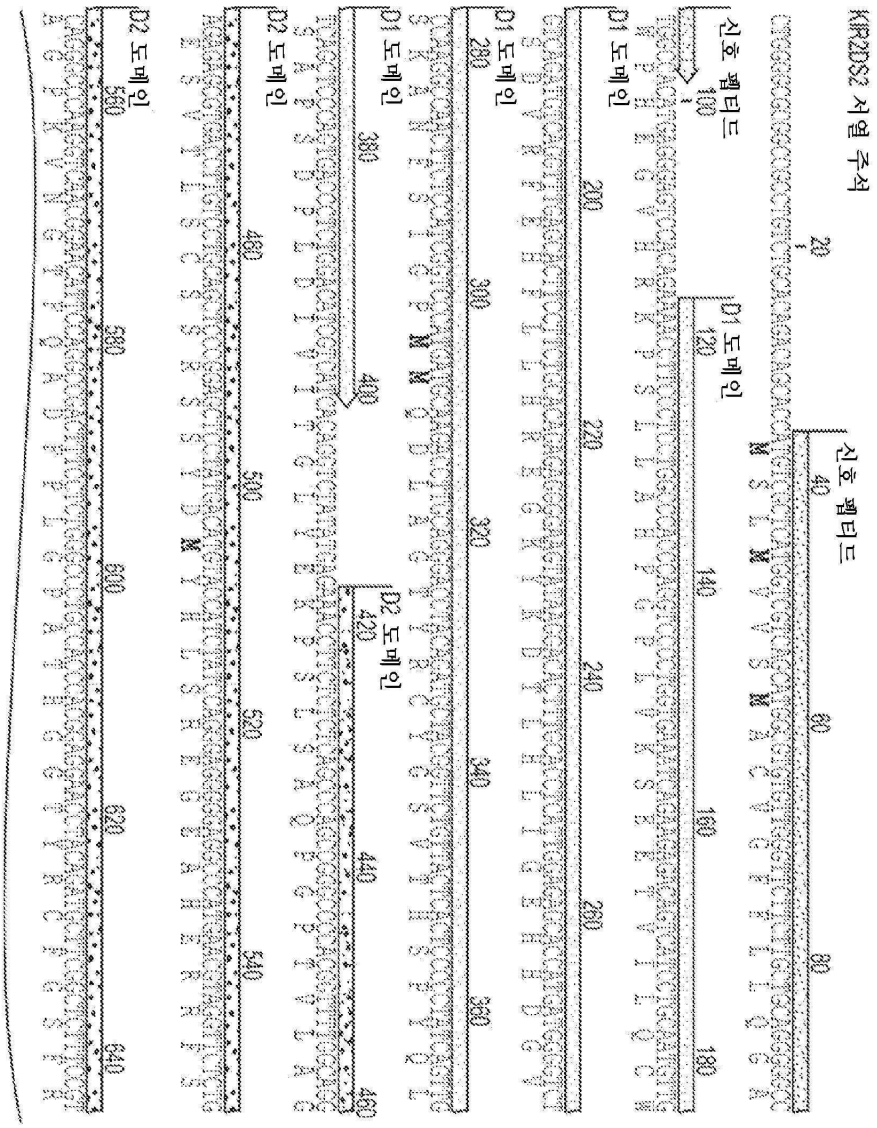
도면27


a
scFv
CARa
scFv
CARb
VLa
VHb
VLb
VHa
VHa
VLb
VHb
VLa
b
scFv
CARa
VHH
CARb
VLa
VHH
VHa
VHa
VLa
VHH

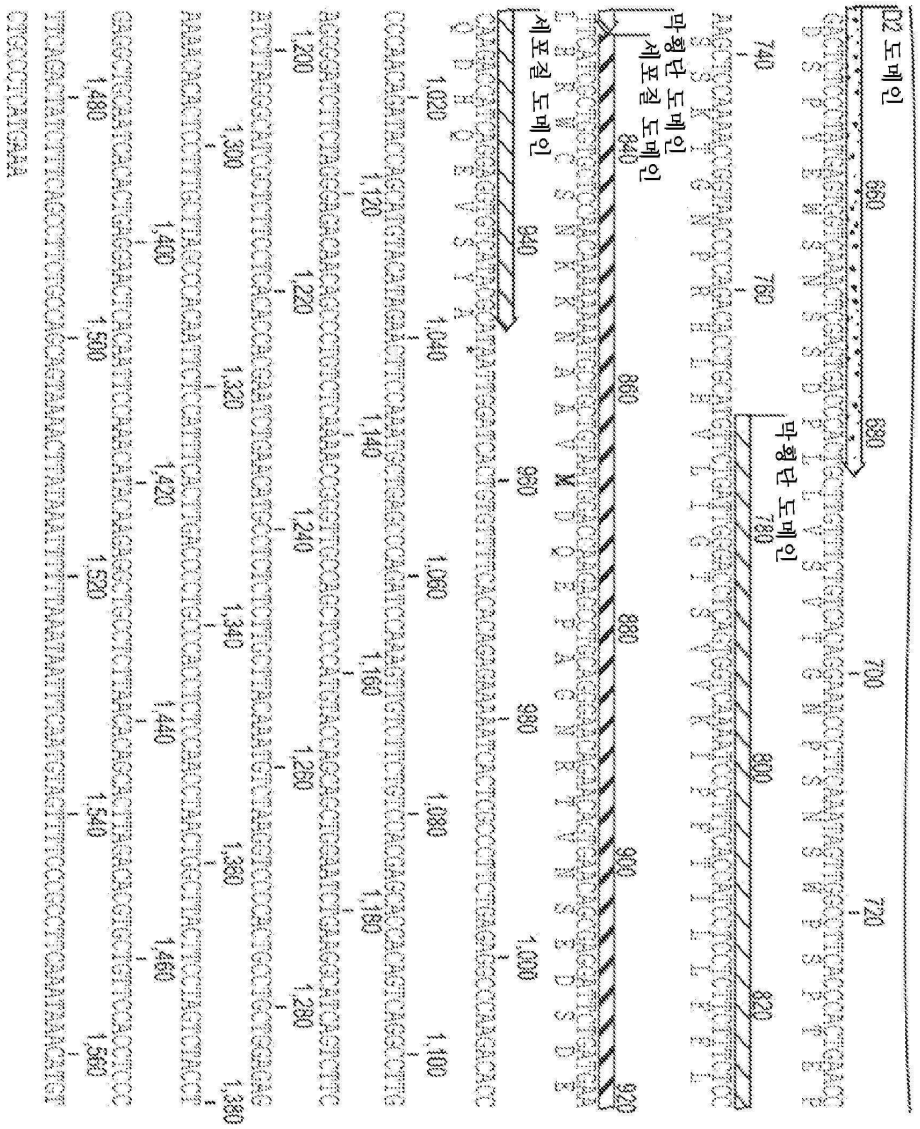
도면28


자극 조건
자극 없음
A431
A431-meso
A431-CD19
K562
K-meso
K-19
K-19meso
OKT3
CAR
NF-GFP
NF-GFP SS1-CAR
NF-GFP 19-CAR
NF-GFP VHH-CAR
NF-GFP 19-PD1
NF-GFP ss1+19PD1
NF-GFP 19 + 19PD1
NF-GFP VHH + 19PD1
GFP
0.8
0.9
0.8
0.8
0.9
0.2
1.7
0.8
77
0.6
0.7
32
0.7
0.9
17
1.3
20
80
1.5
3.1
2.9
88
1.3
0.7
62
52
79
1.4
64
64
64
8.2
15
14
21
81
2.4
2.2
2.5
2.8
2.2
0.7
2.2
1.9
63
0.3
0.3
0.3
0.9
0.2
0.1
0.8
0.3
84
0.9
1.3
1.3
59
1
0.5
51
53
54
1.6
69
66
72
3.1
5.8
17
19
50

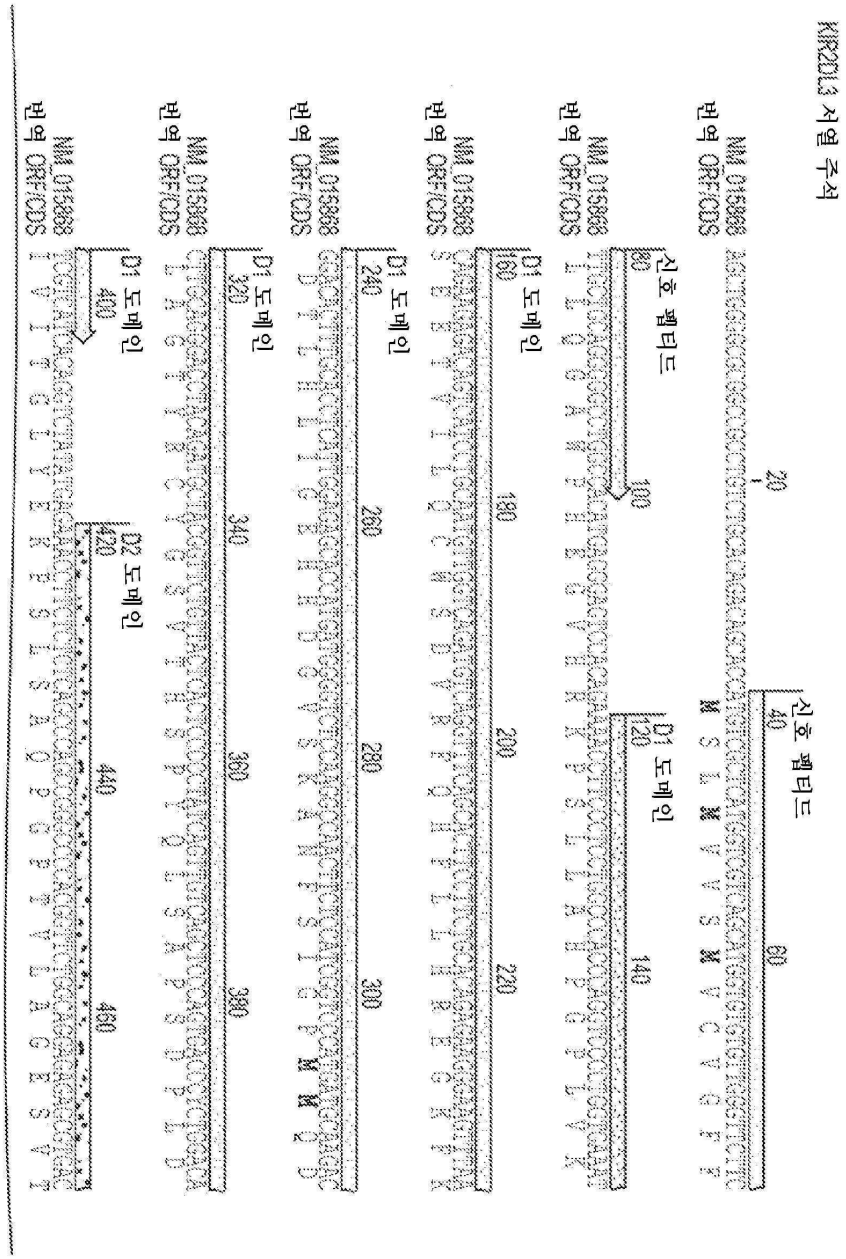
도면29i


KR2DS2 서열 주석
신호 펩티드
D1 도메인
신호 펩티드
D1 도메인
D1 도메인
D1 도메인
D2 도메인
D2 도메인
D2 도메인

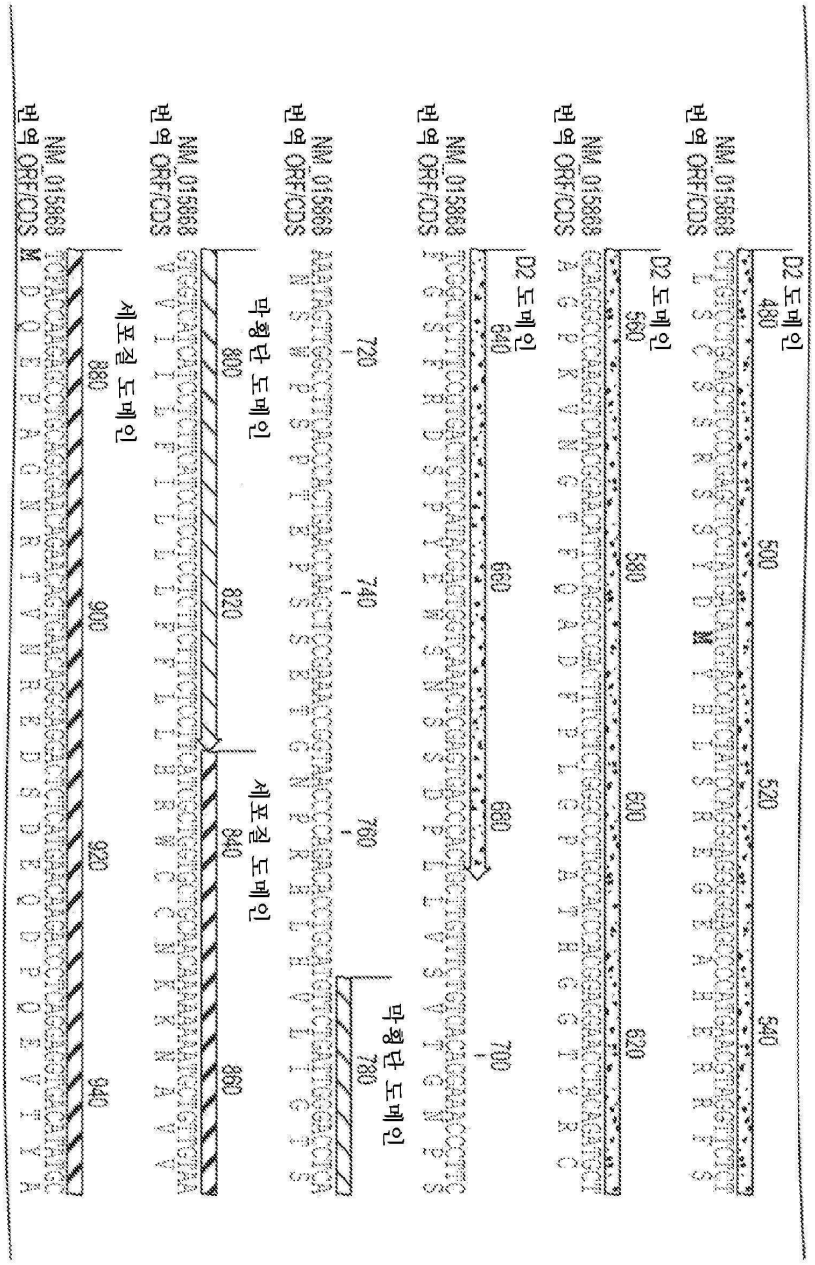
도면29ii



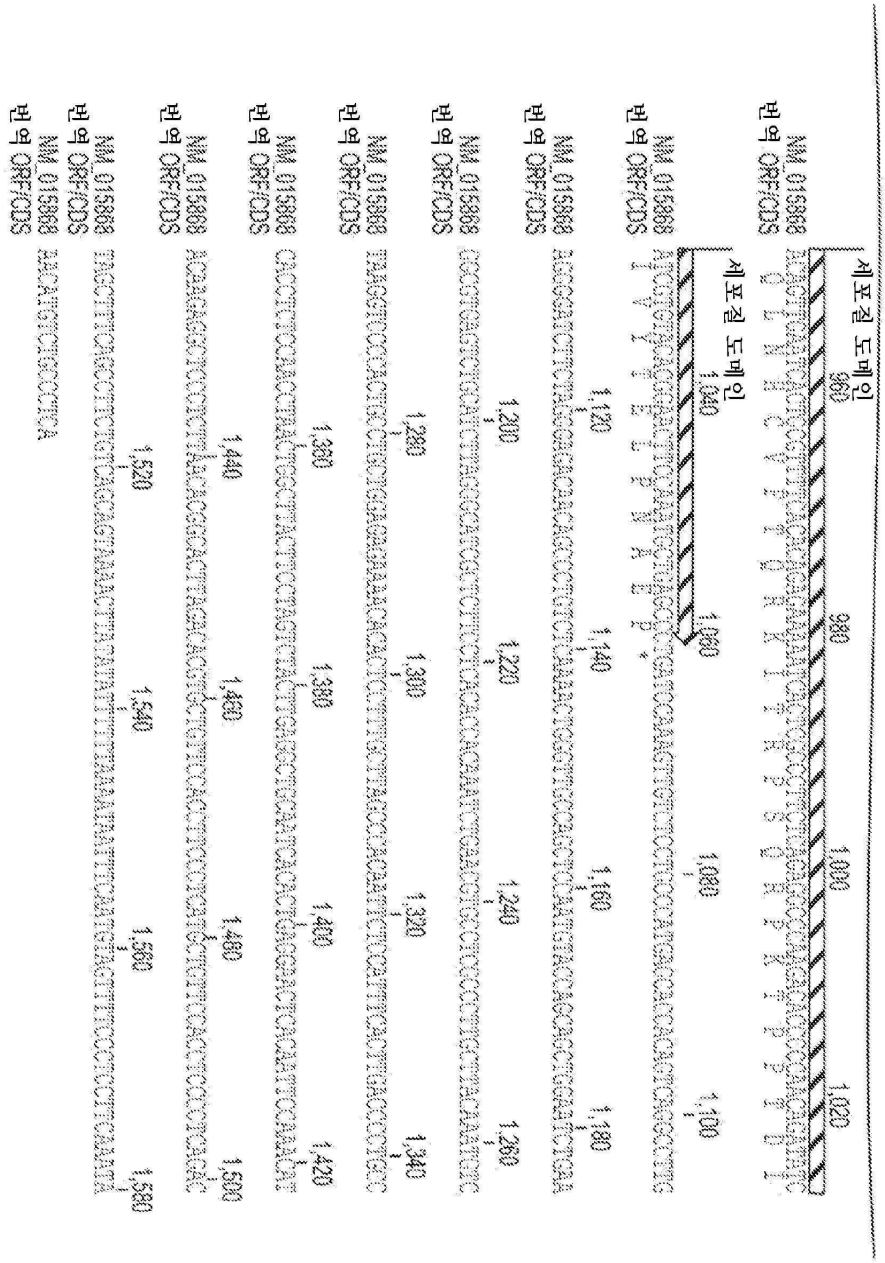
도면30i


KIR2DL3 서열 주석
NM_015868
번역 ORFfods
신호 펩티드
D1 도메인
D2 도메인
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420
440
460

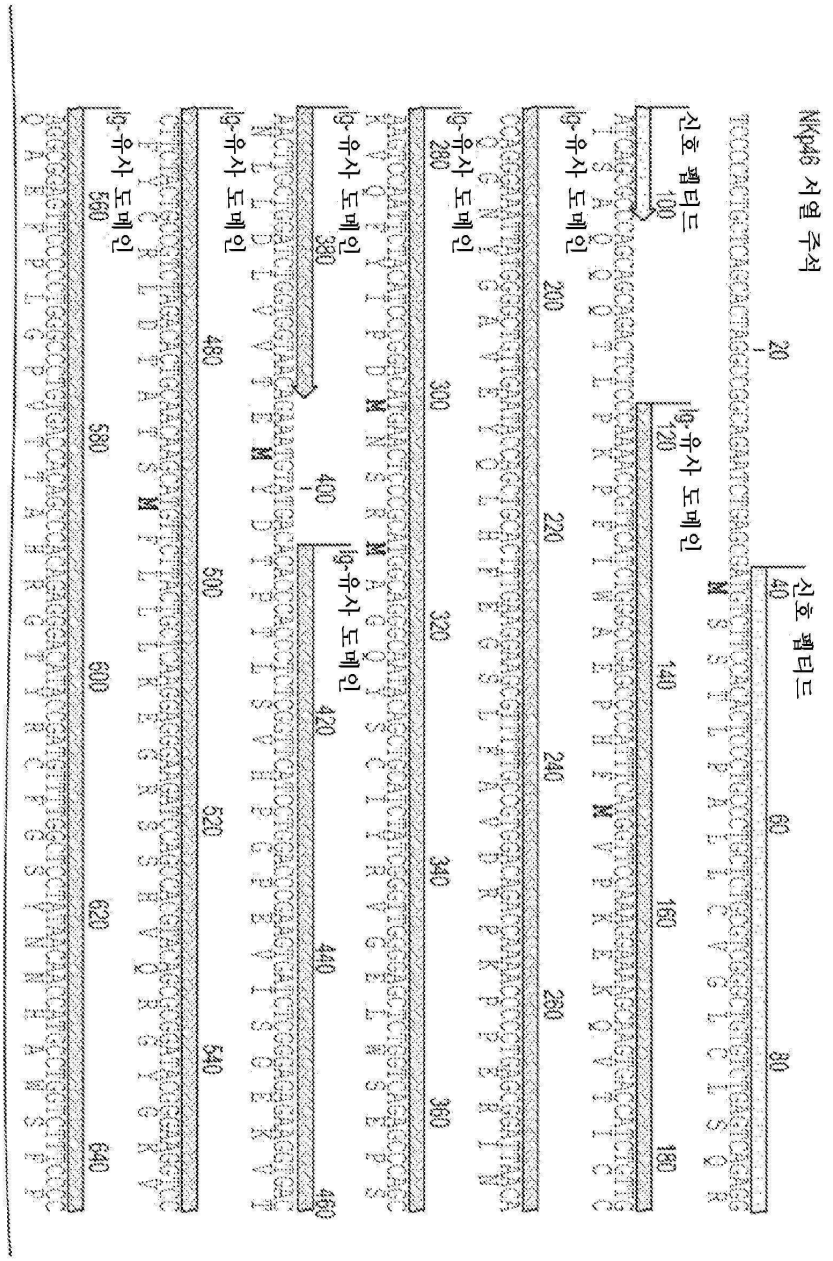
도면30ii


번역 ORF/CDS
NM_015868
D2 도메인
480
500
520
540
560
580
600
620
640
660
680
700
막횡단 도메인
720
740
760
780
세포질 도메인
800
820
840
860
880
900
920
940

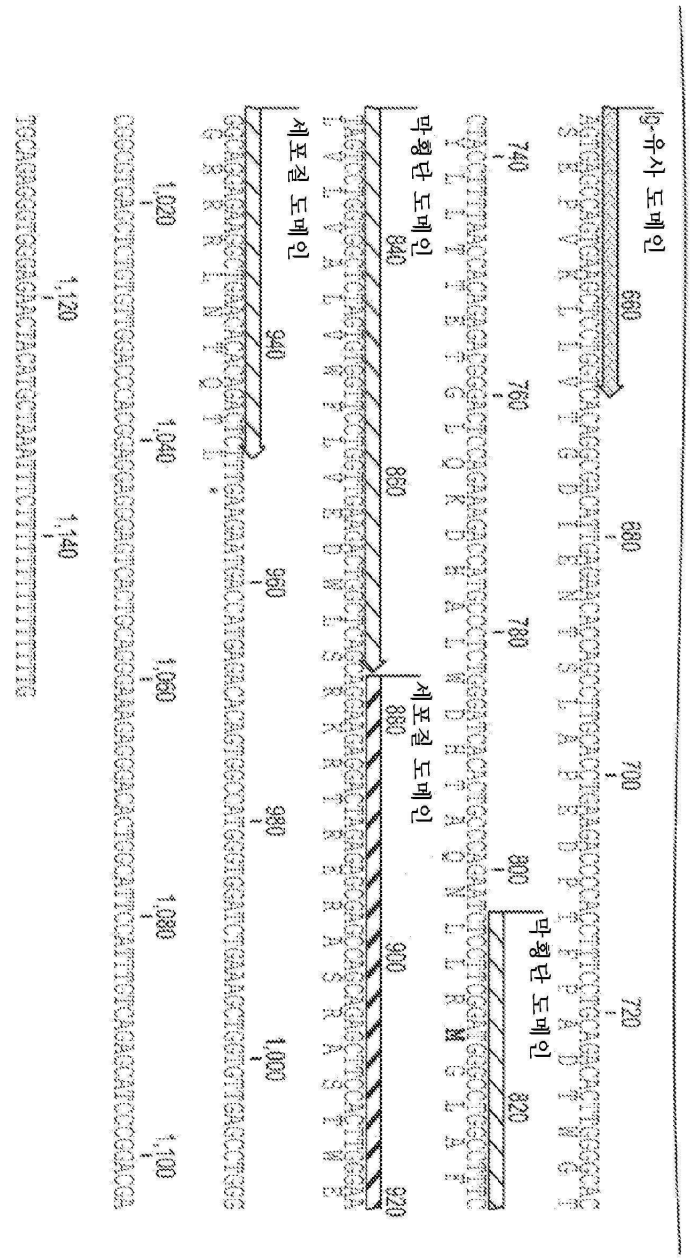
도면30iii


세포질 도메인
NM_016868
번역 ORFCDS
세포질 도메인
NM_016868
번역 ORFCDS
NM_016868
번역 ORFCDS
NM_016868
번역 ORFCDS
NM_016868
번역 ORFCDS
NM_016868
번역 ORFCDS
NM_016868
번역 ORFCDS
NM_016868
번역 ORFCDS

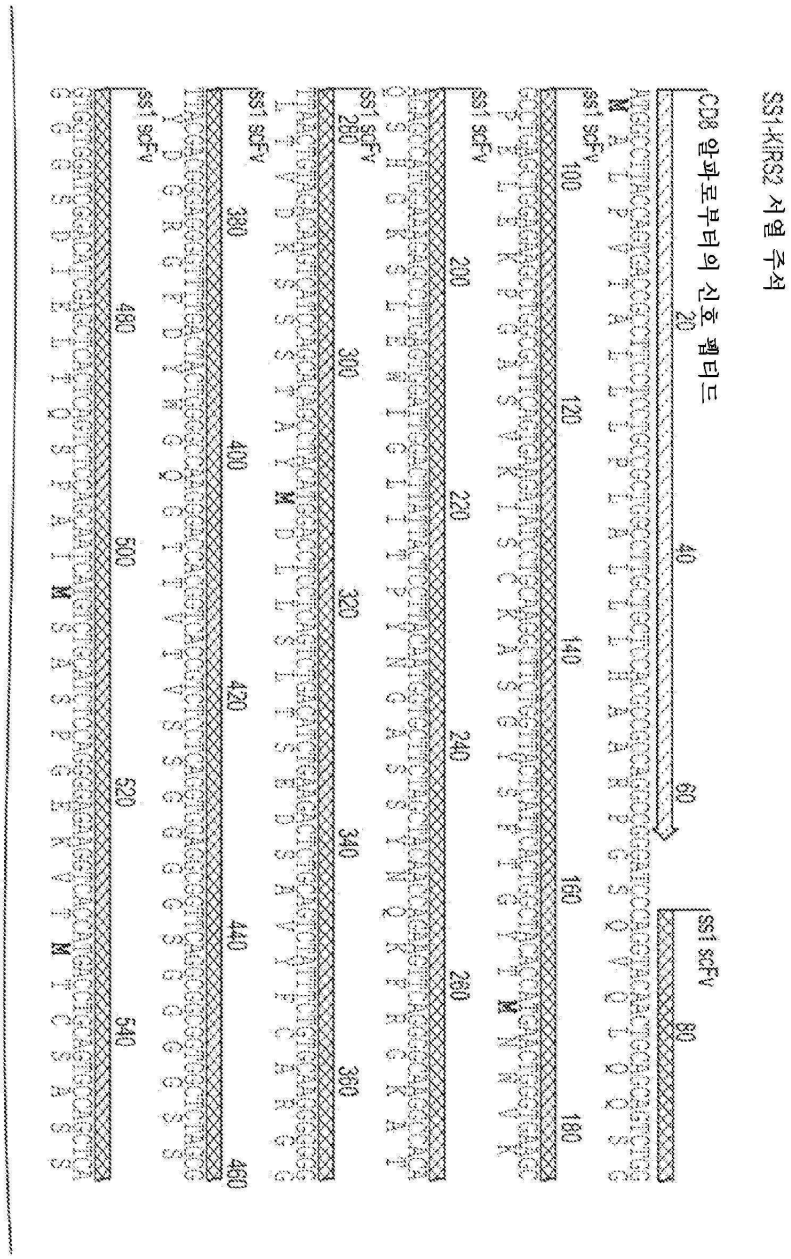
도면31i


MKpk6 서열 주석
신호 펩티드
Ig-유사 도메인
Ig-유사 도메인
Ig-유사 도메인
Ig-유사 도메인
Ig-유사 도메인
신호 펩티드
Ig-유사 도메인

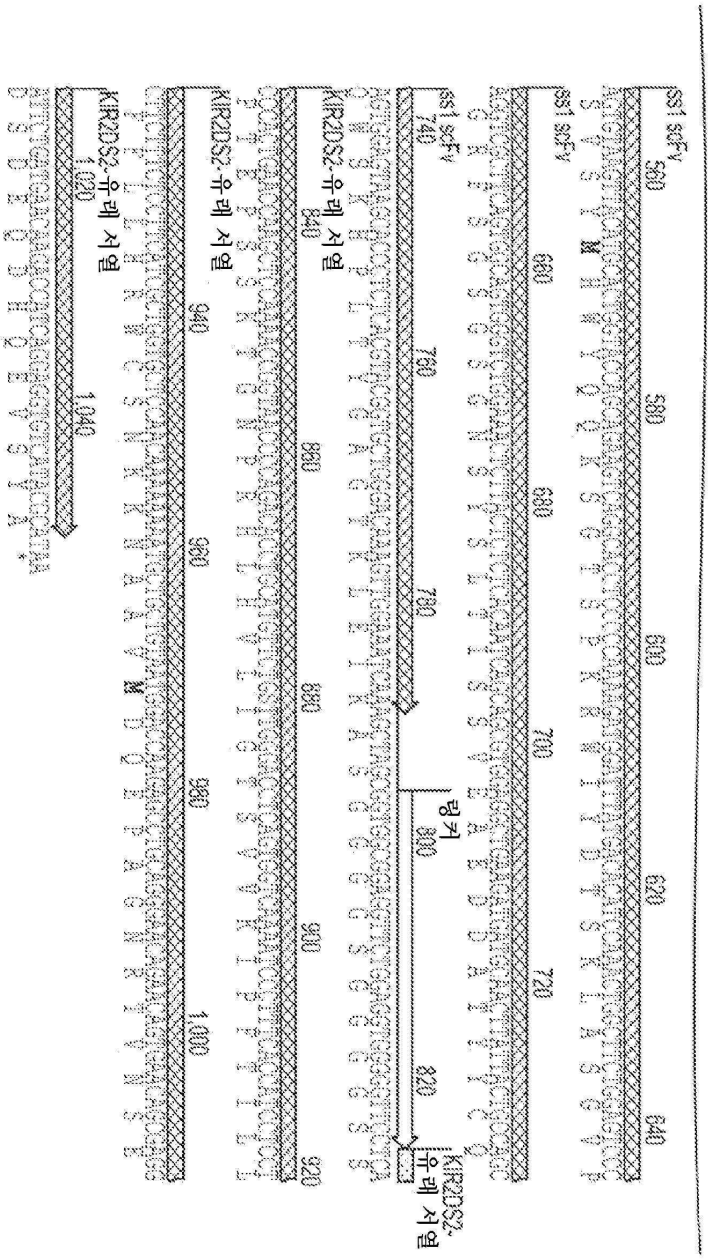
도면31ii


B-유사 도메인
680
700
720
740
760
780
막횡단 도메인
800
820
840
860
세포질 도메인
880
900
920
세포질 도메인
940
960
980
1,000
1,020
1,040
1,060
1,080
1,100
1,120
1,140

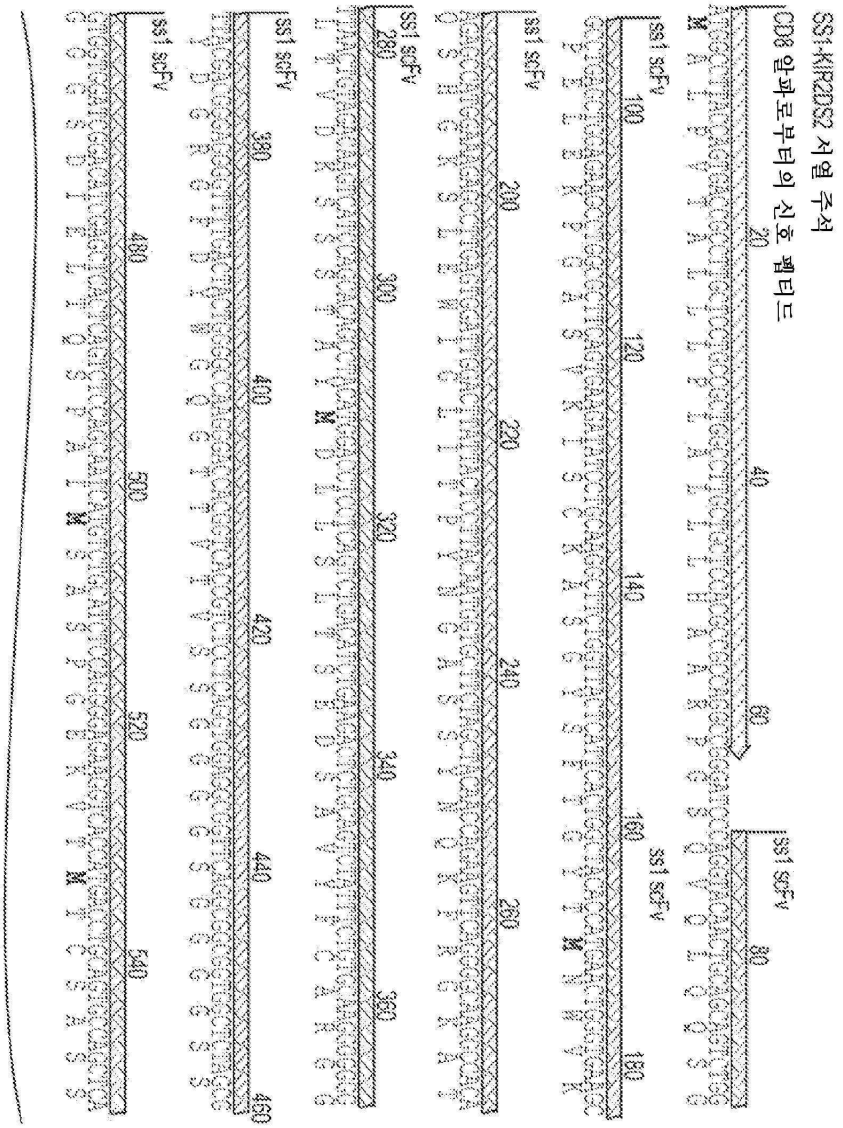
도면32i


SS1:KIRS2 서열 주석
CD8 알파로부터의 신호 펩티드
scFv
scFv
scFv

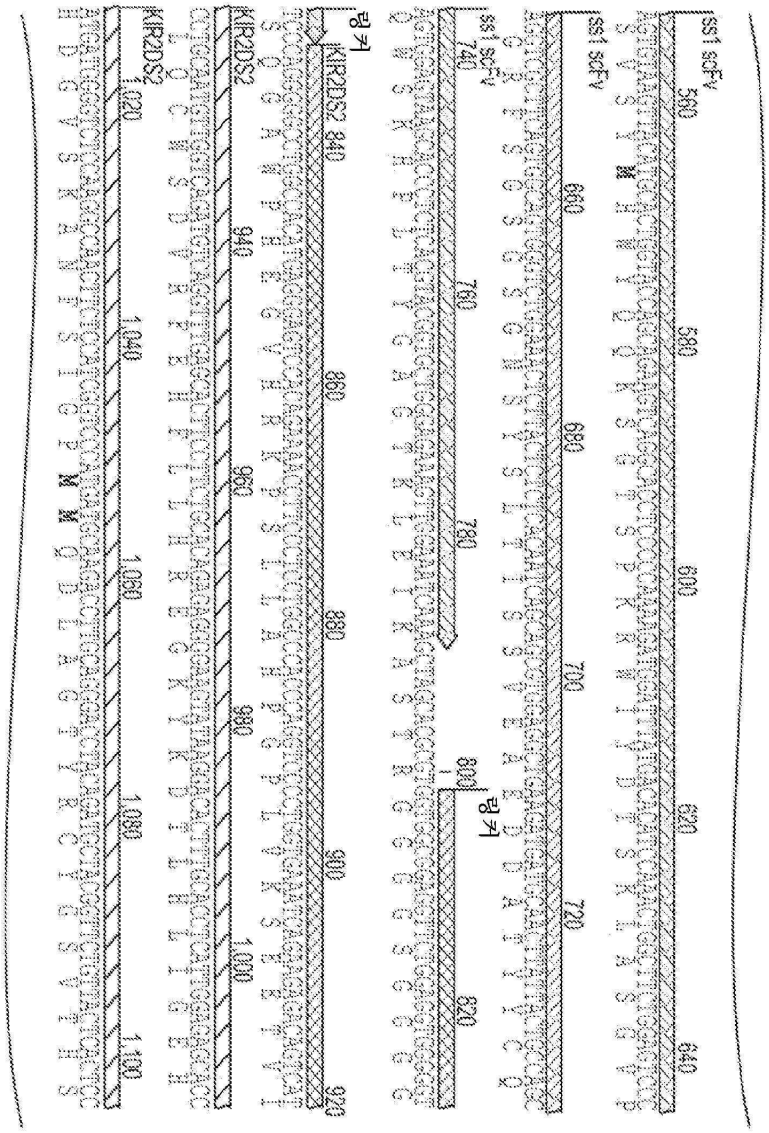
도면32ii


SS1 SCFV
560
580
600
620
640
SS1 SCFV
660
680
700
720
SS1 SCFV
740
760
780
800
820
링커
KIR2DS2~
유레 서열
KIR2DS2-유레 서열
840
860
880
900
920
KIR2DS2-유레 서열
940
960
980
1000
KIR2DS2-유레 서열
1020
1040

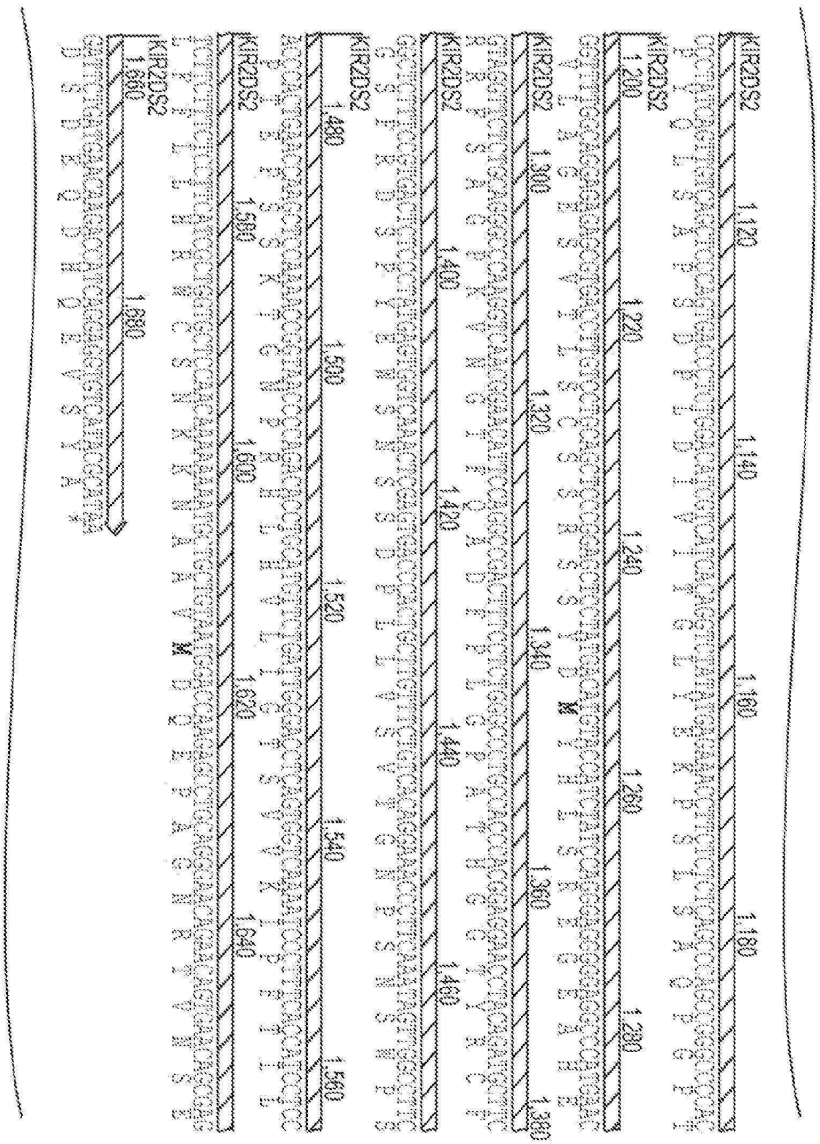
도면33i


SS1-KIR2DS2 서열 주석
CD8 알파로부터의 신호 펩티드
ss1 scFv
ss1 scFv
ss1 scFv
ss1 scFv
ss1 scFv

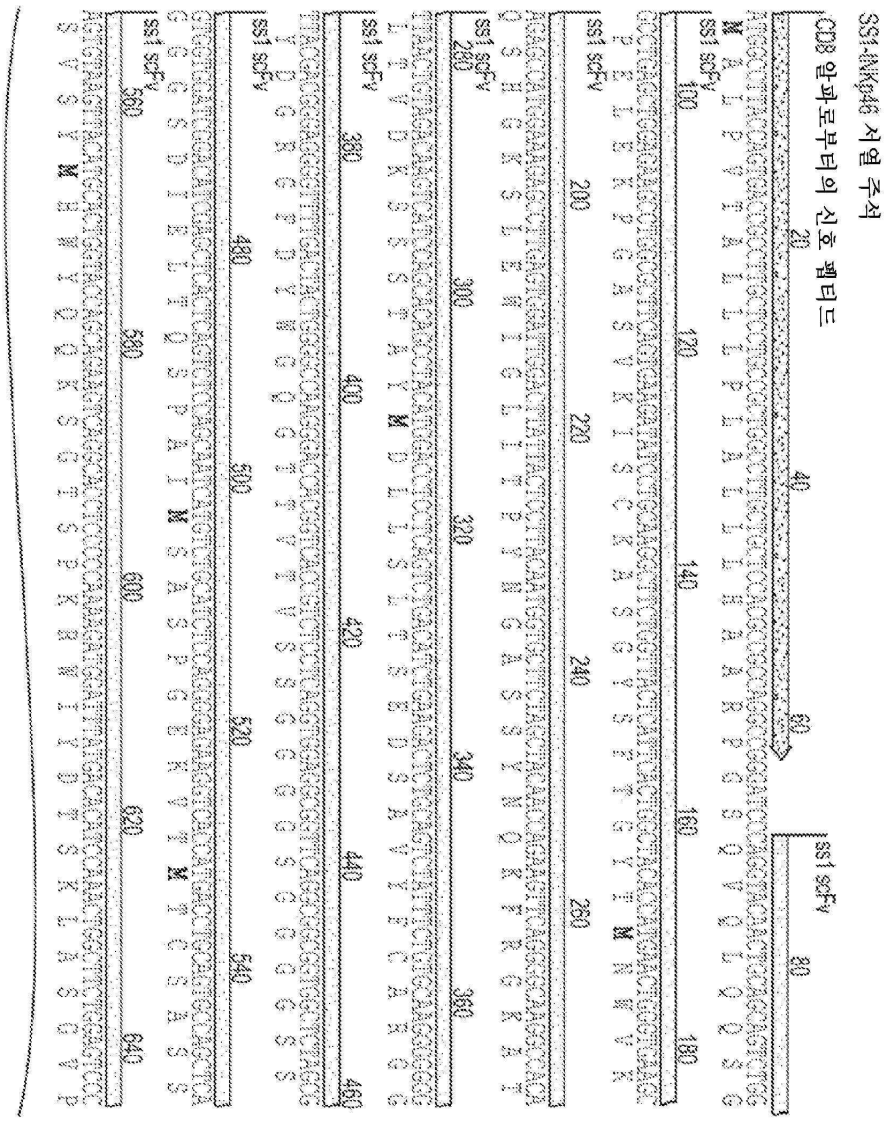
도면33ii


SS1 SCFv
580
600
620
640
660
680
700
720
740
760
780
800
820
840
860
880
900
920
940
960
980
1000
1020
1040
1060
1080
1100
KIR2DS2
컬커

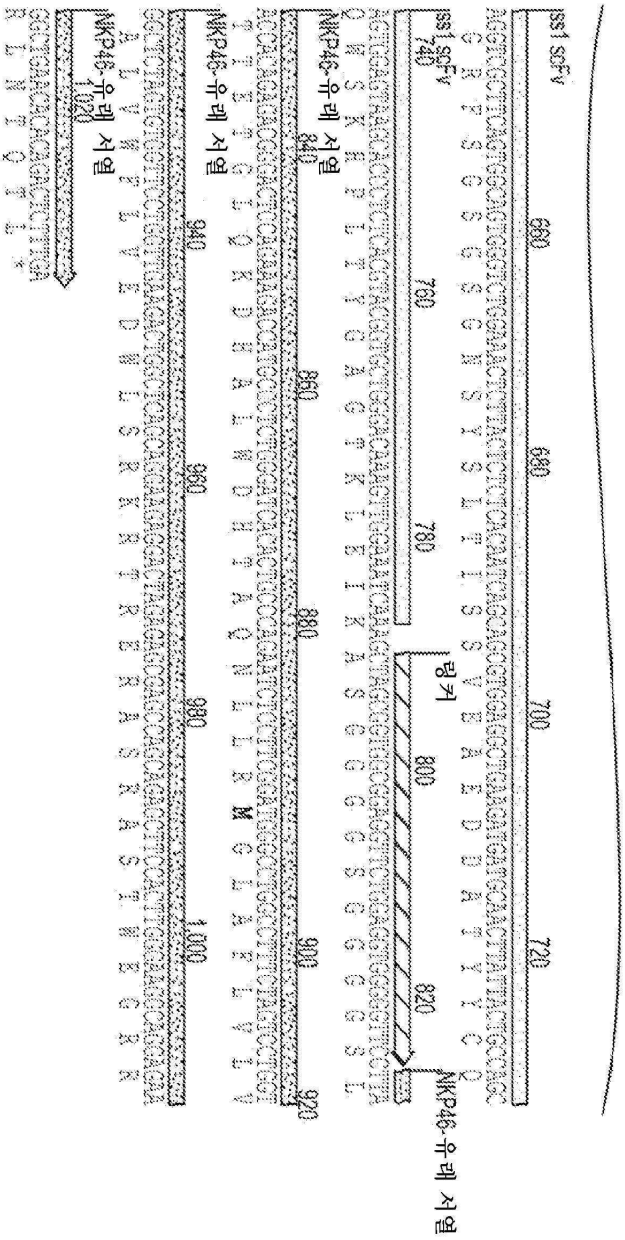
도면33iii



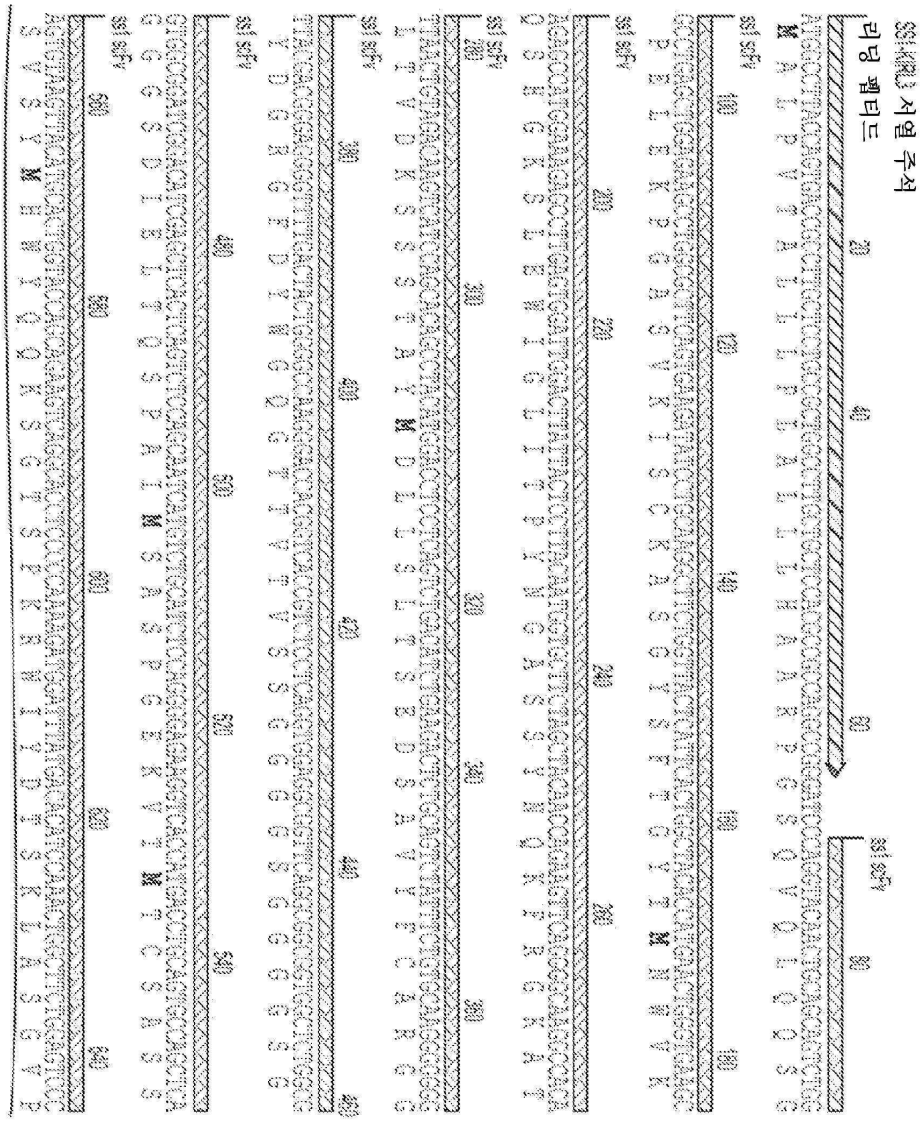
도면34i



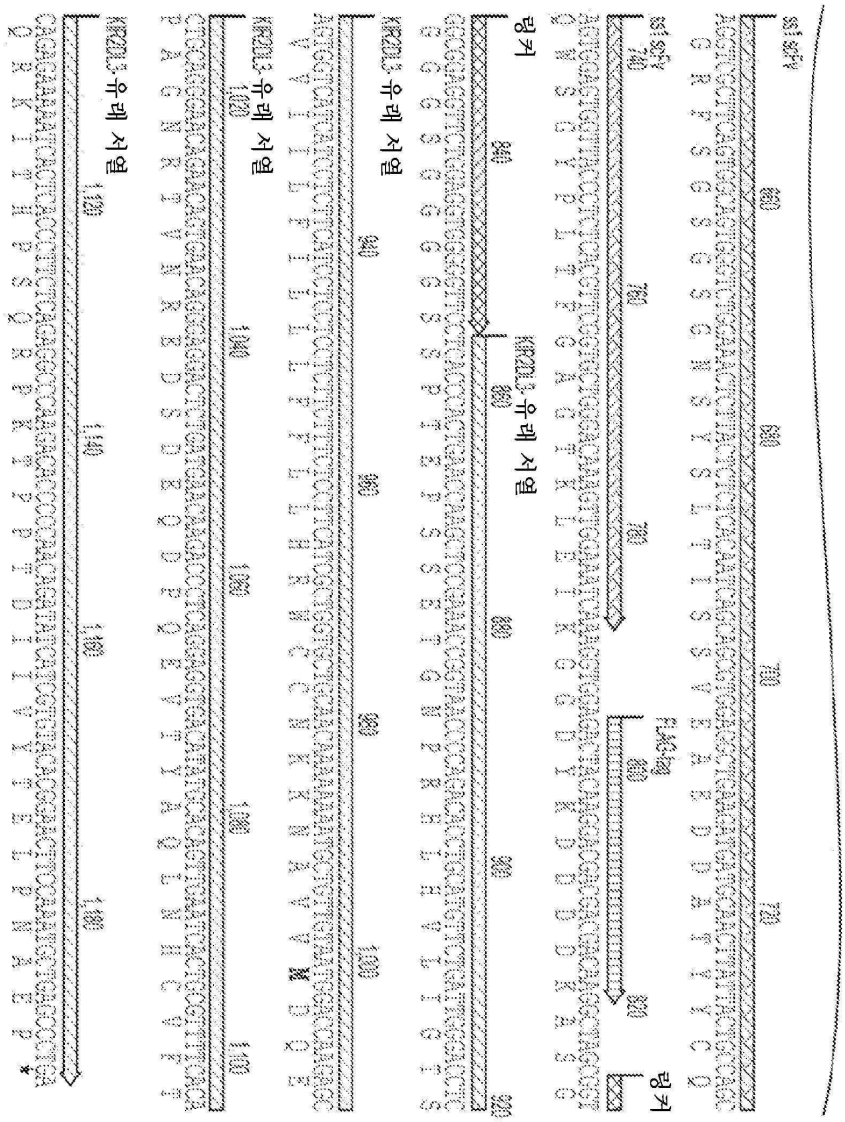
도면34ii


scFv 서열
680
690
700
720
740
760
780
링커
800
820
NKP46-유래 서열
840
860
880
900
920
NKP46-유래 서열
940
960
980
1000
NKP46-유래 서열
1020

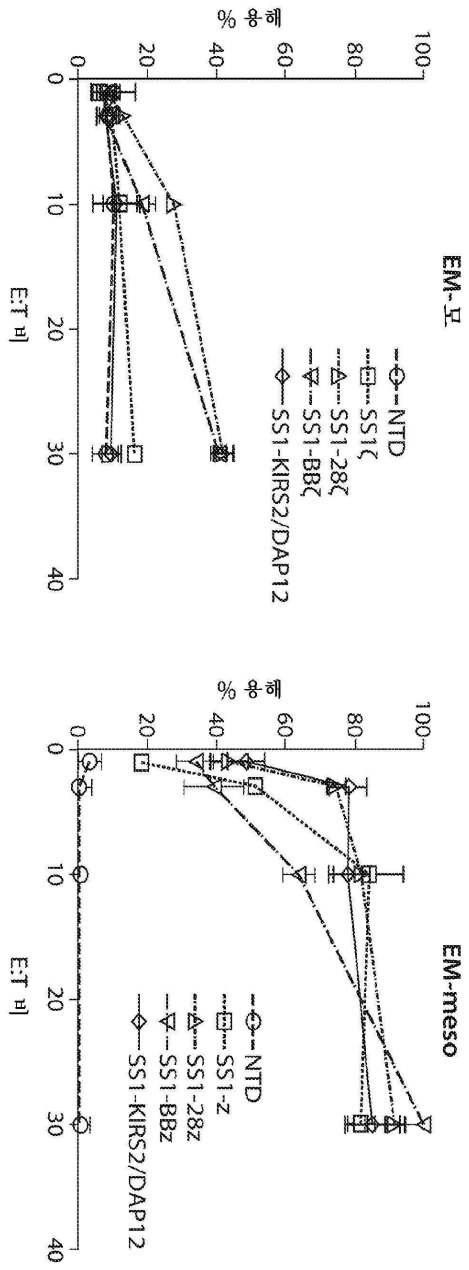
도면35i



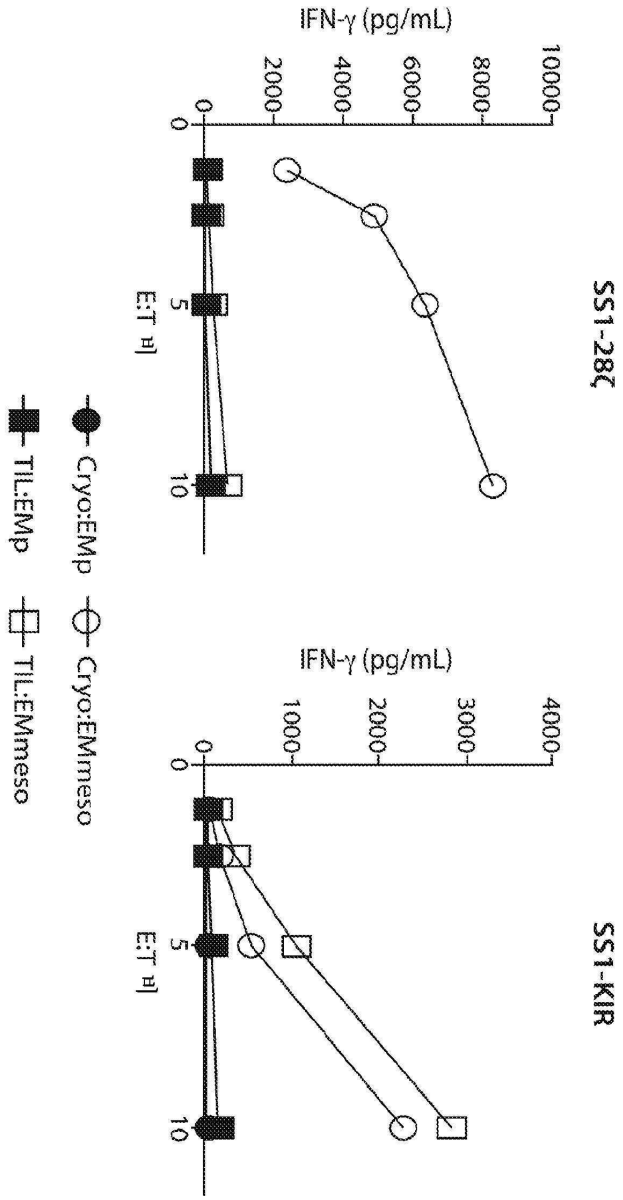
도면35ii



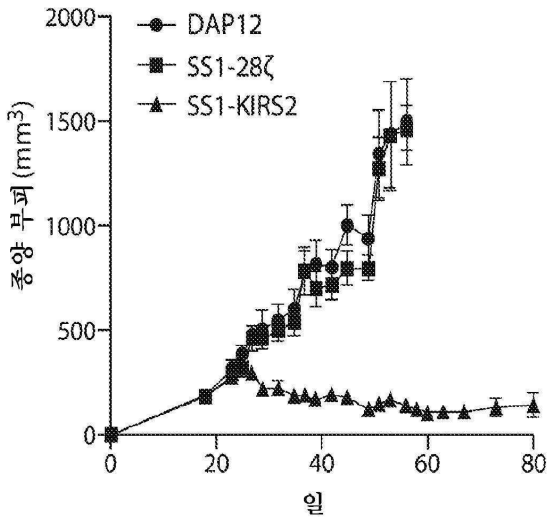
도면36


EM-모
% 용해
E:T 비
NTD
SS1-
SS1-28
SS1-BB
SS1-KIRS2/DAP12
EM-meso
% 용해
E:T 비
NTD
SS1-z
SS1-28z
SS1-BBz
SS1-KIRS2/DAP12

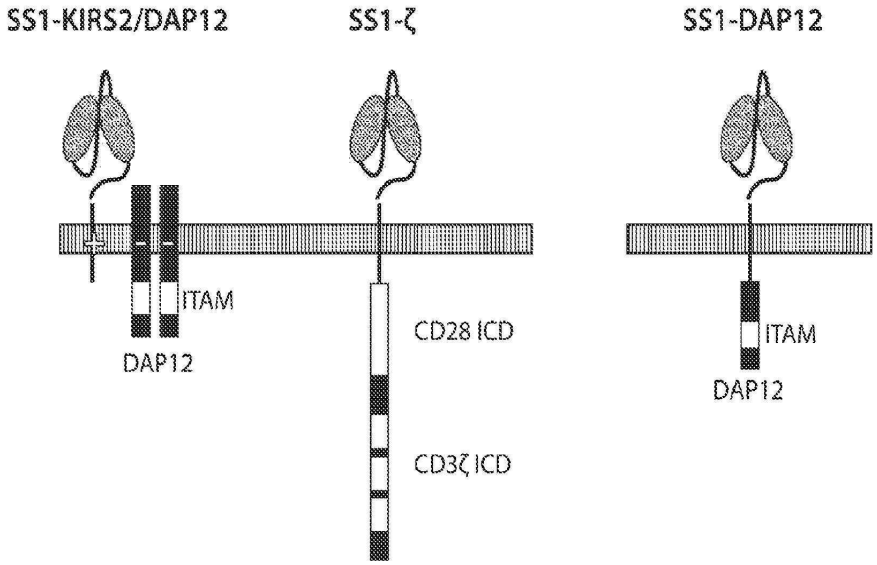
도면37


IFN-γ (pg/mL)
0
2000
4000
6000
8000
10000
E:T 비
5
10
SS1-28ζ
IFN-γ (pg/mL)
0
1000
2000
3000
4000
E:T 비
5
10
SS1-KIR
Cryo:EMp
Cryo:EMmeso
TIL:EMp
TIL:EMmeso

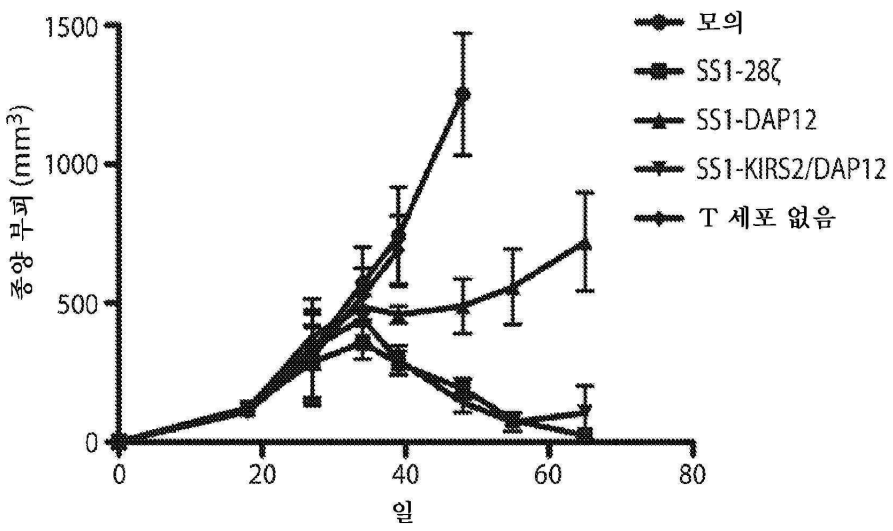
도면38


DAP12
SS1-28ζ
SS1-KIRS2
종양 부피 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
일

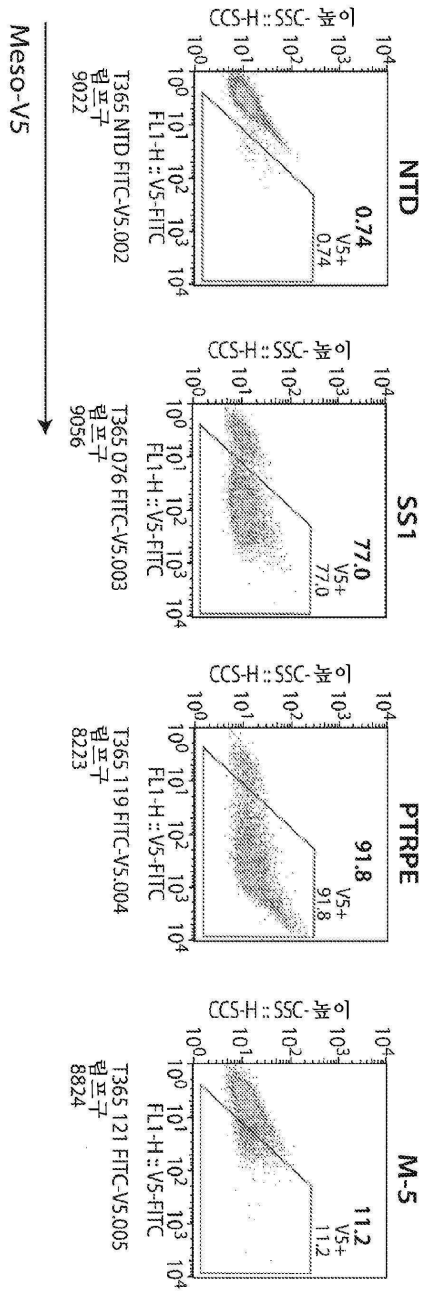
도면39


SS1-KIRS2/DAP12
SS1-ζ
SS1-DAP12
ITAM
DAP12
CD28 ICD
CD3ζ ICD
ITAM
DAP12

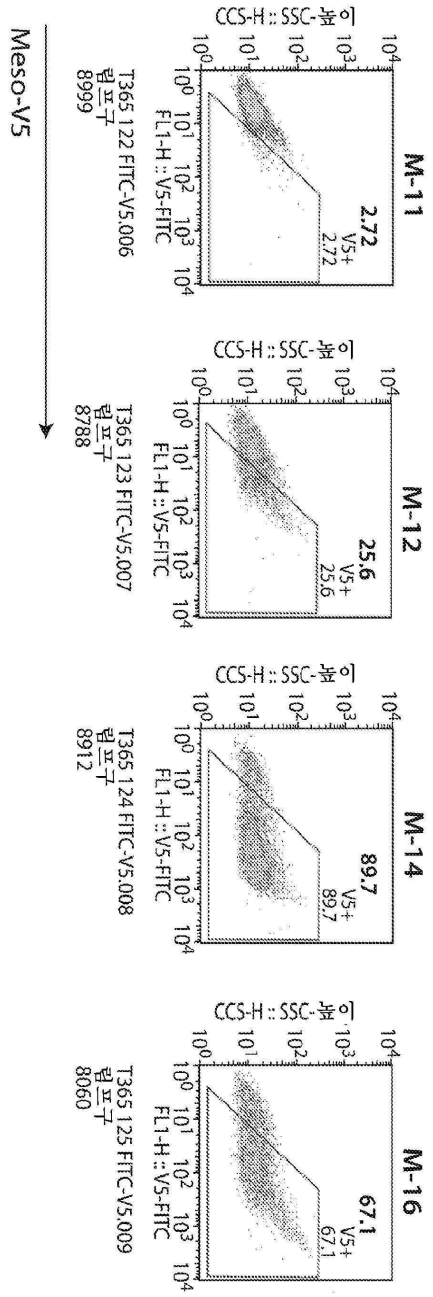
도면40


1500
1000
500
0
종양 부피 (mm3)
0
20
40
60
80
일
모의
SS1-28ζ
SS1-DAP12
SS1-KIRS2/DAP12
T 세포 없음

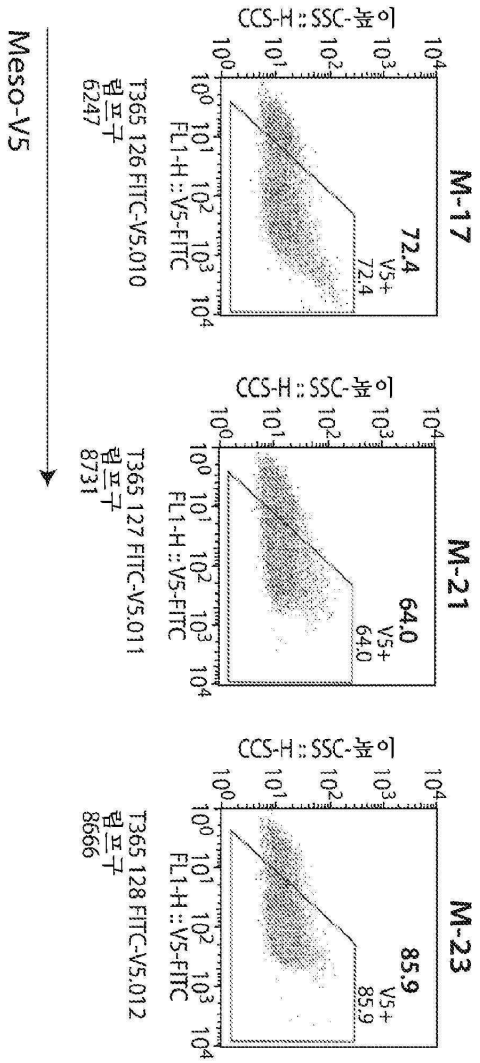
도면41aa


Meso-V5
NTD
SS1
PTRPE
M-5
CCS-H :: SSC-높이
FL1-H :: V5-FITC
0.74
77.0
91.8
11.2
V5+
T365 NTD FITC-V5.002 웰프구 9022
T365 076 FITC-V5.003 웰프구 9056
T365 119 FITC-V5.004 웰프구 8223
T365 121 FITC-V5.005 웰프구 8824

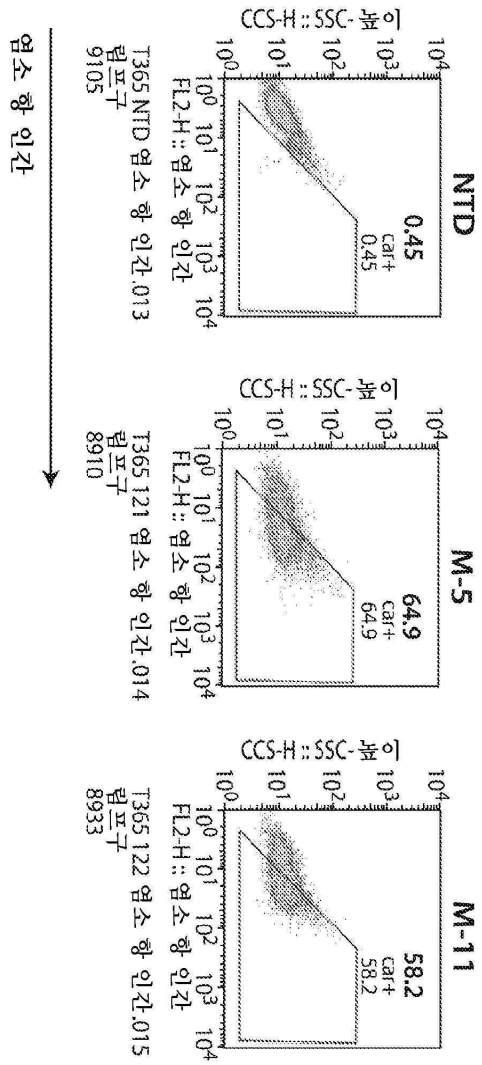
도면41ab


Meso-V5
M-11
M-12
M-14
M-16
CCS-H :: SSC-높이
FL1-H :: V5-FITC
2.72
V5+
2.72
25.6
V5+
25.6
89.7
V5+
89.7
67.1
V5+
67.1
T365 122 FITC-V5.006
림프구
8999
T365 123 FITC-V5.007
림프구
8788
T365 124 FITC-V5.008
림프구
8912
T365 125 FITC-V5.009
림프구
8060

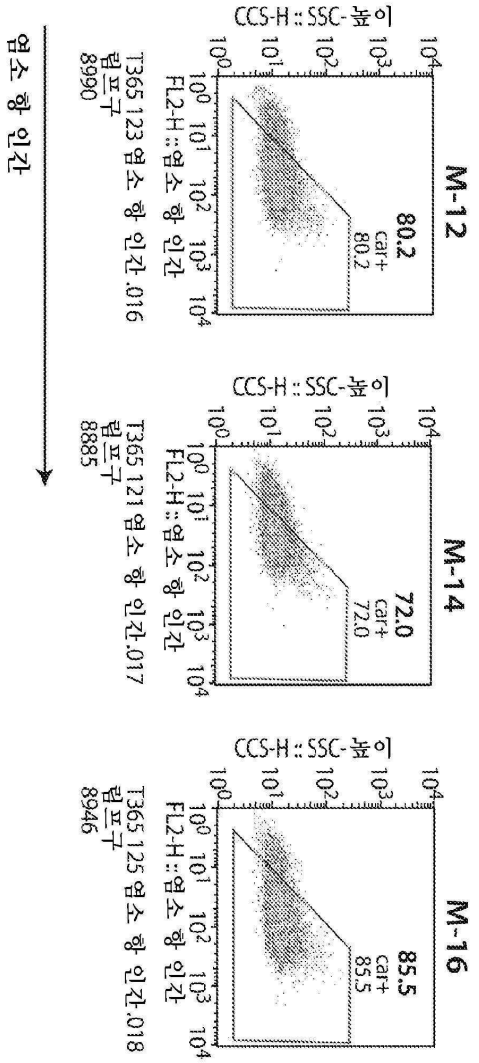
도면41ac


Meso-V5
M-17
72.4
V5+
72.4
T365 126 FITC-V5.010
림프구
6247
M-21
64.0
V5+
64.0
T365 127 FITC-V5.011
림프구
8731
M-23
85.9
V5+
85.9
T365 128 FITC-V5.012
림프구
8666
CCS-H :: SSC-높이
FL1-H :: V5-FITC

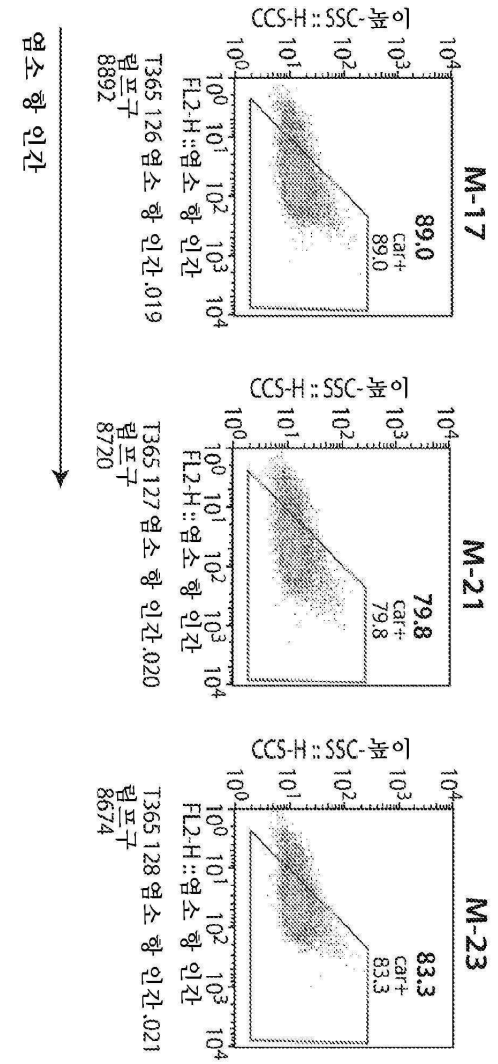
도면41ad


염소 항 인간
NTD
0.45
car+
0.45
CCS-H :: SSC- 높이
FL2-H :: 염소 항 인간
T365 NTD 염소 항 인간 .013
렙프구
9105
M-5
64.9
car+
64.9
T365 121 염소 항 인간 .014
렙프구
8910
M-11
58.2
car+
58.2
T365 122 염소 항 인간 .015
렙프구
8933

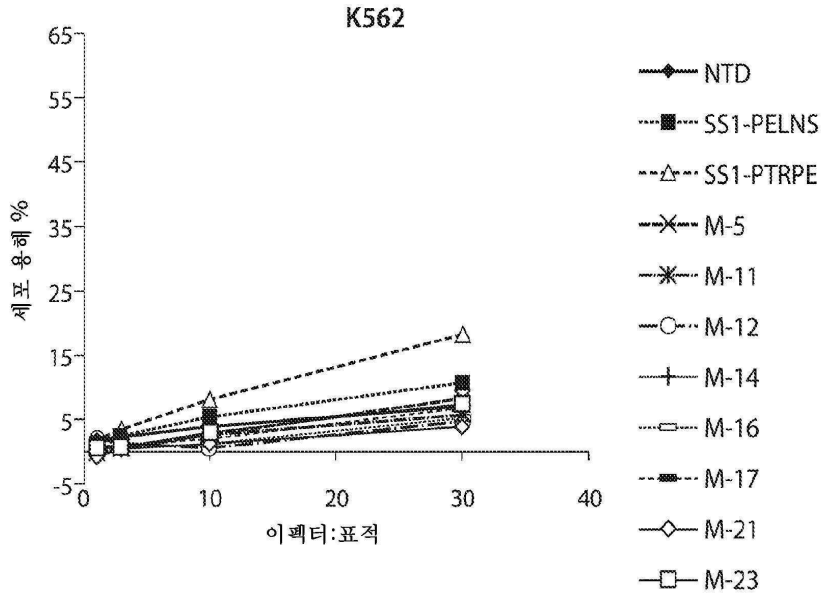
도면41ae


염소 항 인간
M-12
CCS-H :: SSC-높이
FL2-H :: 염소 항 인간
80.2
car+
80.2
T365 123 염소 항 인간.016
웰 프로파일
8990
M-14
CCS-H :: SSC-높이
FL2-H :: 염소 항 인간
72.0
car+
72.0
T365 121 염소 항 인간.017
웰 프로파일
8885
M-16
CCS-H :: SSC-높이
FL2-H :: 염소 항 인간
85.5
car+
85.5
T365 125 염소 항 인간.018
웰 프로파일
8946

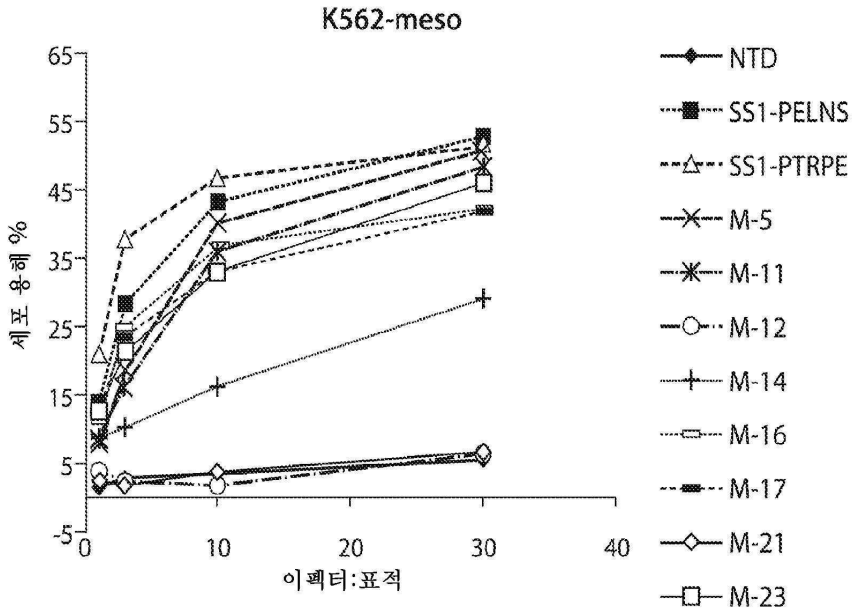
도면41af


염소 항 인간
M-17
89.0
car+
89.0
CCS-H :: SSC-높이
FL2-H :: 염소 항 인간
T365 126 염소 항 인간.019
림프구
8892
M-21
79.8
car+
79.8
CCS-H :: SSC-높이
FL2-H :: 염소 항 인간
T365 127 염소 항 인간.020
림프구
8720
M-23
83.3
car+
83.3
CCS-H :: SSC-높이
FL2-H :: 염소 항 인간
T365 128 염소 항 인간.021
림프구
8674

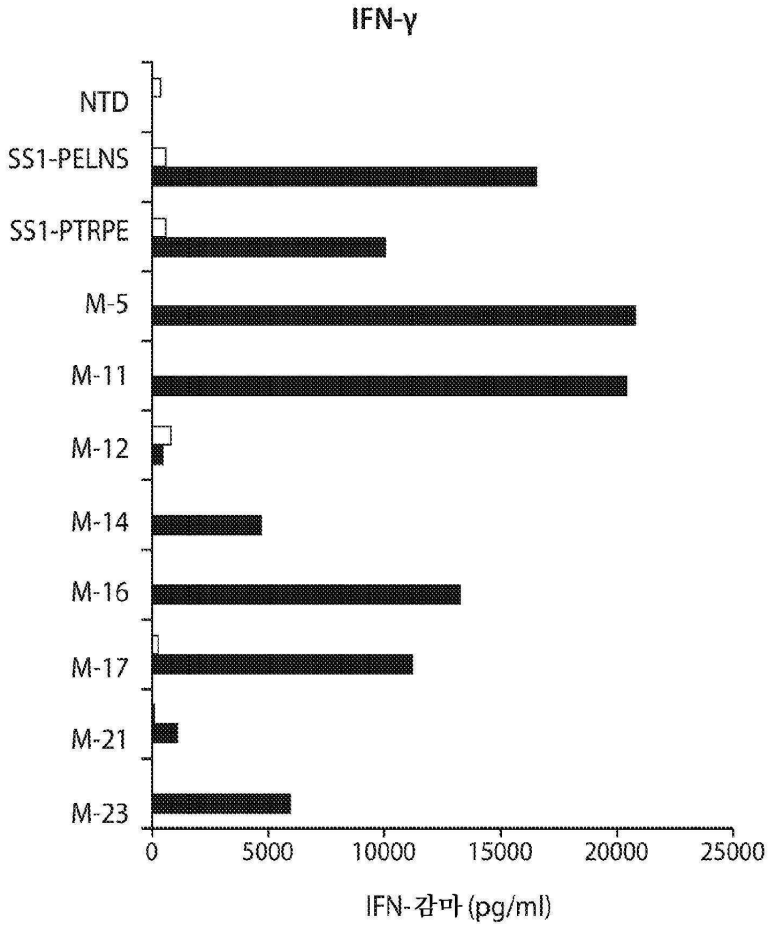
도면42a


K562
65
55
45
35
25
15
5
-5
0
10
20
30
40
세포 용해 %
이펙터:표적
NTD
SS1-PELNS
SS1-PTRPE
M-5
M-11
M-12
M-14
M-16
M-17
M-21
M-23

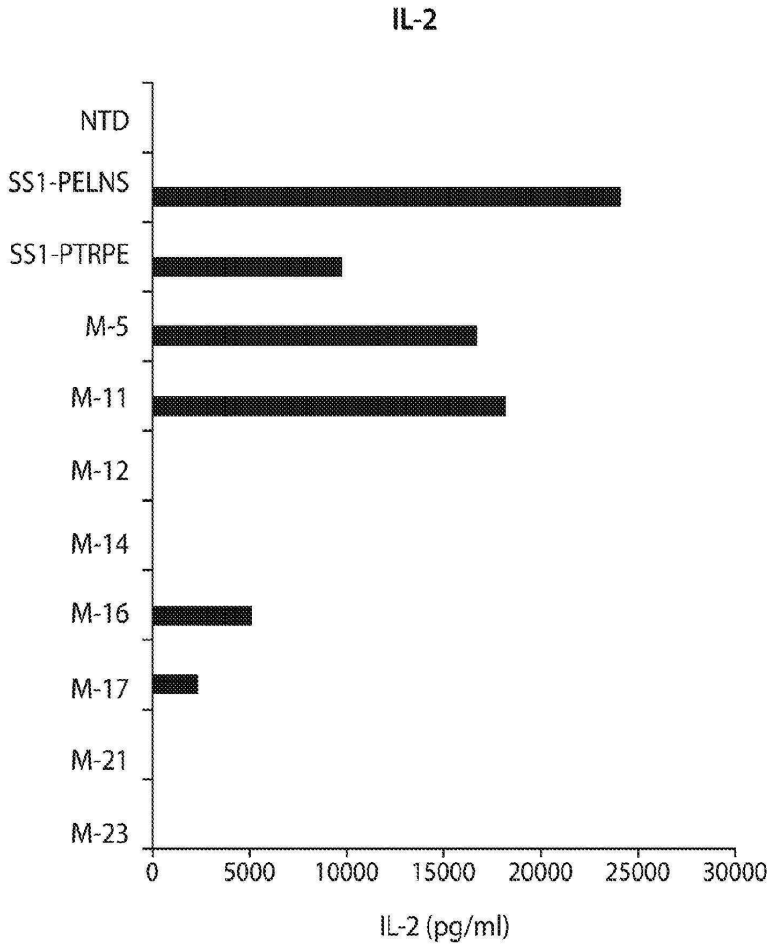
도면42b


K562-meso
65
55
45
35
25
15
5
-5
0
10
20
30
40
세포 용해 %
이펙터:표적
NTD
SS1-PELNS
SS1-PTRPE
M-5
M-11
M-12
M-14
M-16
M-17
M-21
M-23

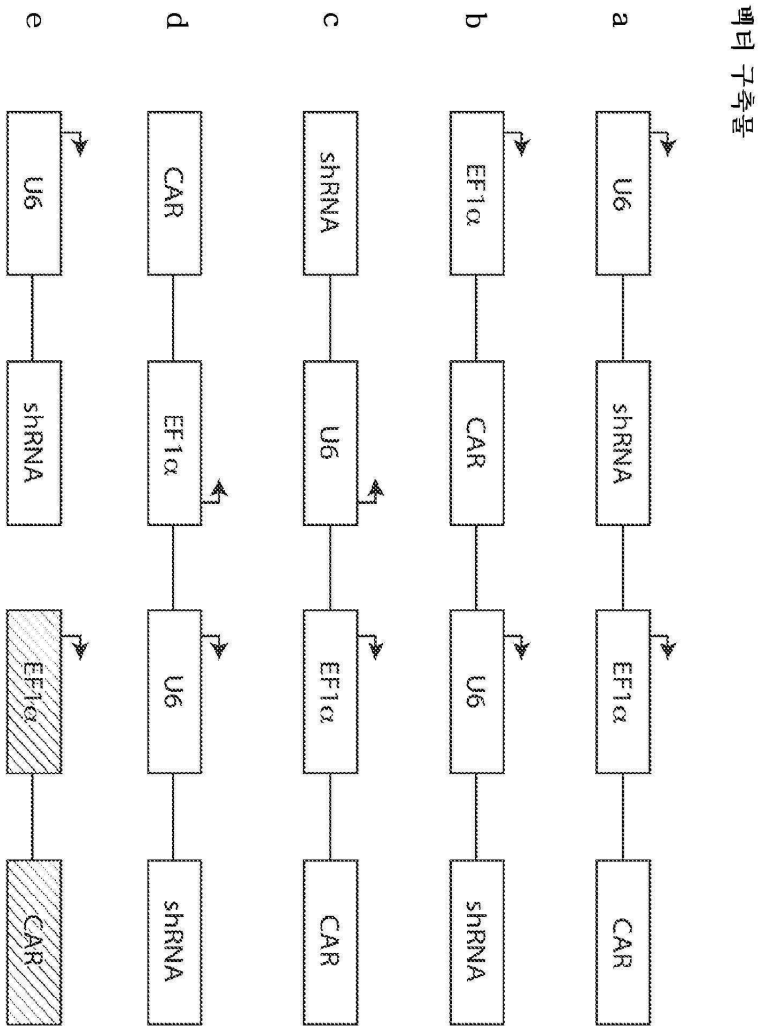
도면43a


IFN-γ
NTD
SS1-PELNS
SS1-PTRPE
M-5
M-11
M-12
M-14
M-16
M-17
M-21
M-23
0
5000
10000
15000
20000
25000
IFN-감마 (pg/ml)

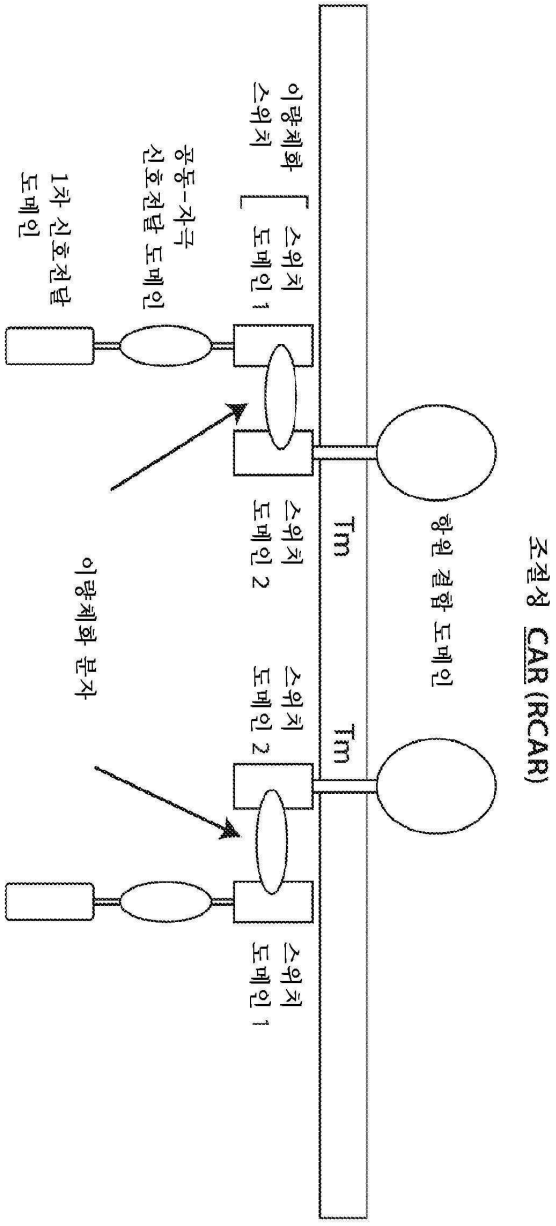
도면43b


IL-2
NTD
SS1-PELNS
SS1-PTRPE
M-5
M-11
M-12
M-14
M-16
M-17
M-21
M-23
0
5000
10000
15000
20000
25000
30000
IL-2 (pg/ml)

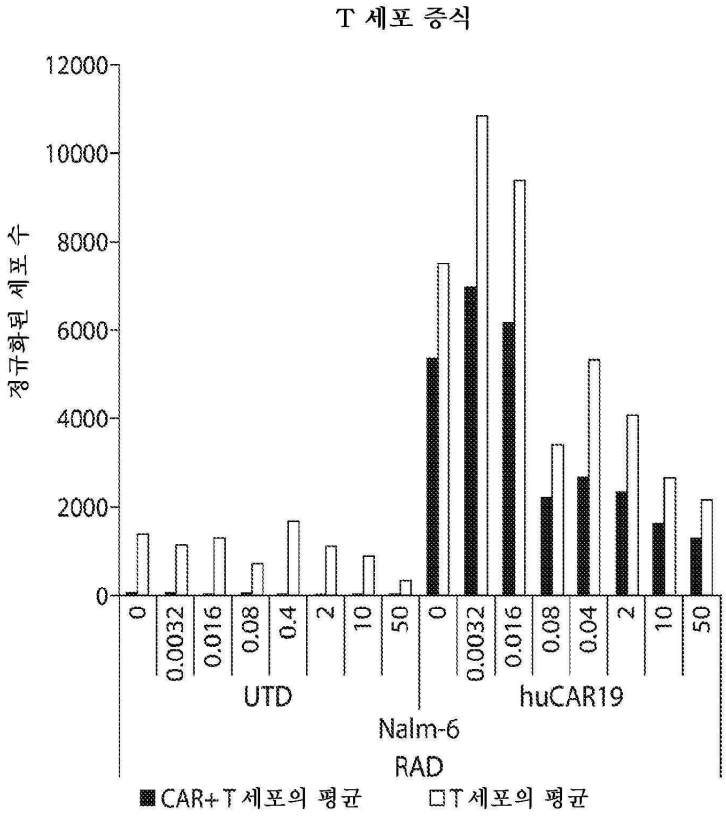
도면44


벡터 구축물
a
U6
shRNA
EF1α
CAR
b
EF1α
CAR
U6
shRNA
c
shRNA
U6
EF1α
CAR
d
CAR
EF1α
U6
shRNA
e
U6
shRNA
EF1α
CAR

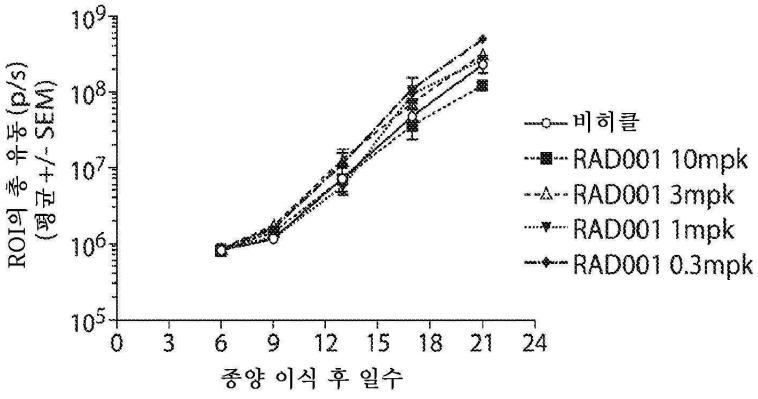
도면45


조절성 CAR (RCAR)
항원 결합 도메인
Tm
Tm
스위치 도메인 2
스위치 도메인 2
스위치 도메인 1
이량체화 스위치
스위치 도메인 1
공동-자극 신호전달 도메인
1차 신호전달 도메인
이량체화 분자

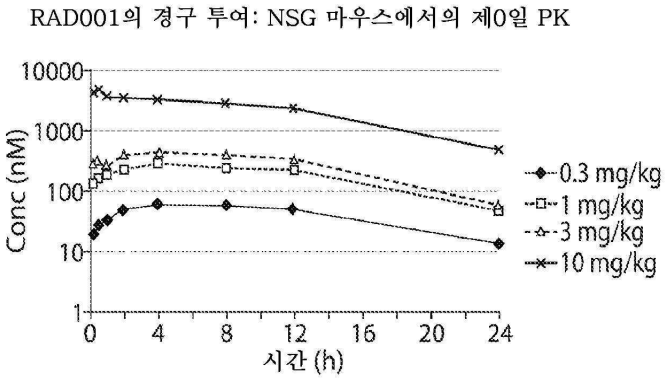
도면46


T 세포 증식
정규화된 세포 수
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
0.0032
0.016
0.08
0.4
2
10
50
0
0.0032
0.016
0.08
0.04
2
10
50
UTD
huCAR19
Nalm-6
RAD
CAR+T 세포의 평균
T 세포의 평균

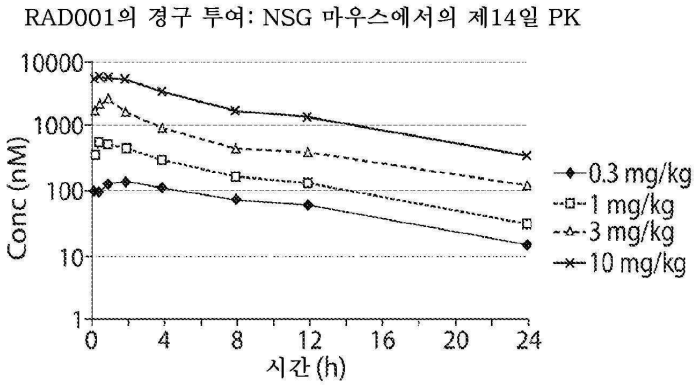
도면47


ROI의 총 유동 (p/s)
(평균 +/- SEM)
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
0
3
6
9
12
15
18
21
24
종양 이식 후 일수
비히클
RAD001 10mpk
RAD001 3mpk
RAD001 1mpk
RAD001 0.3mpk

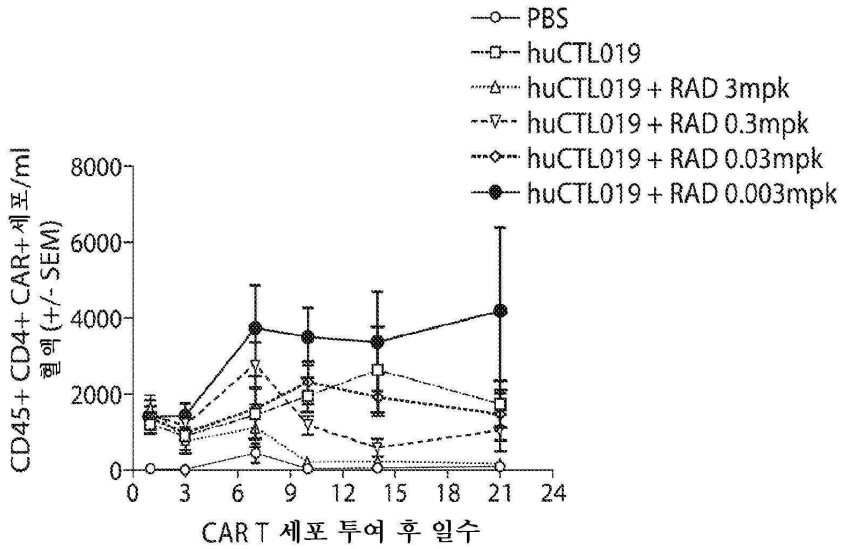
도면48a



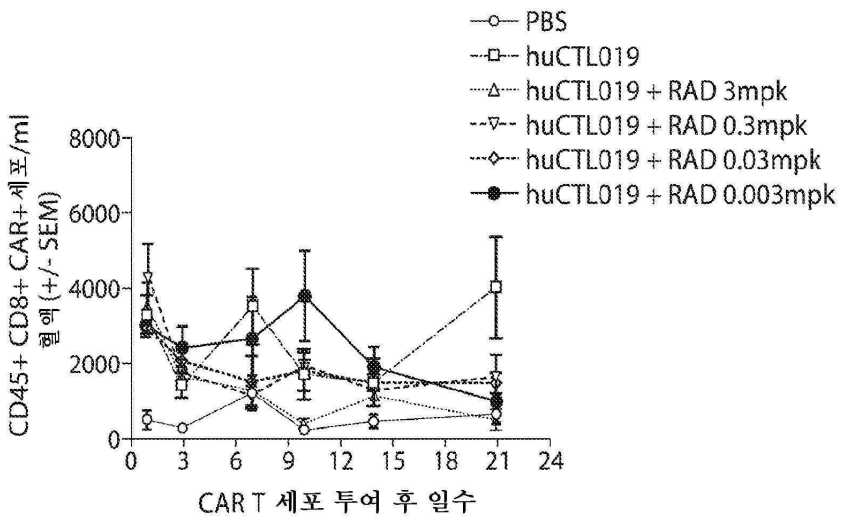
도면48b



도면49a



도면49b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BEATTY, GREGORY

ENGELS, BORIS

IDAMAKANTI, NEERAJA

JUNE, CARL H.

LOEW, ANDREAS

MILONE, MICHAEL C.

SONG, HUIJUAN

WANG, ENXIU

WU, QILONG

<120> TARGETING CYTOTOXIC CELLS WITH CHIMERIC RECEPTORS FOR ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY

<130> N2067-7068WO3

<140> PCT/US2015/050715

<141> 2015-09-17

<150> PCT/CN2014/090578

<151> 2014-11-07

<150> PCT/CN2014/086694

<151> 2014-09-17

<160> 372

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro
20

<210> 2

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
35 40 45

<210> 3

<211> 230

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 3

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

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

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

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys Met

225 230

<210> 4

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys

35 40 45

Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly

85 90 95

Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val

100 105 110

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

115 120 125

Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn

130 135 140

Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro

145 150 155 160

Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys

165 170 175

Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser

180 185 190

Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu

195 200 205

Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr

245 250 255

Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg

260 265 270

Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His

275 280

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 6

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 6

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

<210> 7

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 7

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 8

<211> 48

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 8

Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu Pro
1 5 10 15

Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser Thr
20 25 30
Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser Pro
35 40 45

<210> 9

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 9

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 10

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 11

<211> 1184

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 11

cgtgaggctc cggtgcccgt cagtgggcag agcgcacatc gcccacagtc cccgagaagt 60

tgggggggagg ggtcggcaat tgaaccggtg cctagagaag gtggcgcggg gtaaactggg 120

aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccgaggg tgggggagaa ccgtatataa 180

gtgcagtagt cgccgtgaac gttctttttc gcaacgggtt tgccgccaga acacaggtaa 240

gtgccgtgtg tggttcccgc gggcctggcc tctttacggg ttatggccct tgcgtgcctt 300

gaattacttc cacctggctg cagtacgtga ttcttgatcc cgagcttcgg gttggaagtg 360

ggtgggagag ttcgaggcct tgcgcttaag gagccccttc gcctcgtgct tgagttgagg 420

cctggcctgg gcgctggggc cgccgcgtgc gaatctggtg gcaccttcgc gcctgtctcg 480

ctgctttcga taagtctcta gccatttaaa atttttgatg acctgctgcg acgcttttt 540

tctggcaaga tagtcttgta aatgcgggcc aagatctgca cactggtatt tcggtttttg 600

gggccgcggg cggcgacggg gcccgtgcgt cccagcgcac atgttcggcg aggcggggcc 660

tgcgagcgcg gccaccgaga atcggacggg ggtagtctca agctggccgg cctgctctgg 720

tgcctggcct cgcgccgccg tgtatcgccc cgccctgggc ggcaaggctg gcccggtcgg 780

caccagttgc gtgagcggaa agatggccgc ttcccggccc tgctgcaggg agctcaaaat 840

ggaggacgcg gcgctcggga gagcgggcgg gtgagtcacc cacacaaagg aaaagggcct 900

ttccgtcctc agccgtcgct tcatgtgact ccacggagta ccgggcgccg tccaggcacc 960

tcgattagtt ctcgagcttt tggagtacgt cgtctttagg ttgggggggag gggttttatg 1020

cgatggagtt tccccacact gagtgggtgg agactgaagt taggccagct tggcacttga 1080

tgtaattctc cttggaattt gccctttttg agtttggatc ttggttcatt ctcaagcctc 1140

agacagtggt tcaaagtttt tttcttccat ttcaggtgtc gtga 1184

<210> 12

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60

ccc 63

<210> 13

<211> 135

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60

tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggggcg cagtgcacac gaggggggctg 120

gacttcgcct gtgat 135

<210> 14

<211> 690

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 14

gagagcaagt acggccctcc ctgcccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggaccc 60

agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgag 120

gtgacctgtg tggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180

gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc 240

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300

tacaagtgta aggtgtccaa caagggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag 360

gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcca agaggagatg 420

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 480

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540

gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag 600

gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 660

aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690

<210> 15

<211> 847

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 15

aggtggcccg aaagtcccaa ggcccaggca tctagtgttc ctactgcaca gccccaggca 60

gaaggcagcc tagccaaagc tactactgca cctgccacta cgcgcaatac tggccgtggc 120

ggggaggaga agaaaaagga gaaagagaaa gaagaacagg aagagaggga gaccaagacc 180

cctgaatgtc catcccatac ccagccgctg ggcgtctatc tcttgactcc cgcagtacag 240

gacttgtggc ttagagataa ggccaccttt acatgtttcg tcgtgggctc tgacctgaag 300

gatgcccatt tgacttggga ggttgccgga aaggtaccca ggggggggt tgaggaaggg 360

ttgctggagc gccattccaa tggctctcag agccagcact caagactcac ccttccgaga 420

tccctgtgga acgccgggac ctctgtcaca tgtactctaa atcatcctag cctgccccca 480

cagcgtctga tggcccttag agagccagcc gcccaggcac cagttaagct tagcctgaat 540

ctgctcgcca gtagtgatcc cccagaggcc gccagctggc tcttatgcga agtgtccggc 600

tttagcccgc ccaacatctt gctcatgtgg ctggaggacc agcgagaagt gaacaccagc 660

ggcttcgctc cagcccggcc cccaccccag ccgggttcta ccacattctg ggcctggagt 720

gtcttaaggg tcccagcacc acctagcccc cagccagcca catacacctg tgttgtgtcc 780

catgaagata gcaggaccct gctaaatgct tctaggagtc tggaggtttc ctacgtgact 840

gaccatt 847

<210> 16

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

ggtggcggag gttctggagg tggaggttcc 30

<210> 17

<211> 72

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60

acccttttact gc 72

<210> 18

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
gaactg 126

<210> 19

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60
gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
tcc 123

<210> 20

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 21

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 21

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 22

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr
1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu
65 70 75 80

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly

130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu Val Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145 150 155 160

Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
165 170 175

Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
180 185 190

Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
195 200 205

Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
210 215 220

Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
225 230 235 240

Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
245 250 255

Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
260 265 270

Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
275 280 285

Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
290 295 300

Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
305 310 315 320

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
325 330 335

Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
340 345 350

Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
355 360 365

Ala Leu Pro Pro Arg
370

<210> 23

<211> 1182

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

atggccctcc ctgtcactgc cctgcttctc cccctcgcac tcctgctcca cgccgctaga 60

ccacccggat ggtttctgga ctctccggat cgcccgtgga atcccccaac cttctcaccg 120

gcactcttgg ttgtgactga gggcgataat gcgaccttca cgtgctcgtt ctccaacacc 180

tccgaatcat tcgtgctgaa ctggtaccgc atgagcccgt caaaccagac cgacaagctc 240

gccgcgtttc cggaagatcg gtcgcaaccg ggacaggatt gtcggttccg cgtgactcaa 300

ctgccgaatg gcagagactt ccacatgagc gtggtccgcg ctaggcgaaa cgactccggg 360

acctacctgt gcggagccat ctcgctggcg cctaaggccc aaatcaaaga gagcttgagg 420

gccgaactga gagtgaccga gcgcagagct gaggtgccaa ctgcacatcc atccccatcg 480

cctcggcctg cggggcagtt tcagaccctg gtcacgacca ctccggcgcc gcgcccaccg 540

actccggccc caactatcgc gagccagccc ctgtcgctga ggccggaagc atgccgccct 600

gccgccggag gtgctgtgca tacccgggga ttggacttcg catgcgacat ctacatttgg 660

gctcctctcg ccggaacttg tggcgtgctc cttctgtccc tggtcatcac cctgtactgc 720

aagcggggtc ggaaaaagct tctgtacatt ttcaagcagc ccttcatgag gcccgtgcaa 780

accacccagg aggaggacgg ttgctcctgc cggttccccg aagaggaaga aggaggttgc 840

gagctgcgcg tgaagttctc ccggagcgcc gacgcccccg cctataagca gggccagaac 900

cagctgtaca acgaactgaa cctgggacgg cgggaagagt acgatgtgct ggacaagcgg 960

cgcggccggg accccgaaat gggcgggaag cctagaagaa agaaccctca ggaaggcctg 1020

tataacgagc tgcagaagga caagatggcc gaggcctact ccgaaattgg gatgaaggga 1080

gagcggcgga ggggaaaggg gcacgacggc ctgtaccaag gactgtccac cgccaccaag 1140

gacacatacg atgccctgca catgcaggcc cttccccctc gc 1182

<210> 24

<211> 394

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

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

Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly
35 40 45

Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe
50 55 60

Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu
65 70 75 80

Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe
85 90 95

Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val
100 105 110

Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser
115 120 125

Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg
130 135 140

Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser
145 150 155 160

Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Thr Thr Thr Pro Ala
165 170 175

Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
180 185 190

Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
195 200 205

Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala

210 215 220

Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
225 230 235 240

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
245 250 255

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
260 265 270

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
275 280 285

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
290 295 300

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
305 310 315 320

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
325 330 335

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
340 345 350

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
355 360 365

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
370 375 380

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
385 390

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 26

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> /note="This sequence may encompass 1-6 "Gly Gly Gly Gly Ser" repeating units"

<400> 26

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25 30

<210> 27

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 28

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 29

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 29

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 30

<211> 5000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(5000)

<223> /note="This sequence may encompass 50-5000 nucleotides"

<400> 30

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2520

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2580

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2700

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2820

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 31

<211> 100

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 31

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 60

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 100

<210> 32

<211> 5000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(5000)

<223> /note="This sequence may encompass 50-5000 nucleotides"

<400> 32

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 60

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 120

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 180

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 240

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 300

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 360

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 420

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 480

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 540

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 600

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 660

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 720

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 780

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 840

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 900

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 960

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1020

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1080

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1140

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1200

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1260

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1320

tttttt

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3120

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3180

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3240

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3300

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3360

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3420

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3480

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3540

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3600

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3660

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3720

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3780

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3840

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3900

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3960

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4020

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4080

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4140

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4200

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4260

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4320

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4380

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4440

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4500

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4560

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4620

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4680

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4740

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4800

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4860

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4920

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4980

tttttttttt tttttttttt 5000

<210> 33

<211> 5000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(5000)

<223> /note="This sequence may encompass 100-5000 nucleotides"

<400> 33

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2520

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2580

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2700

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2820

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 34

<211> 400

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(400)

<223> /note="This sequence may encompass 100-400 nucleotides"

<400> 34

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 400

<210> 35

<211> 2000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(2000)

<223> /note="This sequence may encompass 50-2000 nucleotides"

<400> 35

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2000

<210> 36

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 37

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60

gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120

tcc 123

<210> 38

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
1 5 10 15

Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Asp
20 25 30

Val Thr Leu
35

<210> 39

<211> 105

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

acaaaaaaga agtattcatc cagtgtgcac gaccctaacg gtgaatacat gttcatgaga 60

gcagtgaaca cagccaaaaa atccagactc acagatgtga cccta 105

<210> 40

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(4)

<223> /note="See specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments"

<400> 40

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 41

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(40)

<223> /note="This sequence may encompass 1-10 "Gly Gly Gly Ser"

repeating units"

<400> 41

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

35 40

<210> 42

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 42

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
1 5 10 15
Lys Gly

<210> 43

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Gly Gly Pro Ser Ser Pro Lys Lys
1 5 10 15
Lys Arg Lys Val Ser Arg Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly
20 25 30
Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr
35 40 45
Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg
50 55 60
Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly
65 70 75 80
Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu
85 90 95
Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile
100 105 110
Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu
115 120 125
Glu Thr Ser Tyr
130

<210> 44

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

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

Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly
20 25 30

Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met
35 40 45

Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln
50 55 60

Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala
65 70 75 80

Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu
85 90 95

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

<210> 45

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

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

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys

85 90

<210> 46

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Ile Glu Ala Ser Arg

1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

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

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser

85 90 95

<210> 47

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Leu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 48

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 48

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

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

<210> 49
<211> 95
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<220><221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> Any amino acid
<220><221> MOD_RES
<222> (78)..(78)

<223> Any amino acid
<400> 49
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Xaa Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30
Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45
Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

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

<210> 50

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 50

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Ile Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 51

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 51

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Leu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser

85 90 95

<210> 52

<211> 521

<212> DNA

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

Wild-type PGK promoter"

<400> 52

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120

gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180

gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240

cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300

ttccttggaa gggctgaatc cccgcctcgt ccttcgcagc ggcccccccgg gtgttcccat 360

cgccgcttct aggcccactg cgacgcttgc ctgcacttct tacacgctct gggtcccagc 420

cgcggcgacg caaagggcct tggtgcgggt ctcgtcggcg cagggacgcg tttgggtccc 480

gacggaacct tttccgcgtt ggggttgggg caccataagc t 521

<210> 53

<211> 118

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 53

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtg 118

<210> 54

<211> 221

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120

gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180

gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac g 221

<210> 55

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120

gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180

gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240

cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300

ttccttggaa gggctgaatc cccg 324

<210> 56

<211> 422

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 56

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120

gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180

gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240

cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300

ttccttggaa gggctgaatc cccgcctcgt ccttcgcagc ggcccccccgg gtgttcccat 360

cgccgcttct aggcccactg cgacgcttgc ctgcacttct tacacgctct gggtcccagc 420

cg 422

<210> 57

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)..(3)

<223

> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(21)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations for
variant positions"

<400> 57

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 58

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)..(3)

<223> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(22)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 58

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 59

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)..(3)

<223> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(23)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 59

Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp

1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 60

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)..(3)

<223> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(25)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 60

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

1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20 25

<210> 61

<211> 1132

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val

260 265 270

Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala

275 280 285

Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His

290 295 300

Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro

305 310 315 320

Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln

370 375 380

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His

385 390 395 400

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg

405 410 415

Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln

420 425 430

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

435 440 445

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe

450 455 460

Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser

465 470 475 480

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser

485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met

500 505 510

Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys

515 520 525

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe

530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe

545 550 555 560

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

565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His

580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln

595 600 605

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile

610 615 620

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val

625 630 635 640

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

645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg

660 665 670

Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg

675 680 685

Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His

740 745 750

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

755 760 765

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser

770 775 780

Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu

785 790 795 800

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His

805 810 815

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

820 825 830

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp

835 840 845

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu

850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala

865 870 875 880

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys

885 890 895

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

900 905 910

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe

915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser

930 935 940

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

945 950 955 960

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

965 970 975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn

980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln

995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln

1010 1015 1020

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp

1025 1030 1035

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly

1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu

1055 1060 1065

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr

1070 1075 1080

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr

1085 1090 1095

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr

1100 1105 1110

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

1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp

1130

<210> 62

<211> 4027

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 62

caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc 60

cgcgcgctcc ccgctgccga gccgtgcgct ccctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc 120

tgccgctggc cacgttcgtg cggcgcctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg 180

gggacccggc ggctttccgc gcgctggtgg cccagtgcct ggtgtgcgtg ccctgggacg 240

cacggccgcc ccccgccgcc ccctccttcc gccaggtgtc ctgcctgaag gagctggtgg 300

cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg 360

cgctgctgga cggggcccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct 420

acctgcccaa cacggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttgc 480

gccgcgtggg cgacgacgtg ctggttcacc tgctggcacg ctgcgcgctc tttgtgctgg 540

tggctcccag ctgcgcctac caggtgtgcg ggccgccgct gtaccagctc ggcgctgcca 600

ctcaggcccg gcccccgcca cacgctagtg gaccccgaag gcgtctggga tgcgaacggg 660

cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga 720

ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg 780

ctgcccctga gccggagcgg acgcccgttg ggcaggggtc ctgggcccac ccgggcagga 840

cgcgtggacc gagtgaccgt ggtttctgtg tggtgtcacc tgccagaccc gccgaagaag 900

ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgccactc ccacccatcc gtgggccgcc 960

agcaccacgc gggcccccca tccacatcgc ggccaccacg tccctgggac acgccttgtc 1020

ccccggtgta cgccgagacc aagcacttcc tctactcctc aggcgacaag gagcagctgc 1080

ggccctcctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgctcgg aggctcgtgg 1140

agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccagggac tccccgcagg ttgccccgcc 1200

tgccccagcg ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc 1260

agtgccccta cggggtgctc ctcaagacgc actgcccgct gcgagctgcg gtcaccccag 1320

cagccggtgt ctgtgcccgg gagaagcccc agggctctgt ggcggccccc gaggaggagg 1380

acacagaccc ccgtcgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt 1440

acggcttcgt gcgggcctgc ctgcgccggc tggtgccccc aggcctctgg ggctccaggc 1500

acaacgaacg ccgcttcctc aggaacacca agaagttcat ctccctgggg aagcatgcca 1560

agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca 1620

ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg 1680

ccaagttcct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt 1740

atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga 1800

gcaagttgca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt 1860

cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc 1920

gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgattgtgaa catggactac gtcgtgggag 1980

ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctcgagggtg aaggcactgt 2040

tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg 2100

gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gcccaggacc 2160

cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cgcgtacgac accatccccc 2220

aggacaggct cacggaggtc atcgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc 2280

gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc 2340

acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg 2400

agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctcctccctg aatgaggcca 2460

gcagtggcct cttcgacgtc ttcctacgct tcatgtgcca ccacgccgtg cgcatcaggg 2520

gcaagtccta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggctc catcctctcc acgctgctct 2580

gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc 2640

tgctcctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtgacacc tcacctcacc cacgcgaaaa 2700

ccttcctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgcgtggtg aacttgcgga 2760

agacagtggt gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga 2820

tgccggccca cggcctattc ccctggtgcg gcctgctgct ggatacccgg accctggagg 2880

tgcagagcga ctactccagc tatgcccgga cctccatcag agccagtctc accttcaacc 2940

gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gcaaactctt tggggtcttg cggctgaagt 3000

gtcacagcct gtttctggat ttgcaggtga acagcctcca gacggtgtgc accaacatct 3060

acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctcccatttc 3120

atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tcctgcgcgt catctctgac acggcctccc 3180

tctgctactc catcctgaaa gccaagaacg cagggatgtc gctgggggcc aagggcgccg 3240

ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc 3300

tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc 3360

agctgagtcg gaagctcccg gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg 3420

cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgcccac agccaggccg 3480

agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggctctacgt cccagggagg gaggggcggc 3540

ccacacccag gcccgcaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct 3600

gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc 3660

tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttcact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc 3720

agggccagct tttcctcacc aggagcccgg cttccactcc ccacatagga atagtccatc 3780

cccagattcg ccattgttca cccctcgccc tgccctcctt tgccttccac ccccaccatc 3840

caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctgggaa tttggagtga ccaaaggtgt 3900

gccctgtaca caggcgagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg 3960

ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa 4020

aaaaaaa 4027

<210> 63

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> /note="This sequence may encompass 1-6 "Gly Gly Gly Gly Ser" repeating units"

<400> 63

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25 30

<210> 64

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

Arg Gly Asp Ser

1

<210> 65

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 65

ggaggtccct caccttcta 19

<210> 66

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 66

cggaggatct tatgctgaa 19

<210> 67

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 67

cccgcttcca gatcataca 19

<210> 68

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 68

ggagacctca acaagatat 19

<210> 69

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 69

aaggcatggt cattggtat 19

<210> 70

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 70

gcatggtcat tggtatcat 19

<210> 71

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 71

ggtcattggt atcatgagt 19

<210> 72

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 72

cctagtgggt atccctgta 19

<210> 73

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 73

gaggatggac attgttctt 19

<210> 74

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 74

gcatgcaggc tacagttca 19

<210> 75

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 75

ccagcacatg cactgttga 19

<210> 76

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 76

cacatgcact gttgagtga 19

<210> 77

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 77

ctggaggtcc ctcaccttct a 21

<210> 78

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 78

gtcggaggat cttatgctga a 21

<210> 79

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 79

tgcccgcttc cagatcatac a 21

<210> 80

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 80

ctggagacct caacaagata t 21

<210> 81

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 81

tcaaggcatg gtcattggta t 21

<210> 82

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 82

aggcatggtc attggtatca t 21

<210> 83

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 83

atggtcattg gtatcatgag t 21

<210> 84

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 84

gccctagtgg gtatccctgt a 21

<210> 85

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 85

atgaggatgg acattgttct t 21

<210> 86

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 86

gagcatgcag gctacagttc a 21

<210> 87

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 87

ttccagcaca tgcactgttg a 21

<210> 88

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 88

agcacatgca ctgttgagtg a 21

<210> 89

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 89

tagaaggtga gggacctcca g 21

<210> 90

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 90

ttcagcataa gatcctccga c 21

<210> 91

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 91

tgtatgatct ggaagcgggc a 21

<210> 92

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 92

atatcttgtt gaggtctcca g 21

<210> 93

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 93

ataccaatga ccatgccttg a 21

<210> 94

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 94

atgataccaa tgaccatgcc t 21

<210> 95

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 95

atggtcattg gtatcatgag t 21

<210> 96

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 96

gccctagtgg gtatccctgt a 21

<210> 97

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 97

atgaggatgg acattgttct t 21

<210> 98

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 98

gagcatgcag gctacagttc a 21

<210> 99

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 99

ttccagcaca tgcactgttg a 21

<210> 100

<211> 21

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 100

agcacatgca ctgttgagtg a 21

<210> 101

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 101

tagaaggtga gggacctcc 19

<210> 102

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 102

ttcagcataa gatcctccg 19

<210> 103

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 103

tgtatgatct ggaagcggg 19

<210> 104

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 104

atatcttgtt gaggtctcc 19

<210> 105

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 105

ataccaatga ccatgcctt 19

<210> 106

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 106

atgataccaa tgaccatgc 19

<210> 107

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 107

atggtcattg gtatcatga 19

<210> 108

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 108

gccctagtgg gtatccctg 19

<210> 109

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 109

atgaggatgg acattgttc 19

<210> 110

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 110

gagcatgcag gctacagtt 19

<210> 111

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 111

ttccagcaca tgcactgtt 19

<210> 112

<211> 19

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 112

agcacatgca ctgttgagt 19

<210> 113

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 113

ggccaggatg gttcttaga 19

<210> 114

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 114

gcttcgtgct aaactggta 19

<210> 115

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 115

gggcgtgact tccacatga 19

<210> 116

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 116

caggcctaga gaagtttca 19

<210> 117

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 117

cttggaaccc attcctgaa 19

<210> 118

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 118

ggaacccatt cctgaaatt 19

<210> 119

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 119

gaacccattc ctgaaatta 19

<210> 120

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 120

aacccattcc tgaaattat 19

<210> 121

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 121

acccattcct gaaattatt 19

<210> 122

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 122

cccattcctg aaattattt 19

<210> 123

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 123

ctgtggttct attatatta 19

<210> 124

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 124

aaatatgaga gcatgctaa 19

<210> 125

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 125

tctaagaacc atcctggcc 19

<210> 126

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 126

taccagttta gcacgaagc 19

<210> 127

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 127

tcatgtggaa gtcacgccc 19

<210> 128

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 128

tgaaacttct ctaggcctg 19

<210> 129

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 129

ttcaggaatg ggttccaag 19

<210> 130

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 130

aatttcagga atgggttcc 19

<210> 131

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 131

taatttcagg aatgggttc 19

<210> 132

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 132

ataatttcag gaatgggtt 19

<210> 133

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 133

aataatttca ggaatgggt 19

<210> 134

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 134

aaataatttc aggaatggg 19

<210> 135

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 135

taatataata gaaccacag 19

<210> 136

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 136

ttagcatgct ctcatattt 19

<210> 137

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 137

gcggccagga tggttcttag a 21

<210> 138

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 138

gagcttcgtg ctaaactggt a 21

<210> 139

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 139

acgggcgtga cttccacatg a 21

<210> 140

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 140

tgcaggccta gagaagtttc a 21

<210> 141

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 141

tccttggaac ccattcctga a 21

<210> 142

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 142

ttggaaccca ttcctgaaat t 21

<210> 143

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 143

tggaacccat tcctgaaatt a 21

<210> 144

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 144

ggaacccatt cctgaaatta t 21

<210> 145

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 145

gaacccattc ctgaaattat t 21

<210> 146

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 146

aacccattcc tgaaattatt t 21

<210> 147

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 147

ccctgtggtt ctattatatt a 21

<210> 148

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 148

ttaaatatga gagcatgcta a 21

<210> 149

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 149

tctaagaacc atcctggccg c 21

<210> 150

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 150

taccagttta gcacgaagct c 21

<210> 151

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 151

tcatgtggaa gtcacgcccg t 21

<210> 152

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 152

tgaaacttct ctaggcctgc a 21

<210> 153

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 153

ttcaggaatg ggttccaagg a 21

<210> 154

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 154

aatttcagga atgggttcca a 21

<210> 155

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 155

taatttcagg aatgggttcc a 21

<210> 156

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 156

ataatttcag gaatgggttc c 21

<210> 157

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 157

aataatttca ggaatgggtt c 21

<210> 158

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 158

aaataatttc aggaatgggt t 21

<210> 159

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 159

taatataata gaaccacagg g 21

<210> 160

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 160

ttagcatgct ctcatattta a 21

<210> 161

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 161

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110

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

115 120 125

Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu 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 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Val Ile Trp Gly Ser
165 170 175
Glu Thr Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser
180 185 190
Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr

195 200 205
Ala Ala Asp Thr Ala Val 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 Leu Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 162
<211> 242
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 162
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu
115 120 125

Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu 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 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Val Ile Trp Gly Ser
165 170 175
Glu Thr Thr Tyr Tyr Gln Ser Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser
180 185 190

Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr
195 200 205
Ala Ala Asp Thr Ala Val 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 Leu Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 163
<211> 242
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"
<400> 163
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

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

<210> 164
<211> 242
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 164

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Gln Ser Ser Leu Lys
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala
130 135 140

Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
145 150 155 160

Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly
180 185 190

Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu
195 200 205

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln

210 215 220

Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu

225 230 235 240

Ile Lys

<210> 165

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 165

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

165 170 175

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

180 185 190

Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys

195 200 205

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys

210 215 220

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 166

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 166

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

165 170 175

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Gln Ser Ser Leu Lys Ser

180 185 190

Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys

195 200 205

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys

210 215 220

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 167

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 167

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser

180 185 190

Arg Leu His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

195 200 205

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

210 215 220

Val Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln

225 230 235 240

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 168

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 168

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Gln Ser Ser Leu Lys
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
145 150 155 160

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser
180 185 190

Arg Leu His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220

Val Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 169
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 169
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr

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

85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
115 120 125
Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr
130 135 140

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

145 150 155 160

Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

165 170 175

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Leu Lys Ser

180 185 190

Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys

195 200 205

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys

210 215 220

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 170

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 170

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu

65 70 75 80

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

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

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

<210> 171
<211> 242
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 171

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110

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

115 120 125

Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu 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 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Val Ile Trp Gly Ser

165 170 175

Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser

180 185 190

Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr

195 200 205

Ala Ala Asp Thr Ala Val 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 Leu Val Thr Val

225 230 235 240

Ser Ser

<210> 172

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 172

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Leu Lys
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala
130 135 140

Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
145 150 155 160

Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly

180 185 190

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

<210> 173
<211> 242
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"
<400> 173
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> 174
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"
<400> 174
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30
Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala

50 55 60

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

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

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

<210> 175
<211> 237
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 175

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln

115 120 125

Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys
130 135 140

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys
145 150 155 160

Gln Arg Pro Asp Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr
165 170 175

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

180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu
195 200 205

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp
210 215 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
225 230 235

<210> 176

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

polypeptide"

<400> 176

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr

20 25 30

Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys

130 135 140

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe

145 150 155 160

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

165 170 175

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly

225 230 235 240

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 177

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 177

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr

20 25 30

Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe

145 150 155 160

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu

165 170 175

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser

180 185 190

Ala Asp Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu Asp Thr Ser Ala Ser

195 200 205

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val

210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly

225 230 235 240

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 178

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 178

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala

50 55 60

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

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 179
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 179

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
130 135 140

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe
145 150 155 160

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu
165 170 175

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser
180 185 190

Ala Asp Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu Asp Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 180

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400>

180

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ala Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn
145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg
180 185 190

Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp
210 215 220

Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 181

<211> 249

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 181

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ala Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

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

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 182
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 182
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 183
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 183

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser
145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg
180 185 190

Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp

210 215 220

Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 184

<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn
65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95

Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln

145 150 155 160

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val

165 170 175

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn Trp

180 185 190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala

195 200 205

Phe Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

210 215 220

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe

225 230 235 240

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

245 250 255

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

260

<210> 185

<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 185

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95

Ile Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
145 150 155 160

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
165 170 175

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp
180 185 190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
195 200 205

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
210 215 220

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
225 230 235 240

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly
245 250 255

Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
260

<210> 186

<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Ile Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro

115 120 125

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp

180 185 190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala

195 200 205

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

210 215 220

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

225 230 235 240

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly
245 250 255
Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 187
<211> 266
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Ser Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
145 150 155 160

Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp
165 170 175

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

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
245 250 255
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260 265

<210> 188
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His

65 70 75 80

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

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

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

<210> 189
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<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 Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala

225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 190

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
85 90 95

Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met

145 150 155 160

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

165 170 175

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210 215 220

Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala

225 230 235 240

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly

245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

260

<210> 191

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 191

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

50 55 60

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

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

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 192
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45

Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
50 55 60

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95

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

Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175

Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205

Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr
210 215 220

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala

225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

245 250 255

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

260

<210> 193

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu

20 25 30

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys

35 40 45

Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala

50 55 60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro

65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

85 90 95

Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His

100 105 110

Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

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

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

<210> 194
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<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 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
20 25 30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45

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

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

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

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 195

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30

Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45

Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95

Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110

Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175

Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205

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

210 215 220

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 196

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<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 Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95

Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

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

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 197
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 197
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His

65 70 75 80

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser

85 90 95

Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln

115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr

180 185 190

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly

245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

260

<210> 198

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95

Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190

Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205

Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220

Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 199
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175

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

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 200
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu

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

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile

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

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

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

<210> 201
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

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

polypeptide"

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

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

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

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val
210 215 220

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 202
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
20 25 30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr

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

225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 203
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80

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

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

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

<210> 204
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 204

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

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

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

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

225 230 235 240

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 205

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80

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

Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr

180 185 190

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly

245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

260

<210> 206

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

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

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr

35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys

50 55 60

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

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

Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 207
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80

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

Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110

Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175

Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205

Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala

225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly

245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

260

<210> 208

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu

20 25 30

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys

35 40 45

Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

50 55 60

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro

65 70 75 80

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile

85 90 95

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His

100 105 110

Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

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

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

<210> 209
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<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 Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
20 25 30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45

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

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

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

Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 210
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu

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

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

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

210 215 220

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala

225 230 235 240

Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

245 250 255

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

260

<210> 211

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<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 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro

50 55 60

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro

65 70 75 80

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

85 90 95

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

100 105 110

Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160

Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr
165 170 175

Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
180 185 190

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205

Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile
210 215 220

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
225 230 235 240

Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 212

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln

115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu

145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr

165 170 175

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr

180 185 190

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser

195 200 205

Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210 215 220

Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

225 230 235 240

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly

245 250 255

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

260

<210> 213

<211> 263

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80

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

Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205

Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 214
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 214
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175

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

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 215
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

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

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

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

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

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

<210> 216
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

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

polypeptide"

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

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190

Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
210 215 220

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 217
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
20 25 30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys

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

100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr

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

225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 218
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<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 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
20 25 30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
50 55 60

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205

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

<210> 219
<211> 263
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<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 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45

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

Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175

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

225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 220

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 220

Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Asn Ile Glu Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Lys Tyr Gly Pro Ile Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Phe Arg Gly Gly Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser
130 135 140

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

145 150 155 160

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln

165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile Ser Leu Val Ser Lys

180 185 190

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

195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val

210 215 220

Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Gly Thr Phe Gly Gly Gly

225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 221

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 221

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro

35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Ser Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

65 70 75 80

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

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

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

<210> 222
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 222

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Asn Ile Glu Asp Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Lys Tyr Gly Pro Ile Phe

50 55 60

Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Ile Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln

165 170 175

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Ser Leu Val Ser Lys

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Gly Thr Phe Gly Gly Gly

225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 223

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 223

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Ser Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Gly Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
130 135 140

Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Asn
145 150 155 160

Ile Glu Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Lys Tyr

180 185 190

Gly Pro Ile Phe Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Ile
195 200 205
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
210 215 220
Met Tyr Tyr Cys Ala Phe Arg Gly Gly Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240
Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 224
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 224
Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Asn Ile Glu Asp Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 225
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 225
Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Asn Ile Glu Asp Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

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

225 230 235 240
Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 226
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 226

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

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

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

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

Met Tyr Tyr Cys Ala Phe Arg Gly Gly Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 227

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 227

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Ser Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr His Phe Pro Gly Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Lys Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Phe Asn

145 150 155 160

Ile Glu Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly

165 170 175

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Lys Tyr

180 185 190

Gly Pro Ile Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr

195 200 205

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

210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Phe Arg Gly Gly Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 228

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 228

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Ile Glu Asp Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Lys Tyr Gly Pro Ile Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Phe Arg Gly Gly Val Tyr Trp Gly Pro Gly Thr Thr Leu Thr Val

100 105 110

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser His Met Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Thr Leu Ser Val

130 135 140

Ala Ile Gly Gln Ser Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu

145 150 155 160

Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro

165 170 175

Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Ser Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser

180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

195 200 205

Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys

210 215 220

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Gly Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 229

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 229

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser

145 150 155 160

Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235

<210> 230

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 230

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser

130 135 140

Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys

145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Arg

165 170 175

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala

180 185 190

Thr Gly Ile Pro Pro Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

195 200 205

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Ala Tyr Tyr

210 215 220

Cys His Gln Arg Ser Asn Trp Leu Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

225 230 235 240

Val Asp Ile Lys

<210> 231

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 231

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Arg Thr Val Val Thr Pro Arg Ala Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser
145 150 155 160

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser
165 170 175

Asn Ser Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu
180 185 190

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe
195 200 205
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Phe Thr Ile Ser Ser Leu
210 215 220
Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Asn Leu
225 230 235 240
Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245 250

<210> 232

<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 232
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Pro Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu
130 135 140
Thr Gln Thr Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr
165 170 175

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

Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 233
<211> 242
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 233
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Gly Gly His Trp Ala Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val

100 105 110

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr

130 135 140

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser

145 150 155 160

Gln Ser Ile Ser Asp Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

165 170 175

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

180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Gly His Leu Pro Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu

225 230 235 240

Ile Lys

<210> 234

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 234

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145 150 155 160

Ser Gln Ser Ile Arg Tyr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Ser Ile Leu Gln Asn Gly
180 185 190

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu

210 215 220

Gln Thr Tyr Thr Thr Pro Asp Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile
225 230 235 240
Lys

<210> 235
<211> 253
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 235
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Tyr Arg Leu Ile Ala Val Ala Gly Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110
Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Arg Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

180 185 190

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

195 200 205

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Leu

210 215 220

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe

225 230 235 240

Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

245 250

<210> 236

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 236

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Thr Lys Tyr Leu Gly

165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp

180 185 190

Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly

195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu Pro Glu Asp

210 215 220

Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Gly Ser Pro Leu Ile Thr

225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

245 250

<210> 237

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 237

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Ser Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp His Tyr Gly Gly Asn Ser Leu Phe Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr

130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Ile Ser Ala Ser Val Gly Asp Thr Val Ser Ile

145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ser Gly Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Met Tyr Asp Ala Ser Thr

180 185 190

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

195 200 205

Glu Phe Thr Leu Thr Val Asn Arg Leu Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr

210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly

225 230 235 240

Thr Lys Val Asp Ile Lys

245

<210> 238

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 238

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Glu Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val His
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Ser Ser Ser Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp
165 170 175

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala
180 185 190

Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
210 215 220

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
245

<210> 239

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 239

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Ala Gly Gly Ile Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Ile Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140
Val Met Thr Gln Thr Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg
145 150 155 160

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Gln
225 230 235 240
Thr Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Asn
245 250 255

<210> 240
<211> 241
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 240
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu
210 215 220
Gln Thr Tyr Thr Thr Pro Asp Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile
225 230 235 240
Lys

<210> 241
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 241

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

165 170 175

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

180 185 190

Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu

195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr

210 215 220

Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 242

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 242

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Tyr Ile Gly Arg Ser Gly Ser Ser Met Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ala Ser Pro Val Val Ala Ala Thr Glu Asp Phe Gln His Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val
130 135 140

Met Thr Gln Thr Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala
145 150 155 160

Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Asn Tyr Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Leu Phe Gly

180 185 190

Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu Pro Glu Asp
210 215 220
Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ala Pro Val Thr Phe
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 243
<211> 249
<212> PRT
<213
> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 243
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Ala Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Gly Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Gln Met Thr Gln Ser Pro Pro Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Val Asn Ile Trp Leu Ala
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ala Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp
210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gln Ser Tyr Pro Leu Thr Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
245

<210> 244

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 244

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Tyr Pro Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
225 230 235 240
Val Thr Val Leu

<210> 245
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 245

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Gly Ser Ala Phe Asp Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln
130 135 140

Glu Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys
145 150 155 160

Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys
165 170 175

Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Phe Gly Arg Ser Arg Arg Pro
180 185 190

Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala
195 200 205

Ser Leu Ile Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr
210 215 220

Cys Asn Ser Arg Asp Asn Thr Ala Asn His Tyr Val Phe Gly Thr Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu

245

<210> 246

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 246

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Gly Ser Ala Phe Asp Ile

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Ser Glu Leu Thr Gln

130 135 140

Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys

145 150 155 160

Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Asn Ser Arg Gly Ser Ser Gly Asn His Tyr Val Phe Gly Thr Gly

225 230 235 240

Thr Lys Val Thr Val Leu

245

<210> 247

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 247

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala 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

Val Arg Thr Gly Trp Val Gly Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp

100 105 110

Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile

130 135 140

Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu

210 215 220

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Trp

225 230 235 240

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245 250

<210> 248

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223

> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 248

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala
145 150 155 160

Ile Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Thr Lys Tyr Leu Gly
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp

180 185 190

Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Arg Leu Glu Pro Glu Asp
210 215 220

Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Gly Ser Pro Leu Ile Thr
225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
245 250

<210> 249

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 249

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Arg Glu Ala Ala Ala Gly His Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
130 135 140

Arg Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala
180 185 190

Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Leu Thr Phe
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 250
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 250

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

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

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

145 150 155 160

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

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
225 230 235 240
Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
245

<210> 251
<211> 253
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 251
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Asp Thr Ser Thr Arg His
20 25 30
Tyr Ile His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45
Gly Val Ile Asn Pro Thr Thr Gly Pro Ala Thr Gly Ser Pro Ala Tyr
50 55 60
Ala Gln Met Leu Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr
65 70 75 80

Arg Thr Val Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Phe Glu Asp Thr Ala

85 90 95

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Val Val Gly Arg Ser Ala Pro Tyr Tyr

100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Asp Tyr Ser Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

180 185 190

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

195 200 205

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

210 215 220

Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr

225 230 235 240

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

245 250

<210> 252

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 252

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Tyr Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Leu Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ile Arg Ser Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Tyr Phe Asp Asn Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Val Asn Ile Trp Leu Ala

165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly

195 200 205

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

210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gln Ser Tyr Pro Leu Thr Phe

225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

245

<210> 253

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 253

Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30

Gly Val His Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Ser Trp Ala Asp Asp Lys Arg Tyr Arg Pro Ser
50 55 60

Leu Arg Ser Arg Leu Asp Ile Thr Arg Val Thr Ser Lys Asp Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Ser Met Thr Asn Met Gln Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Leu Gln Gly Phe Asp Gly Tyr Glu Ala Asn Trp Gly Pro Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ala Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Arg Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Asp Ile Lys
245

<210> 254

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 254

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser
130 135 140
Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr
145 150 155 160
Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His
165 170 175

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

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 255
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 255
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

225 230 235 240
Arg Leu Glu Ile Lys
245
<210> 256
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 256

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 257

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 257

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

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

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

145 150 155 160
Ser Gly Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
165 170 175
Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp

180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

195 200 205

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

210 215 220

Ser Ser Pro Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

225 230 235

<210> 258

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 258

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Pro Val Arg Ser Gly

20 25 30

Ser His Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Glu Asn Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Asn Asn His Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Phe

85 90 95

Cys Ala Arg Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln

165 170 175

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr

225 230 235 240

Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 259

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 259

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp
165 170 175

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Met Tyr Ala Ala
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
210 215 220

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp Thr Phe
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
245

<210> 260

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400>

260

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

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

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

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

245 250 255

<210> 261

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 261

Gln Val Asn Leu Arg Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
130 135 140

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp
145 150 155 160

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
165 170 175

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

<210> 262
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 262
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Ala Asn Thr Phe Ser Asp His
20 25 30
Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Phe Glu Trp Met
35 40 45

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

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr
130 135 140
Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160
Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

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

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 263
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 263
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

225 230 235 240
Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245
<210> 264
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 264

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Ser Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240
Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 265

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 265

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Val Ser Ser Asn

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

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

145 150 155 160
Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
165 170 175
Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

180 185 190

Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg

195 200 205

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

210 215 220

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser

225 230 235 240

Thr Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245 250 255

<210> 266

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 266

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr

165 170 175

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

180 185 190

Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly

225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 267

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 267

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr
210 215 220
Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240
Lys Val Asp Ile Lys
245

<210> 268
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221
> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 268

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ser Gly Ile Ser Arg Ser Gly Glu Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Pro Ala His Tyr Tyr Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Arg Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Arg Arg

180 185 190

Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr
210 215 220

Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Ser Pro Ser Trp Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 269
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 269

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

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

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

165 170 175

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

Val Glu Ile Lys

<210> 270
<211> 243
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 270
Glu 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 Val Ser Gly Phe Ala Leu Ser Asn His
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

Ala His Gly Gly Glu Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Phe

180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

195 200 205

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

210 215 220

Cys Met Gln Asn Ile Gln Phe Pro Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 271

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 271

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 272

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 272

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asp
20 25 30

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

Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Leu Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Ala Arg Gly Pro Arg Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser
180 185 190

Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

195 200 205

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

<210> 273
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 273
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

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

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

130 135 140

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

195 200 205

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

<210> 274
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"
<400> 274
Glu Val Gln Leu Leu Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ala Leu Ser Asn His
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Val Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys

50 55 60

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

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
195 200 205
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly
210 215 220
Ser Ser Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
225 230 235
<210> 275
<211> 239
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"
<400> 275

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

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

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
195 200 205
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly
210 215 220
Ser Ser Ser Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
225 230 235
<210> 276
<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 276

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ala Leu Ser Asn His
20 25 30

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

Ser Gly Ile Val Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Ala His Gly Gly Glu Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
130 135 140

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
145 150 155 160

Val Gly Ser Thr Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
165 170 175

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro
180 185 190

Asp Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

195 200 205

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

210 215 220

Gly Ser Ser Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

225 230 235 240

Lys

<210> 277

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 277

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Ser Gly Asp Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser

130 135 140

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

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
195 200 205
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220
Ser Tyr Thr Leu Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
225 230 235
<210> 278
<211> 239
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"
<400> 278
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 Val Ser Gly Phe Ala Leu Ser Asn His
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Val Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys
50 55 60

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

85 90 95

Ala His Gly Gly Glu Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

165 170 175

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

180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr

210 215 220

Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

225 230 235

<210> 279

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 279

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Met Val Arg Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Ser Leu Val His Asn Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe His

165 170 175

Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Glu Val Ser Asn

180 185 190

Arg Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Tyr Cys Met Gln Gly Thr His Trp Pro Gly Thr Phe Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 280

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 280

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 Val Ser Gly Phe Ala Leu Ser Asn His
20 25 30

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

Ser Gly Ile Val Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Ala His Gly Gly Glu Ser Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly
115 120 125

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

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asp
145 150 155 160

Ile Asn Lys Phe Leu Asn Trp Tyr His Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro
165 170 175

Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn
195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu
210 215 220

Ser Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
225 230 235

<210> 281
<211> 240
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 281
Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ala Leu Ser Asn His
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

165 170 175

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

<210> 282
<211> 241
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 282
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 Val Ser Gly Phe Ala Leu Ser Asn His
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
130 135 140

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
145 150 155 160

Ile Gly Ser Ser Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
165 170 175

Pro Arg Leu Leu Met Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Ile Pro
180 185 190

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
195 200 205

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
210 215 220

Ala Gly Ser Pro Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
225 230 235 240

Lys

<210> 283
<211> 243
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 283
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

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

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

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

225 230 235 240
Glu Ile Lys

<210> 284
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 284

Val Asn Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Arg Thr Ser Gly
20 25 30

Met Cys Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp
35 40 45

Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Glu Asp Lys Phe Tyr Ser Thr Ser Leu
50 55 60

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

Leu Arg Met Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Ala Gly Gly Thr Ser Ala Thr Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Pro Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Tyr Asn Asn Leu Ala Trp Phe Gln Leu Lys
165 170 175

Pro Gly Ser Ala Pro Arg Ser Leu Met Tyr Ala Ala Asn Lys Ser Gln
180 185 190

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe
195 200 205

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
210 215 220

Cys Gln His Tyr Tyr Arg Phe Pro Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys

225 230 235 240

Leu Glu Ile Lys

<210> 285

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 285

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Thr Ile Ala Ala Val Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Leu Pro Val Thr Pro Glu Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser

145 150 155 160

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu

165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn

180 185 190

Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 286

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 286

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Ala Pro Gly Tyr Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly

145 150 155 160

Thr Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu

165 170 175

Leu Val Ile Arg Asp Asp Ser Val Arg Pro Ser Lys Ile Pro Gly Arg

180 185 190

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

195 200 205

Val Gln Ala Gly Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser

210 215 220

Asp Ser Glu His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

225 230 235 240

<210> 287

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 287

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Pro Ser Gly Tyr Thr Val Thr Ser His

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Met Ile Asn Pro Ser Gly Gly Val Thr Ala Tyr Ser Gln Thr Leu

```
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

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

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

Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala
    210                 215                 220
Trp Asp Asp Thr Thr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
225                 230                 235                 240
Leu

<210> 288
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      polypeptide"
```

<400> 288

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 Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val 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 Ala Arg Ala Gly Ile Ala Ala Arg Leu Arg Gly Ala Phe Asp Ile

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

165 170 175

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu

180 185 190

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

195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr

210 215 220

Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr

225 230 235 240

Lys Val Asp Ile Lys

245

<210> 289

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 289

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Gly Tyr Gln Leu Leu Arg Trp Asp Val Gly Leu Leu
100 105 110

Arg Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
145 150 155 160

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
165 170 175

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Leu Tyr
180 185 190

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Arg Ser Gly Thr Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
210 215 220

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asp His
225 230 235 240

Leu Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
245 250

<210> 290

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 290

Glu 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 Ser Phe Tyr Ala
50 55 60

Ile Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ile Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Lys Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ser Pro Glu Gly Leu Phe Leu Tyr Trp Phe

100 105 110

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

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

Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
245

<210> 291
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 291
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Tyr Gly Ser Ser Phe Asn Gly Ser Ser Leu Phe Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240
Thr Arg Leu Glu Ile Lys
245

<210> 292
<211> 241
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 292

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

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

Ser Gly Ile Ser Asp Ser Gly Val Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Ala
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
130 135 140

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln
145 150 155 160

Ser Val Ser Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
165 170 175

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
180 185 190

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
195 200 205

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

210 215 220

Gly Thr Ser Ser Gly Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240

Lys

<210> 293

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 293

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Thr Tyr Lys Arg Glu Leu Arg Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110

Val 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 Glu Ile Val Met Thr
130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser

180 185 190

Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Ser Ala

210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Ser Pro Ser Trp Thr Phe Gly

225 230 235 240

Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

245

<210> 294

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 294

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ala Thr Tyr Lys Arg Glu Leu Arg Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Thr Phe Leu Ala Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ser Ser

180 185 190

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

195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala

210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Ser Pro Ser Trp Thr Phe Gly

225 230 235 240

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 295

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 295

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Val Gly Lys Ala Val Pro Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Leu Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

165 170 175

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

180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr

210 215 220

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

225 230 235

<210> 296

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 296

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

Ala Ser Ile Asn Trp Lys Gly Asn Ser Leu Ala Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Phe
65 70 75 80

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

Ala Ser His Gln Gly Val Ala Tyr Tyr Asn Tyr Ala Met Asp Val Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
145 150 155 160

Arg Ala Thr Gln Ser Ile Gly Ser Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gln Arg
180 185 190

Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr
210 215 220

Tyr Cys Gln His Tyr Glu Ser Ser Pro Ser Trp Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240
Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 297
<211> 241
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 297
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
130 135 140
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
145 150 155 160

Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
165 170 175

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

Lys

<210> 298
<211> 242
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 298
Glu 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 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

Ala Lys Ile Pro Gln Thr Gly Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln

165 170 175

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

180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Ile Lys

<210> 299

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 299

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Ala Arg Ala Asn Tyr Lys Arg Glu Leu Arg Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
100 105 110
Val 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 Glu Ile Val Met Thr
130 135 140
Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Ser Ala Thr Leu
145 150 155 160

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

Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asp Ser Ser Pro Ser Trp Thr Phe Gly
225 230 235 240
Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 300

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 300

Glu Val Gln Leu Leu Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Lys Ala Leu Val Gly Ala Thr Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly
130 135 140

Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
145 150 155 160

Ser Gln Ser Leu Ser Ser Asn Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Gln Ala Pro Gly Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Trp Ala Thr
180 185 190

Gly Thr Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Thr Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys

210 215 220

Gln Tyr Tyr Gly Thr Ser Pro Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys

<210> 301

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 301

Glu 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 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Leu Trp Phe Gly Glu Gly Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro

130 135 140

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

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

<210> 302
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 302
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly

180 185 190

Thr Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly

195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp

210 215 220

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

225 230 235 240

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245 250

<210> 303

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223

> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 303

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

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

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

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

245

<210> 304

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 304

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Ala Thr Tyr Arg Gly His Ser Asp Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Ala Ile Tyr Asn Gly Tyr Asp Val Leu Asp Asn Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp
165 170 175

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

Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
245

<210> 305
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 305
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
130 135 140

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asn Tyr
145 150 155 160

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
165 170 175

Gly Ala Thr Tyr Arg Gly His Ser Asp Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
180 185 190

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
195 200 205

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Gly Ala Ile Tyr Asn Gly Tyr Asp Val Leu Asp Asn Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 306

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 306

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 307
<211> 251
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 307

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

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

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

Tyr Asp Thr Ser Asn Leu Glu Ile Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
195 200 205
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
210 215 220
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Asn Leu Pro Leu

225 230 235 240

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245 250

<210> 308

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 308

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Glu Asp Thr Ile Arg Gly Pro Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Ser Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Thr Trp Leu Ala

165 170 175

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

Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
245

<210> 309
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 309
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Ser Asp Tyr Asp Tyr Tyr Phe Asp Phe Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser
145 150 155 160

Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu
165 170 175

Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
180 185 190

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
210 215 220

Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Phe Thr
225 230 235 240

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245 250

<210> 310

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 310

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Asp Leu Ala Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

Thr Asn Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
210 215 220
Asp Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
225 230 235 240
<210> 311
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 311

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Phe
20 25 30

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

Ala Thr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Ala Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asp Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Lys Ala Gly Asp Gly Gly Tyr Asp Val Phe Asp Ser Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys
145 150 155 160

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
165 170 175

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu
180 185 190

Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
210 215 220

Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Thr Phe Gly

225 230 235 240

Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

245

<210> 312

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 312

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Glu Thr Asp Tyr Tyr Gly Ser Gly Thr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gly Ile Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

165 170 175

Arg Ser Gly Lys Pro Pro Gln Leu Leu Ile His Gly Ala Ser Thr Leu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Trp Cys Gln Gln Ser Asn Asn Phe Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr

225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 313

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 313

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

1 5 10 15

Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Met Phe Thr Asp Phe

20 25 30

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Val Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr Trp Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Gly Ile Ala Asn Ile Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Ser Asn Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Cys Gln Gln Ser Asp Asp Leu Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr

225 230 235 240

Lys Val Asp Ile Lys

245

<210> 314

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

polypeptide"

<400> 314

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Gly Pro Ser Ser Trp Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Arg Leu Thr Gln Ser

130 135 140

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys

165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln

180 185 190

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

195 200 205

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

210 215 220

Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Val Asp Ile Lys

<210> 315

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 315

Asn Ile Met Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser
20 25 30

Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
130 135 140

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
145 150 155 160

Tyr Ile His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
180 185 190

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
195 200 205

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr
225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 316
<211> 246
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 316
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Phe Ser
20 25 30
Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95
Tyr Leu Ser Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
130 135 140
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
145 150 155 160

Tyr Ile His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

165 170 175

Gly Val Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Arg Glu Val Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 317

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 317

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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

Gln Gln Arg Ser Asn Tyr Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240
Leu Glu Ile Lys

<210> 318
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 318
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Phe Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser

130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys

145 150 155 160

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Leu His Trp Phe Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

Gly Val Pro Ala Arg Phe Gly Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Arg Ser Ile Tyr Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys

225 230 235 240

Leu Glu Ile Lys

<210> 319

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 319

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Ser Ile Met Ser Val Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys
145 150 155 160

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Leu Gly Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser

195 200 205

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

<210> 320
<211> 180
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 320
Gln Ala Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

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

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

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

130 135 140

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

<210> 321
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 321
Gln Thr Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Arg Ser Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

115 120 125

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

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser
195 200 205
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
210 215 220
Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Pro Pro Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 322
<211> 250
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 322
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 323

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 323

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asn Lys Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ala Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ser Arg Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala
115 120 125

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
130 135 140

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Asn Phe Ser Asn Lys
145 150 155 160

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Leu Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
165 170 175

Ala Ile Ile Tyr Pro Gly Tyr Ser Asp Ile Thr Tyr Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
195 200 205

Leu His Trp His Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
210 215 220

Val Arg His Thr Ala Leu Ala Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Leu Gly Thr

225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 324

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 324

Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Arg Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His

85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Arg Glu Arg Gly Tyr Gly Tyr His Asp Pro His Asp Tyr Trp Gly

225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 325

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 325

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly

20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser

85 90 95

Leu Asn Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Val Ser Gly Thr Tyr Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

165 170 175

Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Thr Tyr His

180 185 190

Pro Ala Ser Leu Gln Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Ser Ser Lys

195 200 205

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

210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Gly Gly Ala Gly Gly Gly His Phe Asp Ser

225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

245 250

<210> 326

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223

> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 326

Glu 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 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gln Ile Asp Pro Trp Gly Gln Glu Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Thr Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

165 170 175

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

180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Pro

210 215 220

Gly Thr Pro Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

225 230 235 240

Ala

<210> 327

<211> 9810

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 327

gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc 60

gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt ggcgcggtat 120

tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg catacactat tctcagaatg 180

acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag 240

aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta cttctgacaa 300

cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcacaa catgggggat catgtaactc 360

gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca 420

cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc 480

tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc 540

tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg 600

ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta 660

tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag 720

gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga 780

ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc 840

tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa 900

agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacaa 960

aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actcttttc 1020

cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt 1080

agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgct ctgctaatcc 1140

tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac 1200

gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca 1260

gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg 1320

ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag 1380

gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt 1440

ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcaggggggg cggagcctat 1500

ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttttac ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc 1560

acatgttctt tcctgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt 1620

gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag 1680

cggaagagcg cccaatacgc aaaccgcctc tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca 1740

gctggcacga caggtttccc gactggaaag cgggcagtga gcgcaacgca attaatgtga 1800

gttagctcac tcattaggca ccccaggctt tacactttat gcttccggct cgtatgttgt 1860

gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgaccat gattacgcca 1920

agcgcgcaat taaccctcac taaagggaac aaaagctgga gctgcaagct taatgtagtc 1980

ttatgcaata ctcttgtagt cttgcaacat ggtaacgatg agttagcaac atgccttaca 2040

aggagagaaa aagcaccgtg catgccgatt ggtggaagta aggtggtacg atcgtgcctt 2100

attaggaagg caacagacgg gtctgacatg gattggacga accactgaat tgccgcattg 2160

cagagatatt gtatttaagt gcctagctcg atacaataaa cgggtctctc tggttagacc 2220

agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa 2280

gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga 2340

gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtggcgcc cgaacaggga 2400

cctgaaagcg aaagggaaac cagagctctc tcgacgcagg actcggcttg ctgaagcgcg 2460

cacggcaaga ggcgaggggc ggcgactggt gagtacgcca aaaattttga ctagcggagg 2520

ctagaaggag agagatgggt gcgagagcgt cagtattaag cgggggagaa ttagatcgcg 2580

atgggaaaaa attcggttaa ggccaggggg aaagaaaaaa tataaattaa aacatatagt 2640

atgggcaagc agggagctag aacgattcgc agttaatcct ggcctgttag aaacatcaga 2700

aggctgtaga caaatactgg gacagctaca accatccctt cagacaggat cagaagaact 2760

tagatcatta tataatacag tagcaaccct ctattgtgtg catcaaagga tagagataaa 2820

agacaccaag gaagctttag acaagataga ggaagagcaa aacaaaagta agaccaccgc 2880

acagcaagcg gccgctgatc ttcagacctg gaggaggaga tatgagggac aattggagaa 2940

gtgaattata taaatataaa gtagtaaaaa ttgaaccatt aggagtagca cccaccaagg 3000

caaagagaag agtggtgcag agagaaaaaa gagcagtggg aataggagct ttgttccttg 3060

ggttcttggg agcagcagga agcactatgg gcgcagcctc aatgacgctg acggtacagg 3120

ccagacaatt attgtctggt atagtgcagc agcagaacaa tttgctgagg gctattgagg 3180

cgcaacagca tctgttgcaa ctcacagtct ggggcatcaa gcagctccag gcaagaatcc 3240

tggctgtgga aagataccta aaggatcaac agctcctggg gatttggggt tgctctggaa 3300

aactcatttg caccactgct gtgccttgga atgctagttg gagtaataaa tctctggaac 3360

agattggaat cacacgacct ggatggagtg ggacagagaa attaacaatt acacaagctt 3420

aatacactcc ttaattgaag aatcgcaaaa ccagcaagaa aagaatgaac aagaattatt 3480

ggaattagat aaatgggcaa gtttgtggaa ttggtttaac ataacaaatt ggctgtggta 3540

tataaaatta ttcataatga tagtaggagg cttggtaggt ttaagaatag tttttgctgt 3600

actttctata gtgaatagag ttaggcaggg atattcacca ttatcgtttc agacccacct 3660

cccaaccccg aggggacccg acaggcccga aggaatagaa gaagaaggtg gagagagaga 3720

cagagacaga tccattcgat tagtgaacgg atctcgacgg tatcgattag actgtagccc 3780

aggaatatgg cagctagatt gtacacattt agaaggaaaa gttatcttgg tagcagttca 3840

tgtagccagt ggatatatag aagcagaagt aattccagca gagacagggc aagaaacagc 3900

atacttcctc ttaaaattag caggaagatg gccagtaaaa acagtacata cagacaatgg 3960

cagcaatttc accagtacta cagttaaggc cgcctgttgg tgggcgggga tcaagcagga 4020

atttggcatt ccctacaatc cccaaagtca aggagtaata gaatctatga ataaagaatt 4080

aaagaaaatt ataggacagg taagagatca ggctgaacat cttaagacag cagtacaaat 4140

ggcagtattc atccacaatt ttaaaagaaa agggggggatt gggggtaca gtgcagggga 4200

aagaatagta gacataatag caacagacat acaaactaaa gaattacaaa aacaaattac 4260

aaaaattcaa aattttcggg tttattacag ggacagcaga gatccagttt ggctgcatac 4320

gcgtcgtgag gctccggtgc ccgtcagtgg gcagagcgca catcgcccac agtccccgag 4380

aagttggggg gaggggtcgg caattgaacc ggtgcctaga gaaggtggcg cggggtaaac 4440

tgggaaagtg atgtcgtgta ctggctccgc ctttttcccg agggtggggg agaaccgtat 4500

ataagtgcag tagtcgccgt gaacgttctt tttcgcaacg ggtttgccgc cagaacacag 4560

gtaagtgccg tgtgtggttc ccgcgggcct ggcctcttta cgggttatgg cccttgcgtg 4620

ccttgaatta cttccacctg gctgcagtac gtgattcttg atcccgagct tcgggttgga 4680

agtgggtggg agagttcgag gccttgcgct taaggagccc cttcgcctcg tgcttgagtt 4740

gaggcctggc ctgggcgctg gggccgccgc gtgcgaatct ggtggcacct tcgcgcctgt 4800

ctcgctgctt tcgataagtc tctagccatt taaaattttt gatgacctgc tgcgacgctt 4860

tttttctggc aagatagtct tgtaaatgcg ggccaagatc tgcacactgg tatttcggtt 4920

tttggggccg cgggcggcga cggggcccgt gcgtcccagc gcacatgttc ggcgaggcgg 4980

ggcctgcgag cgcggccacc gagaatcgga cgggggtagt ctcaagctgg ccggcctgct 5040

ctggtgcctg gcctcgcgcc gccgtgtatc gccccgccct gggcggcaag gctggcccgg 5100

tcggcaccag ttgcgtgagc ggaaagatgg ccgcttcccg gccctgctgc agggagctca 5160

aaatggagga cgcggcgctc gggagagcgg gcgggtgagt cacccacaca aaggaaaagg 5220

gcctttccgt cctcagccgt cgcttcatgt gactccacgg agtaccgggc gccgtccagg 5280

cacctcgatt agttctcgtg cttttggagt acgtcgtctt taggttgggg ggaggggttt 5340

tatgcgatgg agtttcccca cactgagtgg gtggagactg aagttaggcc agcttggcac 5400
ttgatgtaat tctccttgga atttgccctt tttgagtttg gatcttggtt cattctcaag 5460
cctcagacag tggttcaaag ttttttttctt ccatttcagg tgtcgtgagc tagaatgggg 5520
ggacttgaac cctgcagcag gctcctgctc ctgcctctcc tgctggctgt aagtggtctc 5580
cgtcctgtcc aggcccaggc ccagagcgat tgcagttgct ctacggtgag cccgggcgtg 5640
ctggcaggga tcgtgatggg agacctggtg ctgacagtgc tcattgccct ggccgtgtac 5700
ttcctgggcc ggctggtccc tcgggggcga ggggctgcgg aggcagcgac ccggaaacag 5760

cgtatcactg agaccgagtc gccttatcag gagctccagg gtcagaggtc ggatgtctac 5820
agcgacctca acacacagag gccgtattac aaagtcgagg gcggcggaga gggcagagga 5880
agtcttctaa catgcggtga cgtggaggag aatcccggcc ctaggatggc cttaccagtg 5940
accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg ctccacgccg ccaggccggg atcccaggta 6000
caactgcagc agtctgggcc tgagctggag aagcctggcg cttcagtgaa gatatcctgc 6060
aaggcttctg gttactcatt cactggctac accatgaact gggtgaagca gagccatgga 6120
aagagccttg agtggattgg acttattact ccttacaatg gtgcttctag ctacaaccag 6180

aagttcaggg gcaaggccac attaactgta gacaagtcat ccagcacagc ctacatggac 6240
ctcctcagtc tgacatctga agactctgca gtctatttct gtgcaagggg gggttacgac 6300
gggaggggtt ttgactactg gggccaaggg accacggtca ccgtctcctc aggtggaggc 6360
ggttcaggcg gcggtggctc tagcggtggt ggatcggaca tcgagctcac tcagtctcca 6420
gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt 6480
gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag tcaggcacct cccccaaaag atggatttat 6540
gacacatcca aactggcttc tggagtccca ggtcgcttca gtggcagtgg gtctggaaac 6600

tcttactctc tcacaatcag cagcgtggag gctgaagatg atgcaactta ttactgccag 6660
cagtggagta agcaccctct cacgtacggt gctgggacaa agttggaaat caaagctagc 6720
acgcgtggtg gcggaggttc tggaggtggg ggttcccagg gggcctggcc acatgaggga 6780
gtccacagaa aaccttccct cctggcccac ccaggtcccc tggtgaaatc agaagagaca 6840
gtcatcctgc aatgttggtc agatgtcagg tttgagcact tccttctgca cagagagggg 6900
aagtataagg acactttgca cctcattgga gagcaccatg atggggtctc caaggccaac 6960
ttctccatcg gtcccatgat gcaagacctt gcagggacct acagatgcta cggttctgtt 7020

actcactccc cctatcagtt gtcagctccc agtgaccctc tggacatcgt catcacaggt 7080

ctatatgaga aaccttctct ctcagcccag ccgggcccca cggttttggc aggagagagc 7140

gtgaccttgt cctgcagctc ccggagctcc tatgacatgt accatctatc cagggagggg 7200

gaggcccatg aacgtaggtt ctctgcaggg cccaaggtca acggaacatt ccaggccgac 7260

tttcctctgg gccctgccac ccacggagga acctacagat gcttcggctc tttccgtgac 7320

tctccctatg agtggtcaaa ctcgagtgac ccactgcttg tttctgtcac aggaaaccct 7380

tcaaatagtt ggccttcacc cactgaacca agctccaaaa ccggtaaccc cagacacctg 7440

catgttctga ttgggacctc agtggtcaaa atccctttca ccatcctcct cttctttctc 7500

cttcatcgct ggtgctccaa caaaaaaaat gctgctgtaa tggaccaaga gcctgcaggg 7560

aacagaacag tgaacagcga ggattctgat gaacaagacc atcaggaggt gtcatacgca 7620

taagtcgaca atcaacctct ggattacaaa atttgtgaaa gattgactgg tattcttaac 7680

tatgttgctc cttttacgct atgtggatac gctgctttaa tgcctttgta tcatgctatt 7740

gcttcccgta tggctttcat tttctcctcc ttgtataaat cctggttgct gtctctttat 7800

gaggagttgt ggcccgttgt caggcaacgt ggcgtggtgt gcactgtgtt tgctgacgca 7860

acccccactg gttggggcat tgccaccacc tgtcagctcc tttccgggac tttcgctttc 7920

cccctcccta ttgccacggc ggaactcatc gccgcctgcc ttgcccgctg ctggacaggg 7980

gctcggctgt tgggcactga caattccgtg gtgttgtcgg ggaagctgac gtcctttcca 8040

tggctgctcg cctgtgttgc cacctggatt ctgcgcggga cgtccttctg ctacgtccct 8100

tcggccctca atccagcgga ccttccttcc cgcggcctgc tgccggctct gcggcctctt 8160

ccgcgtcttc gccttcgccc tcagacgagt cggatctccc tttgggccgc ctccccgcct 8220

ggaattcgag ctcggtacct ttaagaccaa tgacttacaa ggcagctgta gatcttagcc 8280

acttttaaa agaaaagggg ggactggaag ggctaattca ctcccaacga agacaagatc 8340

tgctttttgc ttgtactggg tctctctggt tagaccagat ctgagcctgg gagctctctg 8400

gctaactagg gaacccactg cttaagcctc aataaagctt gccttgagtg cttcaagtag 8460

tgtgtgcccg tctgttgtgt gactctggta actagagatc cctcagaccc ttttagtcag 8520

tgtggaaaat ctctagcagt agtagttcat gtcatcttat tattcagtat ttataacttg 8580

caaagaaatg aatatcagag agtgagagga acttgtttat tgcagcttat aatggttaca 8640

aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt tttttcactg cattctagtt 8700

gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt atcatgtctg gctctagcta tcccgcccct 8760

aactccgccc agttccgccc attctccgcc ccatggctga ctaatttttt ttatttatgc 8820

agaggccgag gccgcctcgg cctctgagct attccagaag tagtgaggag gctttttgg 8880

aggcctacgc ttttgcgtcg agacgtaccc aattcgccct atagtgagtc gtattacgcg 8940

cgctcactgg ccgtcgtttt acaacgtcgt gactgggaaa accctggcgt tacccaactt 9000

aatcgccttg cagcacatcc ccctttcgcc agctggcgta atagcgaaga ggcccgcacc 9060

gatcgccctt cccaacagtt gcgcagcctg aatggcgaat ggcgcgacgc gccctgtagc 9120

ggcgcattaa gcgcggcggg tgtggtggtt acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc 9180

gccctagcgc ccgctccttt cgctttcttc ccttcctttc tcgccacgtt cgccggcttt 9240

ccccgtcaag ctctaaatcg ggggctccct ttagggttcc gatttagtgc tttacggcac 9300

ctcgacccca aaaaacttga ttagggtgat ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag 9360

acggtttttc gccctttgac gttggagtcc acgttcttta atagtggact cttgttccaa 9420

actggaacaa cactcaaccc tatctcggtc tattcttttg atttataagg gattttgccg 9480

atttcggcct attggttaaa aaatgagctg atttaacaaa aatttaacgc gaattttaac 9540

aaaatattaa cgtttacaat ttcccaggtg gcacttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc 9600

ctatttgttt atttttctaa atacattcaa atatgtatcc gctcatgaga caataaccct 9660

gataaatgct tcaataatat tgaaaaagga agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg 9720

cccttattcc ctttttttgcg gcattttgcc ttcctgtttt tgctcaccca gaaacgctgg 9780

tgaaagtaaa agatgctgaa gatcagttgg 9810

<210> 328

<211> 9165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 328

gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc 60

gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt ggcgcggtat 120

tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg catacactat tctcagaatg 180

acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag 240

aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta cttctgacaa 300

cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcacaa catgggggat catgtaactc 360

gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca 420

cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc 480

tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc 540

tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg 600

ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta 660

tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag 720

gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga 780

ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc 840

tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa 900

agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacaa 960

aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actcttttc 1020

cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt 1080

agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgct ctgctaatcc 1140

tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac 1200

gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca 1260

gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg 1320

ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag 1380

gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt 1440

ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcaggggggg cggagcctat 1500

ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttttac ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc 1560

acatgttctt tcctgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt 1620

gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag 1680

cggaagagcg cccaatacgc aaaccgcctc tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca 1740

gctggcacga caggtttccc gactggaaag cgggcagtga gcgcaacgca attaatgtga 1800

gttagctcac tcattaggca ccccaggctt tacactttat gcttccggct cgtatgttgt 1860

gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgaccat gattacgcca 1920

agcgcgcaat taaccctcac taaagggaac aaaagctgga gctgcaagct taatgtagtc 1980

ttatgcaata ctcttgtagt cttgcaacat ggtaacgatg agttagcaac atgccttaca 2040

aggagagaaa aagcaccgtg catgccgatt ggtggaagta aggtggtacg atcgtgcctt 2100

attaggaagg caacagacgg gtctgacatg gattggacga accactgaat tgccgcattg 2160

cagagatatt gtatttaagt gcctagctcg atacaataaa cgggtctctc tggttagacc 2220

agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa 2280

gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga 2340

gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtggcgcc cgaacaggga 2400

cctgaaagcg aaagggaaac cagagctctc tcgacgcagg actcggcttg ctgaagcgcg 2460

cacggcaaga ggcgaggggc ggcgactggt gagtacgcca aaaattttga ctagcggagg 2520

ctagaaggag agagatgggt gcgagagcgt cagtattaag cgggggagaa ttagatcgcg 2580

atgggaaaaa attcggttaa ggccaggggg aaagaaaaaa tataaattaa aacatatagt 2640

atgggcaagc agggagctag aacgattcgc agttaatcct ggcctgttag aaacatcaga 2700

aggctgtaga caaatactgg gacagctaca accatccctt cagacaggat cagaagaact 2760

tagatcatta tataatacag tagcaaccct ctattgtgtg catcaaagga tagagataaa 2820

agacaccaag gaagctttag acaagataga ggaagagcaa aacaaaagta agaccaccgc 2880

acagcaagcg gccgctgatc ttcagacctg gaggaggaga tatgagggac aattggagaa 2940

gtgaattata taaatataaa gtagtaaaaa ttgaaccatt aggagtagca cccaccaagg 3000

caaagagaag agtggtgcag agagaaaaaa gagcagtggg aataggagct ttgttccttg 3060

ggttcttggg agcagcagga agcactatgg gcgcagcctc aatgacgctg acggtacagg 3120

ccagacaatt attgtctggt atagtgcagc agcagaacaa tttgctgagg gctattgagg 3180

cgcaacagca tctgttgcaa ctcacagtct ggggcatcaa gcagctccag gcaagaatcc 3240

tggctgtgga aagataccta aaggatcaac agctcctggg gatttggggt tgctctggaa 3300

aactcatttg caccactgct gtgccttgga atgctagttg gagtaataaa tctctggaac 3360

agattggaat cacacgacct ggatggagtg ggacagagaa attaacaatt acacaagctt 3420

aatacactcc ttaattgaag aatcgcaaaa ccagcaagaa aagaatgaac aagaattatt 3480

ggaattagat aaatgggcaa gtttgtggaa ttggtttaac ataacaaatt ggctgtggta 3540

tataaaatta ttcataatga tagtaggagg cttggtaggt ttaagaatag tttttgctgt 3600

actttctata gtgaatagag ttaggcaggg atattcacca ttatcgtttc agacccacct 3660

cccaaccccg aggggacccg acaggcccga aggaatagaa gaagaaggtg gagagagaga 3720

cagagacaga tccattcgat tagtgaacgg atctcgacgg tatcgattag actgtagccc 3780

aggaatatgg cagctagatt gtacacattt agaaggaaaa gttatcttgg tagcagttca 3840

tgtagccagt ggatatatag aagcagaagt aattccagca gagacagggc aagaaacagc 3900

atacttcctc ttaaaattag caggaagatg gccagtaaaa acagtacata cagacaatgg 3960

cagcaatttc accagtacta cagttaaggc cgcctgttgg tgggcgggga tcaagcagga 4020

atttggcatt ccctacaatc cccaaagtca aggagtaata gaatctatga ataaagaatt 4080

aaagaaaatt ataggacagg taagagatca ggctgaacat cttaagacag cagtacaaat 4140

ggcagtattc atccacaatt ttaaaagaaa agggggggatt ggggggtaca gtgcagggga 4200

aagaatagta gacataatag caacagacat acaaactaaa gaattacaaa aacaaattac 4260
aaaaattcaa aattttcggg tttattacag ggacagcaga gatccagttt ggctgcatac 4320
gcgtcgtgag gctccggtgc ccgtcagtgg gcagagcgca catcgcccac agtccccgag 4380
aagttggggg gaggggtcgg caattgaacc ggtgcctaga gaaggtggcg cggggtaaac 4440
tgggaaagtg atgtcgtgta ctggctccgc ctttttcccg agggtggggg agaaccgtat 4500
ataagtgcag tagtcgccgt gaacgttctt tttcgcaacg ggtttgccgc cagaacacag 4560
gtaagtgccg tgtgtggttc ccgcgggcct ggcctcttta cgggttatgg cccttgcgtg 4620

ccttgaatta cttccacctg gctgcagtac gtgattcttg atcccgagct tcgggttgga 4680
agtgggtggg agagttcgag gccttgcgct taaggagccc cttcgcctcg tgcttgagtt 4740
gaggcctggc ctgggcgctg gggccgccgc gtgcgaatct ggtggcacct tcgcgcctgt 4800
ctcgctgctt tcgataagtc tctagccatt taaaattttt gatgacctgc tgcgacgctt 4860
ttttctggc aagatagtct tgtaaatgcg ggccaagatc tgcacactgg tatttcggtt 4920
tttggggccg cgggcggcga cggggcccgt gcgtcccagc gcacatgttc ggcgaggcgg 4980
ggcctgcgag cgcggccacc gagaatcgga cgggggtagt ctcaagctgg ccggcctgct 5040

ctggtgcctg gcctcgcgcc gccgtgtatc gccccgccct gggcggcaag gctggcccgg 5100
tcggcaccag ttgcgtgagc ggaaagatgg ccgcttcccg gccctgctgc agggagctca 5160
aaatggagga cgcggcgctc gggagagcgg gcgggtgagt cacccacaca aaggaaaagg 5220
gcctttccgt cctcagccgt cgcttcatgt gactccacgg agtaccgggc gccgtccagg 5280
cacctcgatt agttctcgtg cttttggagt acgtcgtctt taggttgggg ggaggggttt 5340
tatgcgatgg agtttcccca cactgagtgg gtggagactg aagttaggcc agcttggcac 5400
ttgatgtaat tctccttgga atttgccctt tttgagtttg gatcttggtt cattctcaag 5460

cctcagacag tggttcaaag tttttttctt ccatttcagg tgtcgtgagc tagaatgggg 5520
ggacttgaac cctgcagcag gctcctgctc ctgcctctcc tgctggctgt aagtggtctc 5580
cgtcctgtcc aggcccaggc ccagagcgat tgcagttgct ctacggtgag cccgggcgtg 5640
ctggcaggga tcgtgatggg agacctggtg ctgacagtgc tcattgccct ggccgtgtac 5700
ttcctgggcc ggctggtccc tcgggggcga ggggctgcgg aggcagcgac ccggaaacag 5760
cgtatcactg agaccgagtc gccttatcag gagctccagg gtcagaggtc ggatgtctac 5820
agcgacctca acacacagag gccgtattac aaagtcgagg gcggcggaga gggcagagga 5880

agtcttctaa catgcggtga cgtggaggag aatcccggcc ctaggatggc cttaccagtg 5940

accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg ctccacgccg ccaggccggg atcccaggta 6000

caactgcagc agtctgggcc tgagctggag aagcctggcg cttcagtgaa gatatcctgc 6060

aaggcttctg gttactcatt cactggctac accatgaact gggtgaagca gagccatgga 6120

aagagccttg agtggattgg acttattact ccttacaatg gtgcttctag ctacaaccag 6180

aagttcaggg gcaaggccac attaactgta gacaagtcat ccagcacagc ctacatggac 6240

ctcctcagtc tgacatctga agactctgca gtctatttct gtgcaagggg gggttacgac 6300

gggaggggtt ttgactactg gggccaaggg accacggtca ccgtctcctc aggtggaggc 6360

ggttcaggcg gcggtggctc tagcggtggt ggatcggaca tcgagctcac tcagtctcca 6420

gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt 6480

gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag tcaggcacct cccccaaaag atggatttat 6540

gacacatcca aactggcttc tggagtccca ggtcgcttca gtggcagtgg gtctggaaac 6600

tcttactctc tcacaatcag cagcgtggag gctgaagatg atgcaactta ttactgccag 6660

cagtggagta agcaccctct cacgtacggt gctgggacaa agttggaaat caaagctagc 6720

ggtggcggag gttctggagg tgggggttcc tcacccactg aaccaagctc caaaaccggt 6780

aaccccagac acctgcatgt tctgattggg acctcagtgg tcaaaatccc tttcaccatc 6840

ctcctcttct ttctccttca tcgctggtgc tccaacaaaa aaaatgctgc tgtaatggac 6900

caagagcctg cagggaacag aacagtgaac agcgaggatt ctgatgaaca agaccatcag 6960

gaggtgtcat acgcataagt cgacaatcaa cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg 7020

actggtattc ttaactatgt tgctccttttt acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct 7080

ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta taaatcctgg 7140

ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact 7200

gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc 7260

gggactttcg ctttcccccct ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc 7320

cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaag 7380

ctgacgtcct ttccatggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc 7440

ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg 7500

gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg 7560

gccgcctccc cgcctggaat tcgagctcgg taccttttaag accaatgact tacaaggcag 7620

ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa aggggggact ggaagggcta attcactccc 7680

aacgaagaca agatctgctt tttgcttgta ctgggtctct ctggttagac cagatctgag 7740

cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt 7800

gagtgcttca agtagtgtgt gcccgtctgt tgtgtgactc tggtaactag agatccctca 7860

gacccttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtagtag ttcatgtcat cttattattc 7920

agtatttata acttgcaaag aaatgaatat cagagagtga gaggaacttg tttattgcag 7980

cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt 8040

cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct 8100

agctatcccg cccctaactc cgcccagttc cgcccattct ccgccccatg gctgactaat 8160

ttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc ctcggcctct gagctattcc agaagtagtg 8220

aggaggcttt tttggaggcc tacgcttttg cgtcgagacg tacccaattc gccctatagt 8280

gagtcgtatt acgcgcgctc actggccgtc gttttacaac gtcgtgactg ggaaaaccct 8340

ggcgttaccc aacttaatcg ccttgcagca catccccctt tcgccagctg gcgtaatagc 8400

gaagaggccc gcaccgatcg cccttcccaa cagttgcgca gcctgaatgg cgaatggcgc 8460

gacgcgccct gtagcggcgc attaagcgcg gcgggtgtgg tggttacgcg cagcgtgacc 8520

gctacacttg ccagcgccct agcgcccgct cctttcgctt tcttcccttc ctttctcgcc 8580

acgttcgccg gctttccccg tcaagctcta aatcgggggc tccctttagg gttccgattt 8640

agtgctttac ggcacctcga ccccaaaaaa cttgattagg gtgatggttc acgtagtggg 8700

ccatcgccct gatagacggt ttttcgccct ttgacgttgg agtccacgtt ctttaatagt 8760

ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aaccctatct cggtctattc ttttgattta 8820

taagggattt tgccgatttc ggcctattgg ttaaaaaatg agctgattta acaaaaattt 8880

aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaatttccc aggtggcact tttcggggaa 8940

atgtgcgcgg aacccctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca 9000

tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 9060

aacatttccg tgtcgcccttattcccttttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc 9120

acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgg 9165

<210> 329

<211> 9915

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 329

gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc 60

gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt ggcgcggtat 120

tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg catacactat tctcagaatg 180

acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag 240

aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta cttctgacaa 300

cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcacaa catgggggat catgtaactc 360

gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca 420

cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc 480

tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc 540

tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg 600

ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta 660

tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag 720

gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga 780

ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc 840

tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa 900

agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacaa 960

aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actcttttc 1020

cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt 1080

agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgct ctgctaatcc 1140

tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac 1200

gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca 1260

gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg 1320

ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag 1380

gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt 1440

ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcaggggggg cggagcctat 1500

ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttttac ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc 1560

acatgttctt tcctgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt 1620

gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag 1680

cggaagagcg cccaatacgc aaaccgcctc tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca 1740

gctggcacga caggtttccc gactggaaag cgggcagtga gcgcaacgca attaatgtga 1800

gttagctcac tcattaggca ccccaggctt tacactttat gcttccggct cgtatgttgt 1860

gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgaccat gattacgcca 1920

agcgcgcaat taaccctcac taaagggaac aaaagctgga gctgcaagct taatgtagtc 1980

ttatgcaata ctcttgtagt cttgcaacat ggtaacgatg agttagcaac atgccttaca 2040

aggagagaaa aagcaccgtg catgccgatt ggtggaagta aggtggtacg atcgtgcctt 2100

attaggaagg caacagacgg gtctgacatg gattggacga accactgaat tgccgcattg 2160

cagagatatt gtatttaagt gcctagctcg atacaataaa cgggtctctc tggttagacc 2220

agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa 2280

gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga 2340

gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtggcgcc cgaacaggga 2400

cctgaaagcg aaagggaaac cagagctctc tcgacgcagg actcggcttg ctgaagcgcg 2460

cacggcaaga ggcgaggggc ggcgactggt gagtacgcca aaaattttga ctagcggagg 2520

ctagaaggag agagatgggt gcgagagcgt cagtattaag cgggggagaa ttagatcgcg 2580

atgggaaaaa attcggttaa ggccaggggg aaagaaaaaa tataaattaa aacatatagt 2640

atgggcaagc agggagctag aacgattcgc agttaatcct ggcctgttag aaacatcaga 2700

aggctgtaga caaatactgg gacagctaca accatccctt cagacaggat cagaagaact 2760

tagatcatta tataatacag tagcaaccct ctattgtgtg catcaaagga tagagataaa 2820

agacaccaag gaagctttag acaagataga ggaagagcaa aacaaaagta agaccaccgc 2880

acagcaagcg gccgctgatc ttcagacctg gaggaggaga tatgagggac aattggagaa 2940

gtgaattata taaatataaa gtagtaaaaa ttgaaccatt aggagtagca cccaccaagg 3000

caaagagaag agtggtgcag agagaaaaaa gagcagtggg aataggagct ttgttccttg 3060

ggttcttggg agcagcagga agcactatgg gcgcagcctc aatgacgctg acggtacagg 3120

ccagacaatt attgtctggt atagtgcagc agcagaacaa tttgctgagg gctattgagg 3180

cgcaacagca tctgttgcaa ctcacagtct ggggcatcaa gcagctccag gcaagaatcc 3240

tggctgtgga aagataccta aaggatcaac agctcctggg gatttggggt tgctctggaa 3300

aactcatttg caccactgct gtgccttgga atgctagttg gagtaataaa tctctggaac 3360

agattggaat cacacgacct ggatggagtg ggacagagaa attaacaatt acacaagctt 3420

aatacactcc ttaattgaag aatcgcaaaa ccagcaagaa aagaatgaac aagaattatt 3480

ggaattagat aaatgggcaa gtttgtggaa ttggtttaac ataacaaatt ggctgtggta 3540

tataaaatta ttcataatga tagtaggagg cttggtaggt ttaagaatag tttttgctgt 3600

actttctata gtgaatagag ttaggcaggg atattcacca ttatcgtttc agacccacct 3660

cccaaccccg aggggacccg acaggcccga aggaatagaa gaagaaggtg gagagagaga 3720

cagagacaga tccattcgat tagtgaacgg atctcgacgg tatcgattag actgtagccc 3780
aggaatatgg cagctagatt gtacacattt agaaggaaaa gttatcttgg tagcagttca 3840
tgtagccagt ggatatatag aagcagaagt aattccagca gagacagggc aagaaacagc 3900
atacttcctc ttaaaattag caggaagatg gccagtaaaa acagtacata cagacaatgg 3960
cagcaatttc accagtacta cagttaaggc cgcctgttgg tgggcgggga tcaagcagga 4020
atttggcatt ccctacaatc cccaaagtca aggagtaata gaatctatga ataaagaatt 4080
aaagaaaatt ataggacagg taagagatca ggctgaacat cttaagacag cagtacaaat 4140

ggcagtattc atccacaatt ttaaaagaaa agggggggatt gggggtaca gtgcagggga 4200
aagaatagta gacataatag caacagacat acaaactaaa gaattacaaa aacaaattac 4260
aaaaattcaa aattttcggg tttattacag ggacagcaga gatccagttt ggctgcatac 4320
gcgtcgtgag gctccggtgc ccgtcagtgg gcagagcgca catcgcccac agtccccgag 4380
aagttggggg gaggggtcgg caattgaacc ggtgcctaga gaaggtggcg cggggtaaac 4440
tgggaaagtg atgtcgtgta ctggctccgc ctttttcccg agggtggggg agaaccgtat 4500
ataagtgcag tagtcgccgt gaacgttctt tttcgcaacg ggtttgccgc cagaacacag 4560

gtaagtgccg tgtgtggttc ccgcgggcct ggcctcttta cgggttatgg cccttgcgtg 4620
ccttgaatta cttccacctg gctgcagtac gtgattcttg atcccgagct tcgggttgga 4680
agtgggtggg agagttcgag gccttgcgct taaggagccc cttcgcctcg tgcttgagtt 4740
gaggcctggc ctgggcgctg gggccgccgc gtgcgaatct ggtggcacct tcgcgcctgt 4800
ctcgctgctt tcgataagtc tctagccatt taaaattttt gatgacctgc tgcgacgctt 4860
tttttctggc aagatagtct tgtaaatgcg ggccaagatc tgcacactgg tatttcggtt 4920
tttggggccg cgggcggcga cggggcccgt gcgtcccagc gcacatgttc ggcgaggcgg 4980

ggcctgcgag cgcggccacc gagaatcgga cgggggtagt ctcaagctgg ccggcctgct 5040
ctggtgcctg gcctcgcgcc gccgtgtatc gccccgccct gggcggcaag gctggcccgg 5100
tcggcaccag ttgcgtgagc ggaaagatgg ccgcttcccg gccctgctgc agggagctca 5160
aaatggagga cgcggcgctc gggagagcgg gcgggtgagt cacccacaca aaggaaaagg 5220
gcctttccgt cctcagccgt cgcttcatgt gactccacgg agtaccgggc gccgtccagg 5280
cacctcgatt agttctcgtg cttttggagt acgtcgtctt taggttgggg ggaggggttt 5340
tatgcgatgg agtttcccca cactgagtgg gtggagactg aagttaggcc agcttggcac 5400

ttgatgtaat tctccttgga atttgccctt tttgagtttg gatcttggtt cattctcaag 5460

cctcagacag tggttcaaag ttttttttctt ccatttcagg tgtcgtgagc tagaatgggg 5520

ggacttgaac cctgcagcag gctcctgctc ctgcctctcc tgctggctgt aagtggtctc 5580

cgtcctgtcc aggcccaggc ccagagcgat tgcagttgct ctacggtgag cccgggcgtg 5640

ctggcaggga tcgtgatggg agacctggtg ctgacagtgc tcattgccct ggccgtgtac 5700

ttcctgggcc ggctggtccc tcgggggcga ggggctgcgg aggcagcgac ccggaaacag 5760

cgtatcactg agaccgagtc gccttatcag gagctccagg gtcagaggtc ggatgtctac 5820

agcgacctca acacacagag gccgtattac aaagtcgagg gcggcggaga gggcagagga 5880

agtcttctaa catgcggtga cgtggaggag aatcccggcc ctaggatggc cttaccagtg 5940

accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg ctccacgccg ccaggccggg atcccaggta 6000

caactgcagc agtctgggcc tgagctggag aagcctggcg cttcagtgaa gatatcctgc 6060

aaggcttctg gttactcatt cactggctac accatgaact gggtgaagca gagccatgga 6120

aagagccttg agtggattgg acttattact ccttacaatg gtgcttctag ctacaaccag 6180

aagttcaggg gcaaggccac attaactgta gacaagtcat ccagcacagc ctacatggac 6240

ctcctcagtc tgacatctga agactctgca gtctatttct gtgcaagggg gggttacgac 6300

gggaggggtt ttgactactg gggccaaggg accacggtca ccgtctcctc aggtggaggc 6360

ggttcaggcg gcggtggctc tagcggtggt ggatcggaca tcgagctcac tcagtctcca 6420

gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt 6480

gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag tcaggcacct cccccaaaag atggatttat 6540

gacacatcca aactggcttc tggagtccca ggtcgcttca gtggcagtgg gtctggaaac 6600

tcttactctc tcacaatcag cagcgtggag gctgaagatg atgcaactta ttactgccag 6660

cagtggagta agcaccctct cacgtacggt gctgggacaa agttggaaat caaagctagc 6720

ggtggcggag gttctggagg tgggggttcc caggggggcct ggccacatga gggagtccac 6780

agaaaacctt ccctcctggc ccacccaggt cccctggtga aatcagaaga gacagtcatc 6840

ctgcaatgtt ggtcagatgt caggtttcag cacttccttc tgcacagaga agggaagttt 6900

aaggacactt tgcacctcat tggagagcac catgatgggg tctccaaggc caacttctcc 6960

atcggtccca tgatgcaaga ccttgcaggg acctacagat gctacggttc tgttactcac 7020

tccccctatc agttgtcagc tcccagtgac cctctggaca tcgtcatcac aggtctatat 7080

gagaaacctt ctctctcagc ccagccgggc cccacggttc tggcaggaga gagcgtgacc 7140

ttgtcctgca gctcccggag ctcctatgac atgtaccatc tatccaggga gggggaggcc 7200

catgaacgta ggttctctgc agggcccaag gtcaacggaa cattccaggc cgactttcct 7260

ctgggccctg ccacccacgg aggaacctac agatgcttcg gctctttccg tgactctcca 7320

tacgagtggt caaactcgag tgacccactg cttgtttctg tcacaggaaa cccttcaaat 7380

agttggcttt cacccactga accaagctcc gaaaccggta accccagaca cctgcatgtt 7440

ctgattggga cctcagtggt catcatcctc ttcatcctcc tcctcttctt tctccttcat 7500

cgctggtgct gcaacaaaaa aaatgctgtt gtaatggacc aagagcctgc agggaacaga 7560

acagtgaaca gggaggactc tgatgaacaa gaccctcagg aggtgacata tgcacagttg 7620

aatcactgcg ttttcacaca gagaaaaatc actcaccctt ctcagaggcc caagacaccc 7680

ccaacagata tcatcgtgta cacggaactt ccaaatgctg agccctgagt cgacaatcaa 7740

cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg actggtattc ttaactatgt tgctcctttt 7800

acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc ccgtatggct 7860

ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga gttgtggccc 7920

gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact gtgtttgctg acgcaacccc cactggttgg 7980

ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc gggactttcg ctttcccctt ccctattgcc 8040

acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga caggggctcg gctgttgggc 8100

actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaag ctgacgtcct ttccatggct gctcgcctgt 8160

gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg tcccttcggc cctcaatcca 8220

gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg gctctgcggc ctcttccgcg tcttcgcctt 8280

cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc cgcctggaat tcgagctcgg 8340

taccttaag accaatgact tacaaggcag ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa 8400

agggggact ggaagggcta attcactccc aacgaagaca agatctgctt tttgcttgta 8460

ctgggtctct ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc 8520

cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt gagtgcttca agtagtgtgt gcccgtctgt 8580

tgtgtgactc tggtaactag agatccctca gacccttta gtcagtgtgg aaaatctcta 8640

gcagtagtag ttcatgtcat cttattattc agtatttata acttgcaaag aaatgaatat 8700

cagagagtga gaggaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaaataa agcaatagca 8760

tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac 8820

tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct agctatcccg cccctaactc cgcccagttc 8880

cgcccattct ccgccccatg gctgactaat ttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc 8940

ctcggcctct gagctattcc agaagtagtg aggaggcttt tttggaggcc tacgcttttg 9000

cgtcgagacg tacccaattc gccctatagt gagtcgtatt acgcgcgctc actggccgtc 9060

gttttacaac gtcgtgactg ggaaaaccct ggcgttaccc aacttaatcg ccttgcagca 9120

catccccctt tcgccagctg gcgtaatagc gaagaggccc gcaccgatcg cccttcccaa 9180

cagttgcgca gcctgaatgg cgaatggcgc gacgcgccct gtagcggcgc attaagcgcg 9240
gcgggtgtgg tggttacgcg cagcgtgacc gctacacttg ccagcgccct agcgcccgct 9300
cctttcgctt tcttcccttc tttctcgcc acgttcgccg gctttccccg tcaagctcta 9360
aatcgggggc tccctttagg gttccgattt agtgctttac ggcacctcga ccccaaaaaa 9420
cttgattagg gtgatggttc acgtagtggg ccatcgccct gatagacggt ttttcgccct 9480
ttgacgttgg agtccacgtt ctttaatagt ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc 9540
aaccctatct cggtctattc ttttgattta taagggattt tgccgatttc ggcctattgg 9600

ttaaaaaatg agctgattta acaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt 9660
acaatttccc aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aacccctatt tgtttatttt 9720
tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat 9780
aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg tgtcgccctt attccctttt 9840
ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg 9900
ctgaagatca gttgg 9915

<210> 330
<211> 9816
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 330
gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc 60
gccccgaaga acgttttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt ggcgcggtat 120
tatcccgtat tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg catacactat tctcagaatg 180
acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag 240
aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta cttctgacaa 300
cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcacaa catgggggat catgtaactc 360

gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca 420
cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc 480
tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc 540

tgcgctcggc ccttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg 600

ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta 660

tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag 720

gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga 780

ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt tttgataatc 840

tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa 900

agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacaa 960

aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actcttttc 1020

cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt 1080

agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgct ctgctaatcc 1140

tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac 1200

gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca 1260

gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg 1320

ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag 1380

gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt 1440

ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcaggggggg cggagcctat 1500

ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttac ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc 1560

acatgttctt tcctgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt 1620

gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag 1680

cggaagagcg cccaatacgc aaaccgcctc tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca 1740

gctggcacga caggtttccc gactggaaag cgggcagtga gcgcaacgca attaatgtga 1800

gttagctcac tcattaggca ccccaggctt tacactttat gcttccggct cgtatgttgt 1860

gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgaccat gattacgcca 1920

agcgcgcaat taaccctcac taaagggaac aaaagctgga gctgcaagct taatgtagtc 1980

ttatgcaata ctcttgtagt cttgcaacat ggtaacgatg agttagcaac atgccttaca 2040

aggagagaaa aagcaccgtg catgccgatt ggtggaagta aggtggtacg atcgtgcctt 2100

attaggaagg caacagacgg gtctgacatg gattggacga accactgaat tgccgcattg 2160

cagagatatt gtatttaagt gcctagctcg atacaataaa cgggtctctc tggttagacc 2220

agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa 2280

gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga 2340

gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtggcgcc cgaacaggga 2400

cctgaaagcg aaagggaaac cagagctctc tcgacgcagg actcggcttg ctgaagcgcg 2460

cacggcaaga ggcgaggggc ggcgactggt gagtacgcca aaaattttga ctagcggagg 2520

ctagaaggag agagatgggt gcgagagcgt cagtattaag cgggggagaa ttagatcgcg 2580

atgggaaaaa attcggttaa ggccaggggg aaagaaaaaa tataaattaa aacatatagt 2640

atgggcaagc agggagctag aacgattcgc agttaatcct ggcctgttag aaacatcaga 2700

aggctgtaga caaatactgg gacagctaca accatccctt cagacaggat cagaagaact 2760

tagatcatta tataatacag tagcaaccct ctattgtgtg catcaaagga tagagataaa 2820

agacaccaag gaagctttag acaagataga ggaagagcaa aacaaaagta agaccaccgc 2880

acagcaagcg gccgctgatc ttcagacctg gaggaggaga tatgagggac aattggagaa 2940

gtgaattata taaatataaa gtagtaaaaa ttgaaccatt aggagtagca cccaccaagg 3000

caaagagaag agtggtgcag agagaaaaaa gagcagtggg aataggagct ttgttccttg 3060

ggttcttggg agcagcagga agcactatgg gcgcagcctc aatgacgctg acggtacagg 3120

ccagacaatt attgtctggt atagtgcagc agcagaacaa tttgctgagg gctattgagg 3180

cgcaacagca tctgttgcaa ctcacagtct ggggcatcaa gcagctccag gcaagaatcc 3240

tggctgtgga aagataccta aaggatcaac agctcctggg gatttggggt tgctctggaa 3300

aactcatttg caccactgct gtgccttgga atgctagttg gagtaataaa tctctggaac 3360

agattggaat cacacgacct ggatggagtg ggacagagaa attaacaatt acacaagctt 3420

aatacactcc ttaattgaag aatcgcaaaa ccagcaagaa aagaatgaac aagaattatt 3480

ggaattagat aaatgggcaa gtttgtggaa ttggtttaac ataacaaatt ggctgtggta 3540

tataaaatta ttcataatga tagtaggagg cttggtaggt ttaagaatag tttttgctgt 3600

actttctata gtgaatagag ttaggcaggg atattcacca ttatcgtttc agacccacct 3660

cccaaccccg aggggacccg acaggcccga aggaatagaa gaagaaggtg gagagagaga 3720

cagagacaga tccattcgat tagtgaacgg atctcgacgg tatcgattag actgtagccc 3780

aggaatatgg cagctagatt gtacacattt agaaggaaaa gttatcttgg tagcagttca 3840

tgtagccagt ggatatatag aagcagaagt aattccagca gagacagggc aagaaacagc 3900

atacttcctc ttaaaattag caggaagatg gccagtaaaa acagtacata cagacaatgg 3960

cagcaatttc accagtacta cagttaaggc cgcctgttgg tgggcgggga tcaagcagga 4020

atttggcatt ccctacaatc cccaaagtca aggagtaata gaatctatga ataaagaatt 4080

aaagaaaatt ataggacagg taagagatca ggctgaacat cttaagacag cagtacaaat 4140

ggcagtattc atccacaatt ttaaaagaaa agggggggatt gggggggtaca gtgcagggga 4200

aagaatagta gacataatag caacagacat acaaactaaa gaattacaaa aacaaattac 4260

aaaaattcaa aattttcggg tttattacag ggacagcaga gatccagttt ggctgcatac 4320

gcgtcgtgag gctccggtgc ccgtcagtgg gcagagcgca catcgcccac agtccccgag 4380

aagttggggg gaggggtcgg caattgaacc ggtgcctaga gaaggtggcg cggggtaaac 4440

tgggaaagtg atgtcgtgta ctggctccgc ctttttcccg agggtggggg agaaccgtat 4500

ataagtgcag tagtcgccgt gaacgttctt tttcgcaacg ggtttgccgc cagaacacag 4560

gtaagtgccg tgtgtggttc ccgcgggcct ggcctcttta cgggttatgg cccttgcgtg 4620

ccttgaatta cttccacctg gctgcagtac gtgattcttg atcccgagct tcgggttgga 4680

agtgggtggg agagttcgag gccttgcgct taaggagccc cttcgcctcg tgcttgagtt 4740

gaggcctggc ctgggcgctg gggccgccgc gtgcgaatct ggtggcacct tcgcgcctgt 4800

ctcgctgctt tcgataagtc tctagccatt taaaattttt gatgacctgc tgcgacgctt 4860

tttttctggc aagatagtct tgtaaatgcg ggccaagatc tgcacactgg tatttcggtt 4920

tttggggccg cgggcggcga cggggcccgt gcgtcccagc gcacatgttc ggcgaggcgg 4980

ggcctgcgag cgcggccacc gagaatcgga cgggggtagt ctcaagctgg ccggcctgct 5040

ctggtgcctg gcctcgcgcc gccgtgtatc gccccgccct gggcggcaag gctggcccgg 5100

tcggcaccag ttgcgtgagc ggaaagatgg ccgcttcccg gccctgctgc agggagctca 5160

aaatggagga cgcggcgctc gggagagcgg gcgggtgagt cacccacaca aaggaaaagg 5220

gcctttccgt cctcagccgt cgcttcatgt gactccacgg agtaccgggc gccgtccagg 5280

cacctcgatt agttctcgtg cttttggagt acgtcgtctt taggttgggg ggaggggttt 5340

tatgcgatgg agtttcccca cactgagtgg gtggagactg aagttaggcc agcttggcac 5400

ttgatgtaat tctccttgga atttgccctt tttgagtttg gatcttggtt cattctcaag 5460

cctcagacag tggttcaaag tttttttctt ccatttcagg tgtcgtgagc tagaatgggg 5520

ggacttgaac cctgcagcag gctcctgctc ctgcctctcc tgctggctgt aagtggtctc 5580

cgtcctgtcc aggcccaggc ccagagcgat tgcagttgct ctacggtgag cccgggcgtg 5640

ctggcaggga tcgtgatggg agacctggtg ctgacagtgc tcattgccct ggccgtgtac 5700

ttcctgggcc ggctggtccc tcgggggcga ggggctgcgg aggcagcgac ccggaaacag 5760

cgtatcactg agaccgagtc gccttatcag gagctccagg gtcagaggtc ggatgtctac 5820

agcgacctca acacacagag gccgtattac aaagtcgagg gcggcggaga gggcagagga 5880

agtcttctaa catgcggtga cgtggaggag aatcccggcc ctaggatggc cttaccagtg 5940

accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg ctccacgccg ccaggccggg atccgacatc 6000

cagatgacac agactacatc ctccctgtct gcctctctgg gagacagagt caccatcagt 6060

tgcagggcaa gtcaggacat tagtaaatat ttaaattggt atcagcagaa accagatgga 6120

actgttaaac tcctgatcta ccatacatca agattacact caggagtccc atcaaggttc 6180

agtggcagtg ggtctggaac agattattct ctcaccatta gcaacctgga gcaagaagat 6240

attgccactt acttttgcca acagggtaat acgcttccgt acacgttcgg agggggggact 6300

aagttggaaa taacaggtgg cggtggctcg ggcggtggtg ggtcgggtgg cggcggatct 6360

gaggtgaaac tgcaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccgtc 6420

acatgcactg tctcaggggt ctcattaccc gactatggtg taagctggat tcgccagcct 6480

ccacgaaagg gtctggagtg gctgggagta atatggggta gtgaaaccac atactataat 6540

tcagctctca aatccagact gaccatcatc aaggacaact ccaagagcca agttttctta 6600

aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccatttact actgtgccaa acattattac 6660

tacggtggta gctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 6720

gctagcacgc gtggtggcgg aggttctgga ggtgggggtt cccagggggc ctggccacat 6780

gagggagtcc acagaaaacc ttccctcctg gcccacccag gtcccctggt gaaatcagaa 6840

gagacagtca tcctgcaatg ttggtcagat gtcaggtttg agcacttcct tctgcacaga 6900

gaggggaagt ataaggacac tttgcacctc attggagagc accatgatgg ggtctccaag 6960

gccaacttct ccatcggtcc catgatgcaa gaccttgcag ggacctacag atgctacggt 7020

tctgttactc actccccta tcagttgtca gctcccagtg accctctgga catcgtcatc 7080

acaggtctat atgagaaacc ttctctctca gcccagccgg gccccacggt tttggcagga 7140

gagagcgtga ccttgtcctg cagctcccgg agctcctatg acatgtacca tctatccagg 7200

gagggggagg cccatgaacg taggttctct gcagggccca aggtcaacgg aacattccag 7260

gccgactttc ctctgggccc tgccacccac ggaggaacct acagatgctt cggctctttc 7320

cgtgactctc cctatgagtg gtcaaactcg agtgacccac tgcttgtttc tgtcacagga 7380

aacccttcaa atagttggcc ttcacccact gaaccaagct ccaaaaccgg taaccccaga 7440

cacctgcatg ttctgattgg gacctcagtg gtcaaaatcc ctttcaccat cctcctcttc 7500

tttctccttc atcgctggtg ctccaacaaa aaaaatgctg ctgtaatgga ccaagagcct 7560

gcagggaaca gaacagtgaa cagcgaggat tctgatgaac aagaccatca ggaggtgtca 7620

tacgcataag tcgacaatca acctctggat tacaaaattt gtgaaagatt gactggtatt 7680

cttaactatg ttgctccttt tacgctatgt ggatacgctg ctttaatgcc tttgtatcat 7740

gctattgctt cccgtatggc tttcattttc tcctccttgt ataaatcctg gttgctgtct 7800

ctttatgagg agttgtggcc cgttgtcagg caacgtggcg tggtgtgcac tgtgtttgct 7860

gacgcaaccc ccactggttg gggcattgcc accacctgtc agctcctttc cgggactttc 7920

gctttccccc tccctattgc cacggcggaa ctcatcgccg cctgccttgc ccgctgctgg 7980
acaggggctc ggctgttggg cactgacaat tccgtggtgt tgtcggggaa gctgacgtcc 8040
tttccatggc tgctcgcctg tgttgccacc tggattctgc gcgggacgtc cttctgctac 8100
gtcccttcgg ccctcaatcc agcggacctt ccttcccgcg gcctgctgcc ggctctgcgg 8160
cctcttccgc gtcttcgcct tcgccctcag acgagtcgga tctccctttg ggccgcctcc 8220
ccgcctggaa ttcgagctcg gtacctttaa gaccaatgac ttacaaggca gctgtagatc 8280
ttagccactt tttaaaagaa aaggggggac tggaagggct aattcactcc caacgaagac 8340

aagatctgct ttttgcttgt actgggtctc tctggttaga ccagatctga gcctgggagc 8400
tctctggcta actagggaac ccactgctta agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc 8460
aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact ctggtaacta gagatccctc agacccttttt 8520
agtcagtgtg gaaaatctct agcagtagta gttcatgtca tcttattatt cagtatttat 8580
aacttgcaaa gaaatgaata tcagagagtg agaggaactt gtttattgca gcttataatg 8640
gttacaaata aagcaatagc atcacaaatt tcacaaataa agcatttttt tcactgcatt 8700
ctagttgtgg tttgtccaaa ctcatcaatg tatcttatca tgtctggctc tagctatccc 8760

gcccctaact ccgcccagtt ccgcccattc tccgccccat ggctgactaa tttttttttat 8820
ttatgcagag gccgaggccg cctcggcctc tgagctattc cagaagtagt gaggaggctt 8880
ttttggaggc ctacgctttt gcgtcgagac gtacccaatt cgccctatag tgagtcgtat 8940
tacgcgcgct cactggccgt cgttttacaa cgtcgtgact gggaaaaccc tggcgttacc 9000
caacttaatc gccttgcagc acatcccccc ttcgccagct ggcgtaatag cgaagaggcc 9060
cgcaccgatc gcccttccca acagttgcgc agcctgaatg gcgaatggcg cgacgcgccc 9120
tgtagcggcg cattaagcgc ggcgggtgtg gtggttacgc gcagcgtgac cgctacactt 9180

gccagcgccc tagcgcccgc tcctttcgct ttcttccctt cctttctcgc cacgttcgcc 9240
ggctttcccc gtcaagctct aaatcggggg ctccctttag ggttccgatt tagtgcttta 9300
cggcacctcg accccaaaaa acttgattag ggtgatggtt cacgtagtgg gccatcgccc 9360
tgatagacgg tttttcgccc tttgacgttg gagtccacgt tctttaatag tggactcttg 9420
ttccaaactg gaacaacact caaccctatc tcggtctatt cttttgattt ataagggatt 9480
ttgccgattt cggcctattg gttaaaaaat gagctgattt aacaaaaatt taacgcgaat 9540
tttaacaaaa tattaacgtt tacaatttcc caggtggcac ttttcgggga aatgtgcgcg 9600

gaacccctat ttgtttattt ttctaaatac attcaaatat gtatccgctc atgagacaat 9660

aaccctgata aatgcttcaa taatattgaa aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc 9720

gtgtcgccct tattcccttt tttgcggcat tttgccttcc tgtttttgct cacccagaaa 9780

cgctggtgaa agtaaaaagat gctgaagatc agttgg 9816

<210> 331

<211> 3821

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 331

tgatgcggta ttttctcctt acgcatctgt gcggtatttc acaccgcata tggtgcactc 60

tcagtacaat ctgctctgat gccgcatagt taagccagcc ccgacacccg ccaacacccg 120

ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgctcc cggcatccgc ttacagacaa gctgtgaccg 180

tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcatc accgaaacgc gcgagacgaa 240

agggcctcgt gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat gataataatg gtttcttaga 300

cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa 360

tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt caataatatt 420

gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgcgg 480

cattttgcct tcctgttttt gctcacccag aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag 540

atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct caacagcggt aagatccttg 600

agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg 660

gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc aagagcaact cggtcgccgc atacactatt 720

ctcagaatga cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga 780

cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactgcg gccaacttac 840

ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt tttgcacaac atgggggatc 900

atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc 960

gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac 1020

tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttgcag 1080

gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg 1140

gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccgta 1200

tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg 1260

ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata 1320

tactttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt 1380

ttgataatct catgaccaaa atcccttaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc 1440

ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atccttttt tctgcgcgta atctgctgct 1500

tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa 1560

ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat accaaatact gttcttctag 1620

tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgctc 1680

tgctaatcct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg 1740

actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca 1800

cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat 1860

gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa aggcggacag gtatccggta agcggcaggg 1920

tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc 1980

ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc 2040

ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc 2100

cttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac cgtattaccg 2160

cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga 2220

gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct ccccgcgcgt tggccgattc 2280

attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa 2340

ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac cccaggcttt acactttatg cttccggctc 2400

gtatgttgtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg 2460

attacgccaa gctctaatac gactcactat agggagacaa gcttgcatgc ctgcaggtcg 2520

acatggcctt accagtgacc gccttgctcc tgccgctggc cttgctgctc cacgccgcca 2580

ggccggacat ccagatgaca cagactacat cctccctgtc tgcctctctg ggagacagag 2640

tcaccatcag ttgcagggca agtcaggaca ttagtaaata tttaaattgg tatcagcaga 2700

aaccagatgg aactgttaaa ctcctgatct accatacatc aagattacac tcaggagtcc 2760

catcaaggtt cagtggcagt gggtctggaa cagattattc tctcaccatt agcaacctgg 2820

agcaagaaga tattgccact tacttttgcc aacagggtaa tacgcttccg tacacgttcg 2880

gagggggggac taagttggaa ataacaggtg gcggtggctc gggcggtggt gggtcgggtg 2940

gcggcggatc tgaggtgaaa ctgcaggagt caggacctgg cctggtggcg ccctcacaga 3000

gcctgtccgt cacatgcact gtctcagggg tctcattacc cgactatggt gtaagctgga 3060
ttcgccagcc tccacgaaag ggtctggagt ggctgggagt aatatggggt agtgaaacca 3120
catactataa ttcagctctc aaatccagac tgaccatcat caaggacaac tccaagagcc 3180
aagttttctt aaaaatgaac agtctgcaaa ctgatgacac agccatttac tactgtgcca 3240
aacattatta ctacggtggt agctatgcta tggactactg gggtcaagga acctcagtca 3300
ccgtctcctc agctagcacg cgtggtggcg gaggttctgg aggtgggggt tccaccctgg 3360
tggttggtgt cgtgggcggc ctgctgggca gcctggtgct gctagtctgg gtcctggccg 3420

tcatctgctc ccgggccgca cgagggacaa taggagccag gcgcaccggc cagcccctga 3480
aggaggaccc ctcagccgtg cctgtgttct ctgtggacta tggggagctg gatttccagt 3540
ggcgagagaa gaccccggag ccccccgtgc cctgtgtccc tgagcagacg gagtatgcca 3600
ccattgtctt tcctagcgga atgggcacct catcccccgc ccgcaggggc tcagctgacg 3660
gccctcggag tgcccagcca ctgaggcctg aggatggaca ctgctcttgg cccctctgag 3720
gatccccggg taccgagctc gaattcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa ctagtggcgc c 3821

<210> 332
<211> 1464
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 332
atgggggggac ttgaaccctg cagcaggttc ctgctcctgc ctctcctgct ggctgtaagt 60
ggtctccgtc ctgtccaggt ccaggcccag agcgattgca gttgctctac ggtgagcccg 120
ggcgtgctgg cagggatcgt gatgggagac ctggtgctga cagtgctcat tgccctggcc 180
gtgtacttcc tgggccggct ggtccctcgg gggcgagggg ctgcggaggc agcgacccgg 240
aaacagcgta tcactgagac cgagtcgcct tatcaggagc tccagggtca gaggtcggat 300

gtctacagcg acctcaacac acagaggccg tattacaaag tcgagggcgg cggagagggc 360
agaggaagtc ttctaacatg cggtgacgtg gaggagaatc ccggccctag gatggcctta 420
ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc ttgctgctcc acgccgccag gccgggatcc 480

caggtacaac tgcagcagtc tgggcctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 540

tcctgcaagg cttctggtta ctcattcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 600

catggaaaga gccttgagtg gattggactt attactcctt acaatggtgc ttctagctac 660

aaccagaagt tcaggggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 720

atggacctcc tcagtctgac atctgaagac tctgcagtct atttctgtgc aaggggggggt 780

tacgacggga ggggttttga ctactggggc caagggacca cggtcaccgt ctcctcaggt 840

ggaggcggtt caggcggcgg tggctctagc ggtggtggat cggacatcga gctcactcag 900

tctccagcaa tcatgtctgc atctccaggg gagaaggtca ccatgacctg cagtgccagc 960

tcaagtgtaa gttacatgca ctggtaccag cagaagtcag gcacctcccc caaaagatgg 1020

atttatgaca catccaaact ggcttctgga gtcccaggtc gcttcagtgg cagtgggtct 1080

ggaaactctt actctctcac aatcagcagc gtggaggctg aagatgatgc aacttattac 1140

tgccagcagt ggagtaagca ccctctcacg tacggtgctg ggacaaagtt ggaaatcaaa 1200

gctagcggtg gcggaggttc tggaggtggg ggttcctcac ccactgaacc aagctccaaa 1260

accggtaacc ccagacacct gcatgttctg attgggacct cagtggtcaa aatccctttc 1320

accatcctcc tcttctttct ccttcatcgc tggtgctcca acaaaaaaaa tgctgctgta 1380

atggaccaag agcctgcagg gaacagaaca gtgaacagcg aggattctga tgaacaagac 1440

catcaggagg tgtcatacgc ataa 1464

<210> 333

<211> 487

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 333

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Phe Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ala Val Ser Gly Leu Arg Pro Val Gln Val Gln Ala Gln Ser Asp
20 25 30

Cys Ser Cys Ser Thr Val Ser Pro Gly Val Leu Ala Gly Ile Val Met
35 40 45

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

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

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

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

290 295 300

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser
305 310 315 320
Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser
325 330 335
Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro
340 345 350
Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
355 360 365

Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
370 375 380
Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
385 390 395 400
Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Pro Thr Glu
405 410 415
Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly
420 425 430

Thr Ser Val Val Lys Ile Pro Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu
435 440 445
His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu
450 455 460
Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp
465 470 475 480
His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
485

<210> 334
<211> 1365
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 334

atgattccag cagtggtctt gctcttactc cttttggttg aacaagcagc ggccctggga 60

gagcctcagc tctgctatat cctggatgcc atcctgtttc tgtatggaat tgtcctcacc 120

ctcctctact gccgactgaa gatccaagtg cgaaaggcag ctataaccag ctatgagaaa 180

tcagatggtg tttacacggg cctgagcacc aggaaccagg agacttacga gactctgaag 240

catgagaaac caccacagtc cggaggcggc ggagagggca gaggaagtct tctaacatgc 300

ggtgacgtgg aggagaatcc cggccctagg atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg 360

ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg ccgggatccc aggtacaact gcagcagtct 420

gggcctgagc tggagaagcc tggcgcttca gtgaagatat cctgcaaggc ttctggttac 480

tcattcactg gctacaccat gaactgggtg aagcagagcc atggaaagag ccttgagtgg 540

attggactta ttactcctta caatggtgct tctagctaca accagaagtt caggggcaag 600

gccacattaa ctgtagacaa gtcatccagc acagcctaca tggacctcct cagtctgaca 660

tctgaagact ctgcagtcta tttctgtgca agggggggtt acgacgggag gggttttgac 720

tactggggcc aagggaccac ggtcaccgtc tcctcaggtg gaggcggttc aggcggcggt 780

ggctctagcg gtggtggatc ggacatcgag ctcactcagt ctccagcaat catgtctgca 840

tctccagggg agaaggtcac catgacctgc agtgccagct caagtgtaag ttacatgcac 900

tggtaccagc agaagtcagg cacctccccc aaaagatgga tttatgacac atccaaactg 960

gcttctggag tcccaggtcg cttcagtggc agtgggtctg gaaactctta ctctctcaca 1020

atcagcagcg tggaggctga agatgatgca acttattact gccagcagtg gagtaagcac 1080

cctctcacgt acggtgctgg gacaaagttg gaaatcaaag ctagcggtgg cggaggttct 1140

ggaggtgggg gttccttaac cacagagacg ggactccaga aagaccatgc cctctgggat 1200

cacactgccc agaatctcct tcggatgggc ctggcctttc tagtcctggt ggctctagtg 1260

tggttcctgg ttgaagactg gctcagcagg aagaggacta gagagcgagc cagcagagct 1320

tccacttggg aaggcaggag aaggctgaac acacagactc tttga 1365

<210> 335

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 335

Met Ile Pro Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Glu Gln Ala
1 5 10 15

Ala Ala Leu Gly Glu Pro Gln Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu
20 25 30

Phe Leu Tyr Gly Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile
35 40 45

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

Tyr Thr Gly Leu Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu Thr Leu Lys
65 70 75 80

His Glu Lys Pro Pro Gln Ser Gly Gly Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser
85 90 95

Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg Met Ala
100 105 110

Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala
115 120 125

Ala Arg Pro Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu
130 135 140

Glu Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
145 150 155 160

Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys
165 170 175

Ser Leu Glu Trp Ile Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser
180 185 190

Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser
195 200 205

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser
210 215 220

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp
225 230 235 240

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr
260 265 270

Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met
275 280 285
Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln
290 295 300
Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu
305 310 315 320
Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser
325 330 335

Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala Thr Tyr
340 345 350
Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala Gly Thr
355 360 365
Lys Leu Glu Ile Lys Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380
Ser Leu Thr Thr Glu Thr Gly Leu Gln Lys Asp His Ala Leu Trp Asp
385 390 395 400

His Thr Ala Gln Asn Leu Leu Arg Met Gly Leu Ala Phe Leu Val Leu
405 410 415
Val Ala Leu Val Trp Phe Leu Val Glu Asp Trp Leu Ser Arg Lys Arg
420 425 430
Thr Arg Glu Arg Ala Ser Arg Ala Ser Thr Trp Glu Gly Arg Arg Arg
435 440 445
Leu Asn Thr Gln Thr Leu
450

<210> 336
<211> 1470
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 336

atgggggggac ttgaaccctg cagcaggttc ctgctcctgc ctctcctgct ggctgtaagt 60

ggtctccgtc ctgtccaggt ccaggcccag agcgattgca gttgctctac ggtgagcccg 120

ggcgtgctgg cagggatcgt gatgggagac ctggtgctga cagtgctcat tgccctggcc 180

gtgtacttcc tgggccggct ggtccctcgg gggcgagggg ctgcggaggc agcgacccgg 240

aaacagcgta tcactgagac cgagtcgcct tatcaggagc tccagggtca gaggtcggat 300

gtctacagcg acctcaacac acagaggccg tattacaaag tcgagggcgg cggagagggc 360

agaggaagtc ttctaacatg cggtgacgtg gaggagaatc ccggccctag gatggcctta 420

ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc ttgctgctcc acgccgccag gccgggatcc 480

gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 540

atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatttaa attggtatca gcagaaacca 600

gatggaactg ttaaactcct gatctaccat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 660

aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 720

gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg 780

gggactaagt tggaaataac aggtggcggt ggctcgggcg gtggtgggtc gggtggcggc 840

ggatctgagg tgaaactgca ggagtcagga cctggcctgg tggcgccctc acagagcctg 900

tccgtcacat gcactgtctc aggggtctca ttacccgact atggtgtaag ctggattcgc 960

cagcctccac gaaagggtct ggagtggctg ggagtaatat ggggtagtga aaccacatac 1020

tataattcag ctctcaaatc cagactgacc atcatcaagg acaactccaa gagccaagtt 1080

ttcttaaaaa tgaacagtct gcaaactgat gacacagcca tttactactg tgccaaacat 1140

tattactacg gtggtagcta tgctatggac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc 1200

tcctcagcta gcggtggcgg aggttctgga ggtgggggtt cctcacccac tgaaccaagc 1260

tccaaaaccg gtaaccccag acacctgcat gttctgattg ggacctcagt ggtcaaaatc 1320

cctttcacca tcctcctctt ctttctcctt catcgctggt gctccaacaa aaaaaatgct 1380

gctgtaatgg accaagagcc tgcagggaac agaacagtga acagcgagga ttctgatgaa 1440

caagaccatc aggaggtgtc atacgcataa 1470

<210> 337

<211> 489

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 337

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Phe Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ala Val Ser Gly Leu Arg Pro Val Gln Val Gln Ala Gln Ser Asp
20 25 30

Cys Ser Cys Ser Thr Val Ser Pro Gly Val Leu Ala Gly Ile Val Met
35 40 45

Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu
50 55 60

Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala Glu Ala Ala Thr Arg
65 70 75 80

Lys Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr Gln Glu Leu Gln Gly
85 90 95

Gln Arg Ser Asp Val Tyr Ser Asp Leu Asn Thr Gln Arg Pro Tyr Tyr
100 105 110

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

Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg Met Ala Leu Pro Val Thr Ala
130 135 140

Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Gly Ser
145 150 155 160

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
165 170 175

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
180 185 190

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
195 200 205

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
210 215 220

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
225 230 235 240

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
245 250 255

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu
275 280 285

Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys
290 295 300

Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg
305 310 315 320

Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser
325 330 335

Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile
340 345 350

Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln
355 360 365

Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly
370 375 380

Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val
385 390 395 400

Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Pro
405 410 415

Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His Val Leu
420 425 430

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

435 440 445

Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met Asp
450 455 460
Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu
465 470 475 480
Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
485

<210> 338
<211> 97
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 338

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

Gly Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro
65 70 75 80
Arg Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro
85 90 95
Leu

<210> 339
<211> 41
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 339

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

1 5 10 15

Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu Pro Glu Cys Glu Lys Gln

20 25 30

Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn

35 40

<210> 340

<211> 43

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 340

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

35 40

<210> 341

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown: ITAM motif peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (2)..(3)

<223> Any amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(12)

<223> Any amino acid

<220><221> VARIANT

<222> (11)..(12)

<223> /replace=" "

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(12)

<223> /note="This region may encompass 6-8 residues"

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(15)

<223> Any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(16)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations for
variant positions"

<400> 341

Tyr Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Leu
1 5 10 15

<210> 342

<211> 1578

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> CDS

<222> (36)..(947)

<400> 342

ctggggcgcg gccgcctgtc tgcacagaca gcacc atg tcg ctc atg gtc gtc 53
Met Ser Leu Met Val Val
1 5

agc atg gcg tgt gtt ggg ttc ttc ttg ctg cag ggg gcc tgg cca cat 101

```
Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu Gln Gly Ala Trp Pro His

            10                  15                  20

gag gga gtc cac aga aaa cct tcc ctc ctg gcc cac cca ggt ccc ctg        149
Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Pro Leu
        25                  30                  35
gtg aaa tca gaa gag aca gtc atc ctg caa tgt tgg tca gat gtc agg        197
Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val Arg
    40                  45                  50

ttt gag cac ttc ctt ctg cac aga gag ggg aag tat aag gac act ttg        245
Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Lys Tyr Lys Asp Thr Leu
55                  60                  65                  70
cac ctc att gga gag cac cat gat ggg gtc tcc aag gcc aac ttc tcc        293
His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe Ser
                75                  80                  85
atc ggt ccc atg atg caa gac ctt gca ggg acc tac aga tgc tac ggt        341

Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly
            90                  95                  100
tct gtt act cac tcc ccc tat cag ttg tca gct ccc agt gac cct ctg        389
Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu
        105                 110                 115
gac atc gtc atc aca ggt cta tat gag aaa cct tct ctc tca gcc cag        437
Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu Ser Ala Gln

    120                 125                 130
ccg ggc ccc acg gtt ttg gca gga gag agc gtg acc ttg tcc tgc agc        485
Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser Val Thr Leu Ser Cys Ser
135                 140                 145                 150
tcc cgg agc tcc tat gac atg tac cat cta tcc agg gag ggg gag gcc        533
Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu Ala
                155                 160                 165
```

cat gaa cgt agg ttc tct gca ggg ccc aag gtc aac gga aca ttc cag 581
His Glu Arg Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys Val Asn Gly Thr Phe Gln
170 175 180
gcc gac ttt cct ctg ggc cct gcc acc cac gga gga acc tac aga tgc 629
Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg Cys
185 190 195
ttc ggc tct ttc cgt gac tct ccc tat gag tgg tca aac tcg agt gac 677

Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asn Ser Ser Asp
200 205 210
cca ctg ctt gtt tct gtc aca gga aac cct tca aat agt tgg cct tca 725
Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro Ser
215 220 225 230
ccc act gaa cca agc tcc aaa acc ggt aac ccc aga cac ctg cat gtt 773
Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His Val

235 240 245
ctg att ggg acc tca gtg gtc aaa atc cct ttc acc atc ctc ctc ttc 821
Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro Phe Thr Ile Leu Leu Phe
250 255 260
ttt ctc ctt cat cgc tgg tgc tcc aac aaa aaa aat gct gct gta atg 869
Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met
265 270 275

gac caa gag cct gca ggg aac aga aca gtg aac agc gag gat tct gat 917
Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser Glu Asp Ser Asp
280 285 290
gaa caa gac cat cag gag gtg tca tac gca taattggatc actgtgtttt 967
Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
295 300
cacacagaga aaaatcactc gcccttctga gaggcccaag acacccccaa cagataccag 1027

catgtacata gaacttccaa atgctgagcc cagatccaaa gttgtcttct gtccacgagc 1087
accacagtca ggccttgagg ggatcttcta gggagacaac agccctgtct caaaaccggg 1147
ttgccagctc ccatgtacca gcagctggaa tctgaaggca tcagtcttca tcttagggca 1207

tcgctcttcc tcacaccacg aatctgaaca tgcctctctc ttgcttacaa atgtctaagg 1267

tccccactgc ctgctggaga gaaaacacac tcctttgctt agcccacaat tctccatttc 1327

acttgacccc tgcccacctc tccaacctaa ctggcttact tcctagtcta cctgaggctg 1387

caatcacact gaggaactca caattccaaa catacaagag gctgcctctt aacacagcac 1447

ttagacacgt gctgttccac ctcccttcag actatctttc agccttctgc cagcagtaaa 1507

acttataaat tttttaaata atttcaatgt agttttcccg ccttcaaata aacatgtctg 1567

ccctcatgaa a 1578

<210> 343

<211> 304

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 343

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Ala Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu
1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu
20 25 30

Ala His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln
35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Arg Phe Glu His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly
50 55 60

Lys Tyr Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val
65 70 75 80

Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly
85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser
100 105 110

Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys
115 120 125

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

130 135 140

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

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

Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val
275 280 285
Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
290 295 300

<210> 344
<211> 1596
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"
<220><221> CDS
<222> (38)..(1060)
<400> 344

agctggggcg cggccgcctg tctgcacaga cagcacc atg tcg ctc atg gtc gtc 55

Met Ser Leu Met Val Val
1 5

agc atg gtg tgt gtt ggg ttc ttc ttg ctg cag ggg gcc tgg cca cat 103
Ser Met Val Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu Gln Gly Ala Trp Pro His
10 15 20

gag gga gtc cac aga aaa cct tcc ctc ctg gcc cac cca ggt ccc ctg 151
Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Pro Leu
25 30 35

gtg aaa tca gaa gag aca gtc atc ctg caa tgt tgg tca gat gtc agg 199
Val Lys Ser Glu Glu Thr Val Ile Leu Gln Cys Trp Ser Asp Val Arg
40 45 50

ttt cag cac ttc ctt ctg cac aga gaa ggg aag ttt aag gac act ttg 247
Phe Gln His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly Lys Phe Lys Asp Thr Leu
55 60 65 70

cac ctc att gga gag cac cat gat ggg gtc tcc aag gcc aac ttc tcc 295
His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe Ser
75 80 85

atc ggt ccc atg atg caa gac ctt gca ggg acc tac aga tgc tac ggt 343
Ile Gly Pro Met Met Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly
90 95 100

tct gtt act cac tcc ccc tat cag ttg tca gct ccc agt gac cct ctg 391
Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu
105 110 115

gac atc gtc atc aca ggt cta tat gag aaa cct tct ctc tca gcc cag 439
Asp Ile Val Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu Ser Ala Gln
120 125 130

ccg ggc ccc acg gtt ctg gca gga gag agc gtg acc ttg tcc tgc agc 487
Pro Gly Pro Thr Val Leu Ala Gly Glu Ser Val Thr Leu Ser Cys Ser

```
135                 140                 145                 150
tcc cgg agc tcc tat gac atg tac cat cta tcc agg gag ggg gag gcc        535
Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu Ala
                155                 160                 165
cat gaa cgt agg ttc tct gca ggg ccc aag gtc aac gga aca ttc cag        583
His Glu Arg Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys Val Asn Gly Thr Phe Gln
            170                 175                 180

gcc gac ttt cct ctg ggc cct gcc acc cac gga gga acc tac aga tgc        631
Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg Cys
        185                 190                 195
ttc ggc tct ttc cgt gac tct cca tac gag tgg tca aac tcg agt gac        679
Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asn Ser Ser Asp
    200                 205                 210
cca ctg ctt gtt tct gtc aca gga aac cct tca aat agt tgg cct tca        727

Pro Leu Leu Val Ser Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro Ser
215                 220                 225                 230
ccc act gaa cca agc tcc gaa acc ggt aac ccc aga cac ctg cat gtt        775
Pro Thr Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His Val
                235                 240                 245
ctg att ggg acc tca gtg gtc atc atc ctc ttc atc ctc ctc ctc ttc        823
Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu Phe Ile Leu Leu Leu Phe

            250                 255                 260
ttt ctc ctt cat cgc tgg tgc tgc aac aaa aaa aat gct gtt gta atg        871
Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Cys Asn Lys Lys Asn Ala Val Val Met
        265                 270                 275
gac caa gag cct gca ggg aac aga aca gtg aac agg gag gac tct gat        919
Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser Asp
    280                 285                 290

gaa caa gac cct cag gag gtg aca tat gca cag ttg aat cac tgc gtt        967
Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asn His Cys Val
295                 300                 305                 310
```

ttc aca cag aga aaa atc act cgc cct tct cag agg ccc aag aca ccc 1015

Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr Pro

315 320 325

cca aca gat atc atc gtg tac acg gaa ctt cca aat gct gag ccc 1060

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

330 335 340

tgatccaaag ttgtctcctg cccatgagca ccacagtcag gccttgaggg gatcttctag 1120

ggagacaaca gccctgtctc aaaactgggt tgccagctcc aatgtaccag cagctggaat 1180

ctgaaggcgt gagtctgcat cttagggcat cgctcttcct cacaccacaa atctgaacgt 1240

gcctctccct tgcttacaaa tgtctaaggt ccccactgcc tgctggagag aaaacacact 1300

cctttgctta gcccacaatt ctccatttca cttgacccct gcccacctct ccaacctaac 1360

tggcttactt cctagtctac ttgaggctgc aatcacactg aggaactcac aattccaaac 1420

atacaagagg ctccctctta acacggcact tagacacgtg ctgttccacc ttccctcatg 1480

ctgttccacc tcccctcaga ctagctttca gccttctgtc agcagtaaaa cttatatatt 1540

ttttaaaata atttcaatgt agttttccct ccttcaaata aacatgtctg ccctca 1596

<210> 345

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 345

Met Ser Leu Met Val Val Ser Met Val Cys Val Gly Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg Lys Pro Ser Leu Leu

20 25 30

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

35 40 45

Cys Trp Ser Asp Val Arg Phe Gln His Phe Leu Leu His Arg Glu Gly

50 55 60

Lys Phe Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu His His Asp Gly Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser Pro Tyr Gln Leu Ser

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr Asp Met Tyr His Leu

145 150 155 160

Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Phe Ser Ala Gly Pro Lys

165 170 175

Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu Gly Pro Ala Thr His

180 185 190

Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg Asp Ser Pro Tyr Glu

195 200 205

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

210 215 220

Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn

225 230 235 240

Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu

245 250 255

Phe Ile Leu Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Cys Asn Lys

260 265 270

Lys Asn Ala Val Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val

275 280 285

Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Pro Asn Ala Glu Pro

340

<210> 346

<211> 1153

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> CDS

<222> (39)..(950)

<400> 346

tccccactgc tcagcactag gccggcagaa tctgagcg atg tct tcc aca ctc cct 56

Met Ser Ser Thr Leu Pro

1 5

gcc ctg ctc tgc gtc ggg ctg tgt ctg agt cag agg atc agc gcc cag 104

Ala Leu Leu Cys Val Gly Leu Cys Leu Ser Gln Arg Ile Ser Ala Gln

10 15 20

cag cag act ctc cca aaa ccg ttc atc tgg gcc gag ccc cat ttc atg 152

Gln Gln Thr Leu Pro Lys Pro Phe Ile Trp Ala Glu Pro His Phe Met

25 30 35

gtt cca aag gaa aag caa gtg acc atc tgt tgc cag gga aat tat ggg 200

Val Pro Lys Glu Lys Gln Val Thr Ile Cys Cys Gln Gly Asn Tyr Gly

40 45 50

gct gtt gaa tac cag ctg cac ttt gaa gga agc ctt ttt gcc gtg gac 248

Ala Val Glu Tyr Gln Leu His Phe Glu Gly Ser Leu Phe Ala Val Asp

55 60 65 70

aga cca aaa ccc cct gag cgg att aac aaa gtc caa ttc tac atc ccg 296

```
Arg Pro Lys Pro Pro Glu Arg Ile Asn Lys Val Gln Phe Tyr Ile Pro

                75                  80                  85

gac atg aac tcc cgc atg gca ggg caa tac agc tgc atc tat cgg gtt        344
Asp Met Asn Ser Arg Met Ala Gly Gln Tyr Ser Cys Ile Tyr Arg Val

            90                  95                  100

ggg gag ctc tgg tca gag ccc agc aac ttg ctg gat ctg gtg gta aca        392
Gly Glu Leu Trp Ser Glu Pro Ser Asn Leu Leu Asp Leu Val Val Thr

        105                 110                 115

gaa atg tat gac aca ccc acc ctc tcg gtt cat cct gga ccc gaa gtg        440
Glu Met Tyr Asp Thr Pro Thr Leu Ser Val His Pro Gly Pro Glu Val

    120                 125                 130

atc tcg gga gag aag gtg acc ttc tac tgc cgt cta gac act gca aca        488
Ile Ser Gly Glu Lys Val Thr Phe Tyr Cys Arg Leu Asp Thr Ala Thr

135                 140                 145                 150

agc atg ttc tta ctg ctc aag gag gga aga tcc agc cac gta cag cgc        536
Ser Met Phe Leu Leu Leu Lys Glu Gly Arg Ser Ser His Val Gln Arg

                155                 160                 165

gga tac ggg aag gtc cag gcg gag ttc ccc ctg ggc cct gtg acc aca        584
Gly Tyr Gly Lys Val Gln Ala Glu Phe Pro Leu Gly Pro Val Thr Thr

            170                 175                 180

gcc cac aga ggg aca tac cga tgt ttt ggc tcc tat aac aac cat gcc        632
Ala His Arg Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Tyr Asn Asn His Ala

        185                 190                 195

tgg tct ttc ccc agt gag cca gtg aag ctc ctg gtc aca ggc gac att        680
Trp Ser Phe Pro Ser Glu Pro Val Lys Leu Leu Val Thr Gly Asp Ile

    200                 205                 210

gag aac acc agc ctt gca cct gaa gac ccc acc ttt cct gca gac act        728
Glu Asn Thr Ser Leu Ala Pro Glu Asp Pro Thr Phe Pro Ala Asp Thr

215                 220                 225                 230
```

tgg ggc acc tac ctt tta acc aca gag acg gga ctc cag aaa gac cat 776

Trp Gly Thr Tyr Leu Leu Thr Thr Glu Thr Gly Leu Gln Lys Asp His

235 240 245

gcc ctc tgg gat cac act gcc cag aat ctc ctt cgg atg ggc ctg gcc 824

Ala Leu Trp Asp His Thr Ala Gln Asn Leu Leu Arg Met Gly Leu Ala

250 255 260

ttt cta gtc ctg gtg gct cta gtg tgg ttc ctg gtt gaa gac tgg ctc 872

Phe Leu Val Leu Val Ala Leu Val Trp Phe Leu Val Glu Asp Trp Leu

265 270 275

agc agg aag agg act aga gag cga gcc agc aga gct tcc act tgg gaa 920

Ser Arg Lys Arg Thr Arg Glu Arg Ala Ser Arg Ala Ser Thr Trp Glu

280 285 290

ggc agg aga agg ctg aac aca cag act ctt tgaagaatga ccatgagaca 970

Gly Arg Arg Arg Leu Asn Thr Gln Thr Leu

295 300

cagtggccat gggtggatct gaaagctggt gttgagcctg ggcggcgtga gctctgtgtt 1030

ggacccacgg aggagggagt cactgcaggg aaagagggac actggcattc catttgtcag 1090

agcatcccgg acgatgcaga gggtgggaga actacatgct aaatttcttt ttttttttt 1150

ttg 1153

<210> 347

<211> 304

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 347

Met Ser Ser Thr Leu Pro Ala Leu Leu Cys Val Gly Leu Cys Leu Ser

1 5 10 15

Gln Arg Ile Ser Ala Gln Gln Gln Thr Leu Pro Lys Pro Phe Ile Trp

20 25 30

Ala Glu Pro His Phe Met Val Pro Lys Glu Lys Gln Val Thr Ile Cys

35 40 45

Cys Gln Gly Asn Tyr Gly Ala Val Glu Tyr Gln Leu His Phe Glu Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Gln Phe Tyr Ile Pro Asp Met Asn Ser Arg Met Ala Gly Gln Tyr

85 90 95

Ser Cys Ile Tyr Arg Val Gly Glu Leu Trp Ser Glu Pro Ser Asn Leu

100 105 110

Leu Asp Leu Val Val Thr Glu Met Tyr Asp Thr Pro Thr Leu Ser Val

115 120 125

His Pro Gly Pro Glu Val Ile Ser Gly Glu Lys Val Thr Phe Tyr Cys

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Ser His Val Gln Arg Gly Tyr Gly Lys Val Gln Ala Glu Phe Pro

165 170 175

Leu Gly Pro Val Thr Thr Ala His Arg Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly

180 185 190

Ser Tyr Asn Asn His Ala Trp Ser Phe Pro Ser Glu Pro Val Lys Leu

195 200 205

Leu Val Thr Gly Asp Ile Glu Asn Thr Ser Leu Ala Pro Glu Asp Pro

210 215 220

Thr Phe Pro Ala Asp Thr Trp Gly Thr Tyr Leu Leu Thr Thr Glu Thr

225 230 235 240

Gly Leu Gln Lys Asp His Ala Leu Trp Asp His Thr Ala Gln Asn Leu

245 250 255

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

260 265 270

Leu Val Glu Asp Trp Leu Ser Arg Lys Arg Thr Arg Glu Arg Ala Ser

275 280 285

Arg Ala Ser Thr Trp Glu Gly Arg Arg Arg Leu Asn Thr Gln Thr Leu

290 295 300

<210> 348

<211> 1053

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<220><221> CDS

<222> (1)..(1050)

<400> 348

atg gcc tta cca gtg acc gcc ttg ctc ctg ccg ctg gcc ttg ctg ctc 48

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

1 5 10 15

cac gcc gcc agg ccg gga tcc cag gta caa ctg cag cag tct ggg cct 96

His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro

20 25 30

gag ctg gag aag cct ggc gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct 144

Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser

35 40 45

ggt tac tca ttc act ggc tac acc atg aac tgg gtg aag cag agc cat 192

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His

50 55 60

gga aag agc ctt gag tgg att gga ctt att act cct tac aat ggt gct 240

Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala

65 70 75 80

tct agc tac aac cag aag ttc agg ggc aag gcc aca tta act gta gac 288

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

85 90 95

aag tca tcc agc aca gcc tac atg gac ctc ctc agt ctg aca tct gaa 336

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu

100 105 110

gac tct gca gtc tat ttc tgt gca agg ggg ggt tac gac ggg agg ggt 384

Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly

115 120 125

ttt gac tac tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gga 432

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

ggc ggt tca ggc ggc ggt ggc tct agc ggt ggt gga tcg gac atc gag 480

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu

145 150 155 160

ctc act cag tct cca gca atc atg tct gca tct cca ggg gag aag gtc 528

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

165 170 175

acc atg acc tgc agt gcc agc tca agt gta agt tac atg cac tgg tac 576

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr

180 185 190

cag cag aag tca ggc acc tcc ccc aaa aga tgg att tat gac aca tcc 624

Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser

195 200 205

aaa ctg gct tct gga gtc cca ggt cgc ttc agt ggc agt ggg tct gga 672

Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210 215 220

aac tct tac tct ctc aca atc agc agc gtg gag gct gaa gat gat gca 720

Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala

225 230 235 240

act tat tac tgc cag cag tgg agt aag cac cct ctc acg tac ggt gct 768

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala

245 250 255

ggg aca aag ttg gaa atc aaa gct agc ggt ggc gga ggt tct gga ggt 816

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

260 265 270

ggg ggt tcc tca ccc act gaa cca agc tcc aaa acc ggt aac ccc aga 864

Gly Gly Ser Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg

275 280 285

cac ctg cat gtt ctg att ggg acc tca gtg gtc aaa atc cct ttc acc 912

His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro Phe Thr

290 295 300

atc ctc ctc ttc ttt ctc ctt cat cgc tgg tgc tcc aac aaa aaa aat 960

Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn

305 310 315 320

gct gct gta atg gac caa gag cct gca ggg aac aga aca gtg aac agc 1008

Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser

325 330 335

gag gat tct gat gaa caa gac cat cag gag gtg tca tac gca taa 1053

Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala

340 345 350

<210> 349

<211> 350

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 349

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 Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro

20 25 30

Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser

35 40 45

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His

50 55 60

Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu

100 105 110

Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly

115 120 125

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr

180 185 190

Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser

195 200 205

Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210 215 220

Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala

225 230 235 240

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala

245 250 255

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

260 265 270

Gly Gly Ser Ser Pro Thr Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg

275 280 285

His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro Phe Thr

290 295 300

Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn

305 310 315 320

Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser

325 330 335

Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala

340 345 350

<210> 350

<211> 1698

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> CDS

<222> (1)..(1695)

<400> 350

atg gcc tta cca gtg acc gcc ttg ctc ctg ccg ctg gcc ttg ctg ctc 48

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

1 5 10 15

cac gcc gcc agg ccg gga tcc cag gta caa ctg cag cag tct ggg cct 96

His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro

20 25 30

gag ctg gag aag cct ggc gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct 144

Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser

35 40 45

ggt tac tca ttc act ggc tac acc atg aac tgg gtg aag cag agc cat 192

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His

50 55 60

gga aag agc ctt gag tgg att gga ctt att act cct tac aat ggt gct 240

Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala

65 70 75 80

```
tct agc tac aac cag aag ttc agg ggc aag gcc aca tta act gta gac        288

Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp
                85                  90                  95
aag tca tcc agc aca gcc tac atg gac ctc ctc agt ctg aca tct gaa        336
Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu
            100                 105                 110
gac tct gca gtc tat ttc tgt gca agg ggg ggt tac gac ggg agg ggt        384
Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly

        115                 120                 125
ttt gac tac tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gga        432
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    130                 135                 140
ggc ggt tca ggc ggc ggt ggc tct agc ggt ggt gga tcg gac atc gag        480
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu
145                 150                 155                 160

ctc act cag tct cca gca atc atg tct gca tct cca ggg gag aag gtc        528
Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val
                165                 170                 175
acc atg acc tgc agt gcc agc tca agt gta agt tac atg cac tgg tac        576
Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr
            180                 185                 190
cag cag aag tca ggc acc tcc ccc aaa aga tgg att tat gac aca tcc        624

Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser
        195                 200                 205
aaa ctg gct tct gga gtc cca ggt cgc ttc agt ggc agt ggg tct gga        672
Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
    210                 215                 220
aac tct tac tct ctc aca atc agc agc gtg gag gct gaa gat gat gca        720
Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala
```

```
225                 230                 235                 240

act tat tac tgc cag cag tgg agt aag cac cct ctc acg tac ggt gct        768
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala

                245                 250                 255

ggg aca aag ttg gaa atc aaa gct agc acg cgt ggt ggc gga ggt tct        816
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ala Ser Thr Arg Gly Gly Gly Gly Ser

            260                 265                 270


gga ggt ggg ggt tcc cag ggg gcc tgg cca cat gag gga gtc cac aga        864
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg

        275                 280                 285

aaa cct tcc ctc ctg gcc cac cca ggt ccc ctg gtg aaa tca gaa gag        912
Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Glu Glu

    290                 295                 300

aca gtc atc ctg caa tgt tgg tca gat gtc agg ttt gag cac ttc ctt        960


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

305                 310                 315                 320

ctg cac aga gag ggg aag tat aag gac act ttg cac ctc att gga gag       1008
Leu His Arg Glu Gly Lys Tyr Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu

                325                 330                 335

cac cat gat ggg gtc tcc aag gcc aac ttc tcc atc ggt ccc atg atg       1056
His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met


            340                 345                 350

caa gac ctt gca ggg acc tac aga tgc tac ggt tct gtt act cac tcc       1104
Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser

        355                 360                 365

ccc tat cag ttg tca gct ccc agt gac cct ctg gac atc gtc atc aca       1152
Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr

    370                 375                 380


ggt cta tat gag aaa cct tct ctc tca gcc cag ccg ggc ccc acg gtt       1200
Gly Leu Tyr Glu Lys Pro Ser Leu Ser Ala Gln Pro Gly Pro Thr Val

385                 390                 395                 400
```

ttg gca gga gag agc gtg acc ttg tcc tgc agc tcc cgg agc tcc tat 1248
Leu Ala Gly Glu Ser Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr
405 410 415
gac atg tac cat cta tcc agg gag ggg gag gcc cat gaa cgt agg ttc 1296

Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Phe
420 425 430
tct gca ggg ccc aag gtc aac gga aca ttc cag gcc gac ttt cct ctg 1344
Ser Ala Gly Pro Lys Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu
435 440 445
ggc cct gcc acc cac gga gga acc tac aga tgc ttc ggc tct ttc cgt 1392
Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg

450 455 460
gac tct ccc tat gag tgg tca aac tcg agt gac cca ctg ctt gtt tct 1440
Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser
465 470 475 480
gtc aca gga aac cct tca aat agt tgg cct tca ccc act gaa cca agc 1488
Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser
485 490 495

tcc aaa acc ggt aac ccc aga cac ctg cat gtt ctg att ggg acc tca 1536
Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser
500 505 510
gtg gtc aaa atc cct ttc acc atc ctc ctc ttc ttt ctc ctt cat cgc 1584
Val Val Lys Ile Pro Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg
515 520 525
tgg tgc tcc aac aaa aaa aat gct gct gta atg gac caa gag cct gca 1632

Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala
530 535 540
ggg aac aga aca gtg aac agc gag gat tct gat gaa caa gac cat cag 1680
Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln
545 550 555 560
gag gtg tca tac gca taa 1698

Glu Val Ser Tyr Ala

565

<210> 351

<211> 565

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 351

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 Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro
20 25 30

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

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

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

165 170 175

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr

180 185 190

Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser

195 200 205

Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210 215 220

Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala

225 230 235 240

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala

245 250 255

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

260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Gly Ala Trp Pro His Glu Gly Val His Arg

275 280 285

Lys Pro Ser Leu Leu Ala His Pro Gly Pro Leu Val Lys Ser Glu Glu

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu His Arg Glu Gly Lys Tyr Lys Asp Thr Leu His Leu Ile Gly Glu

325 330 335

His His Asp Gly Val Ser Lys Ala Asn Phe Ser Ile Gly Pro Met Met

340 345 350

Gln Asp Leu Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Val Thr His Ser

355 360 365

Pro Tyr Gln Leu Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Val Ile Thr

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Ala Gly Glu Ser Val Thr Leu Ser Cys Ser Ser Arg Ser Ser Tyr

405 410 415

Asp Met Tyr His Leu Ser Arg Glu Gly Glu Ala His Glu Arg Arg Phe
420 425 430
Ser Ala Gly Pro Lys Val Asn Gly Thr Phe Gln Ala Asp Phe Pro Leu
435 440 445
Gly Pro Ala Thr His Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Phe Gly Ser Phe Arg
450 455 460
Asp Ser Pro Tyr Glu Trp Ser Asn Ser Ser Asp Pro Leu Leu Val Ser
465 470 475 480

Val Thr Gly Asn Pro Ser Asn Ser Trp Pro Ser Pro Thr Glu Pro Ser
485 490 495
Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser
500 505 510
Val Val Lys Ile Pro Phe Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg
515 520 525
Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala
530 535 540

Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln
545 550 555 560
Glu Val Ser Tyr Ala
565

<210> 352
<211> 1035
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"
<220><221> CDS
<222> (1)..(1032)
<400> 352
atg gcc tta cca gtg acc gcc ttg ctc ctg ccg ctg gcc ttg ctg ctc 48
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

```
1               5                   10                  15
cac gcc gcc agg ccg gga tcc cag gta caa ctg cag cag tct ggg cct  96
His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro
            20                  25                  30
gag ctg gag aag cct ggc gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct 144
Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser
        35                  40                  45

ggt tac tca ttc act ggc tac acc atg aac tgg gtg aag cag agc cat 192
Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His
    50                  55                  60
gga aag agc ctt gag tgg att gga ctt att act cct tac aat ggt gct 240
Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala
65                  70                  75                  80
tct agc tac aac cag aag ttc agg ggc aag gcc aca tta act gta gac 288
Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp
                85                  90                  95
aag tca tcc agc aca gcc tac atg gac ctc ctc agt ctg aca tct gaa 336
Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu
            100                 105                 110
gac tct gca gtc tat ttc tgt gca agg ggg ggt tac gac ggg agg ggt 384
Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly

        115                 120                 125
ttt gac tac tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gga 432
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    130                 135                 140
ggc ggt tca ggc ggc ggt ggc tct agc ggt ggt gga tcg gac atc gag 480
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu
145                 150                 155                 160

ctc act cag tct cca gca atc atg tct gca tct cca ggg gag aag gtc 528
Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val
                165                 170                 175
```

acc atg acc tgc agt gcc agc tca agt gta agt tac atg cac tgg tac 576
Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr
180 185 190
cag cag aag tca ggc acc tcc ccc aaa aga tgg att tat gac aca tcc 624

Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser
195 200 205
aaa ctg gct tct gga gtc cca ggt cgc ttc agt ggc agt ggg tct gga 672
Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
aac tct tac tct ctc aca atc agc agc gtg gag gct gaa gat gat gca 720
Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala

225 230 235 240
act tat tac tgc cag cag tgg agt aag cac cct ctc acg tac ggt gct 768
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala
245 250 255
ggg aca aag ttg gaa atc aaa gct agc ggt ggc gga ggt tct gga ggt 816
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
260 265 270

ggg ggt tcc tta acc aca gag acg gga ctc cag aaa gac cat gcc ctc 864
Gly Gly Ser Leu Thr Thr Glu Thr Gly Leu Gln Lys Asp His Ala Leu
275 280 285
tgg gat cac act gcc cag aat ctc ctt cgg atg ggc ctg gcc ttt cta 912
Trp Asp His Thr Ala Gln Asn Leu Leu Arg Met Gly Leu Ala Phe Leu
290 295 300
gtc ctg gtg gct cta gtg tgg ttc ctg gtt gaa gac tgg ctc agc agg 960

Val Leu Val Ala Leu Val Trp Phe Leu Val Glu Asp Trp Leu Ser Arg
305 310 315 320
aag agg act aga gag cga gcc agc aga gct tcc act tgg gaa ggc agg 1008
Lys Arg Thr Arg Glu Arg Ala Ser Arg Ala Ser Thr Trp Glu Gly Arg
325 330 335
aga agg ctg aac aca cag act ctt tga 1035

Arg Arg Leu Asn Thr Gln Thr Leu

340

<210> 353

<211> 344

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 353

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 Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro
20 25 30

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

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

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

165 170 175

Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr

180 185 190

Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser

195 200 205

Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210 215 220

Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala

225 230 235 240

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala

245 250 255

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

260 265 270

Gly Gly Ser Leu Thr Thr Glu Thr Gly Leu Gln Lys Asp His Ala Leu

275 280 285

Trp Asp His Thr Ala Gln Asn Leu Leu Arg Met Gly Leu Ala Phe Leu

290 295 300

Val Leu Val Ala Leu Val Trp Phe Leu Val Glu Asp Trp Leu Ser Arg

305 310 315 320

Lys Arg Thr Arg Glu Arg Ala Ser Arg Ala Ser Thr Trp Glu Gly Arg

325 330 335

Arg Arg Leu Asn Thr Gln Thr Leu

340

<210> 354

<211> 1194

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> CDS

<222> (1)..(1191)

<400> 354

atg gcc tta cca gtg acc gcc ttg ctc ctg ccg ctg gcc ttg ctg ctc 48
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

cac gcc gcc agg ccg gga tcc cag gta caa ctg cag cag tct ggg cct 96
His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro

20 25 30

gag ctg gag aag cct ggc gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct 144
Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser
35 40 45

ggt tac tca ttc act ggc tac acc atg aac tgg gtg aag cag agc cat 192
Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His
50 55 60

gga aag agc ctt gag tgg att gga ctt att act cct tac aat ggt gct 240
Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala
65 70 75 80

tct agc tac aac cag aag ttc agg ggc aag gcc aca tta act gta gac 288
Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp
85 90 95

aag tca tcc agc aca gcc tac atg gac ctc ctc agt ctg aca tct gaa 336

Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu
100 105 110

gac tct gca gtc tat ttc tgt gca agg ggg ggt tac gac ggg agg ggt 384
Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly
115 120 125

ttt gac tac tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gga 432
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

130 135 140

ggc ggt tca ggc ggc ggt ggc tct ggc ggt ggc gga tcg gac atc gag 480
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu
145 150 155 160

```
ctc act cag tct cca gca atc atg tct gca tct cca ggg gag aag gtc        528
Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val
                165                 170                 175

acc atg acc tgc agt gcc agc tca agt gta agt tac atg cac tgg tac        576
Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr
            180                 185                 190
cag cag aag tca ggc acc tcc ccc aaa aga tgg att tat gac aca tcc        624
Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser
        195                 200                 205
aaa ctg gct tct gga gtc cca ggt cgc ttc agt ggc agt ggg tct gga        672

Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
    210                 215                 220
aac tct tac tct ctc aca atc agc agc gtg gag gct gaa gat gat gca        720
Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala
225                 230                 235                 240
act tat tac tgc cag cag tgg agt ggt tac cct ctc acg ttc ggt gct        768
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala

                245                 250                 255
ggg aca aag ttg gaa atc aaa ggt gga gac tac aag gac gac gac gac        816
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp
            260                 265                 270
aag gct agc ggt ggc gga ggt tct gga ggt ggg ggt tcc tca ccc act        864
Lys Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Pro Thr
        275                 280                 285

gaa cca agc tcc gaa acc ggt aac ccc aga cac ctg cat gtt ctg att        912
Glu Pro Ser Ser Glu Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His Val Leu Ile
    290                 295                 300
ggg acc tca gtg gtc atc atc ctc ttc atc ctc ctc ctc ttc ttt ctc        960
Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu Phe Ile Leu Leu Leu Phe Phe Leu
305                 310                 315                 320
```

ctt cat cgc tgg tgc tgc aac aaa aaa aat gct gtt gta atg gac caa 1008

Leu His Arg Trp Cys Cys Asn Lys Lys Asn Ala Val Val Met Asp Gln
325 330 335

gag cct gca ggg aac aga aca gtg aac agg gag gac tct gat gaa caa 1056
Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln
340 345 350

gac cct cag gag gtg aca tat gca cag ttg aat cac tgc gtt ttc aca 1104
Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asn His Cys Val Phe Thr

355 360 365

cag aga aaa atc act cac cct tct cag agg ccc aag aca ccc cca aca 1152
Gln Arg Lys Ile Thr His Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr
370 375 380

gat atc atc gtg tac acg gaa ctt cca aat gct gag ccc tga 1194
Asp Ile Ile Val Tyr Thr Glu Leu Pro Asn Ala Glu Pro
385 390 395

<210> 355
<211> 397
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 355
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 Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro
20 25 30
Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser
35 40 45

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His
50 55 60

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

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

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

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

Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu Phe Ile Leu Leu Leu Phe Phe Leu

305 310 315 320

Leu His Arg Trp Cys Cys Asn Lys Lys Asn Ala Val Val Met Asp Gln

325 330 335

Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln

340 345 350

Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asn His Cys Val Phe Thr

355 360 365

Gln Arg Lys Ile Thr His Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr

370 375 380

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

385 390 395

<210> 356

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 356

ggtggcggag gttctggagg tgggggttcc 30

<210> 357

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 357

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

1 5 10 15

Phe Phe Leu Leu

20

<210> 358

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 358

Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile Ile Leu Phe Ile Leu Leu Leu

1 5 10 15

Phe Phe Leu Leu

20

<210> 359

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 359

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

1 5 10 15

Phe Leu Val Glu Asp Trp Leu Ser

20

<210> 360

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 360

His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu

1 5 10 15

Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp
20 25 30
His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
35

<210> 361
<211> 76
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 361
His Arg Trp Cys Cys Asn Lys Lys Asn Ala Val Val Met Asp Gln Glu
1 5 10 15
Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp
20 25 30
Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asn His Cys Val Phe Thr Gln
35 40 45

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

<210> 362
<211> 25
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 362
Arg Lys Arg Thr Arg Glu Arg Ala Ser Arg Ala Ser Thr Trp Glu Gly
1 5 10 15

Arg Arg Arg Leu Asn Thr Gln Thr Leu

20 25

<210> 363

<211> 1056

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 363

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccgggatccc aagtccaact cgttcaatca ggcgcagaag tcgaaaagcc cggagcatca 120

gtcaaagtct cttgcaaggc ttccggctac accttcacgg actactacat gcactgggtg 180

cgccaggctc caggccaggg actggagtgg atgggatgga tcaacccgaa ttccggggga 240

actaactacg cccagaagtt tcagggccgg gtgactatga ctcgcgatac ctcgatctcg 300

actgcgtaca tggagctcag ccgcctccgg tcggacgata ccgccgtgta ctattgtgcg 360

tcgggatggg acttcgacta ctgggggcag ggcactctgg tcactgtgtc aagcggagga 420

ggtggatcag gtggaggtgg aagcgggggga ggaggttccg gcggcggagg atcagatatc 480

gtgatgacgc aatcgccttc ctcgttgtcc gcatccgtgg gagacagggt gaccattact 540

tgcagagcgt cccagtccat tcggtactac ctgtcgtggt accagcagaa gccggggaaa 600

gccccaaaac tgcttatcta tactgcctcg atcctccaaa acggcgtgcc atcaagattc 660

agcggttcgg gcagcgggac cgactttacc ctgactatca gcagcctgca gccggaagat 720

ttcgccacgt actactgcct gcaaacctac accaccccgg acttcggacc tggaaccaag 780

gtggagatca aggctagcgg tggcggaggt tctggaggtg ggggttcctc acccactgaa 840

ccaagctcca aaaccggtaa ccccagacac ctgcatgttc tgattgggac ctcagtggtc 900

aaaatccctt tcaccatcct cctcttcttt ctccttcatc gctggtgctc caacaaaaaa 960

aatgctgctg taatggacca agagcctgca gggaacagaa cagtgaacag cgaggattct 1020

gatgaacaag accatcagga ggtgtcatac gcataa 1056

<210> 364

<211> 351

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 364

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 Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala
20 25 30

Glu Val Glu Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
35 40 45

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
50 55 60

Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly
65 70 75 80

Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp
85 90 95

Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp
100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Trp Asp Phe Asp Tyr Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
145 150 155 160

Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
165 170 175

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Tyr Tyr Leu Ser
180 185 190

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr
195 200 205

Ala Ser Ile Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
210 215 220

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
225 230 235 240

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

Thr Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys
305 310 315 320
Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn
325 330 335
Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
340 345 350

<210> 365
<211> 1467
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"
<400> 365
atgggggggac ttgaaccctg cagcaggttc ctgctcctgc ctctcctgct ggctgtaagt 60
ggtctccgtc ctgtccaggt ccaggcccag agcgattgca gttgctctac ggtgagcccg 120
ggcgtgctgg cagggatcgt gatgggagac ctggtgctga cagtgctcat tgccctggcc 180
gtgtacttcc tgggccggct ggtccctcgg gggcgagggg ctgcggaggc agcgacccgg 240
aaacagcgta tcactgagac cgagtcgcct tatcaggagc tccagggtca gaggtcggat 300
gtctacagcg acctcaacac acagaggccg tattacaaat ccggaggcag cggagagggc 360
agaggaagtc ttctaacatg cggtgacgtg gaggagaatc ccggccctag gatggcctta 420

ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc ttgctgctcc acgccgccag gccgggatcc 480

caagtccaac tcgttcaatc aggcgcagaa gtcgaaaagc ccggagcatc agtcaaagtc 540

tcttgcaagg cttccggcta caccttcacg gactactaca tgcactgggt gcgccaggct 600

ccaggccagg gactggagtg gatgggatgg atcaacccga attccggggg aactaactac 660

gcccagaagt ttcagggccg ggtgactatg actcgcgata cctcgatctc gactgcgtac 720

atggagctca gccgcctccg gtcggacgat accgccgtgt actattgtgc gtcgggatgg 780

gacttcgact actgggggca gggcactctg gtcactgtgt caagcggagg aggtggatca 840

ggtggaggtg gaagcggggg aggaggttcc ggcggcggag gatcagatat cgtgatgacg 900

caatcgcctt cctcgttgtc cgcatccgtg ggagacaggg tgaccattac ttgcagagcg 960

tcccagtcca ttcggtacta cctgtcgtgg taccagcaga agccggggaa agccccaaaa 1020

ctgcttatct atactgcctc gatcctccaa aacggcgtgc catcaagatt cagcggttcg 1080

ggcagcggga ccgactttac cctgactatc agcagcctgc agccggaaga tttcgccacg 1140

tactactgcc tgcaaaccta caccaccccg gacttcggac ctggaaccaa ggtggagatc 1200

aaggctagcg gtggcggagg ttctggaggt gggggttcct cacccactga accaagctcc 1260

aaaaccggta accccagaca cctgcatgtt ctgattggga cctcagtggt caaaatccct 1320

ttcaccatcc tcctcttctt tctccttcat cgctggtgct ccaacaaaaa aaatgctgct 1380

gtaatggacc aagagcctgc agggaacaga acagtgaaca gcgaggattc tgatgaacaa 1440

gaccatcagg aggtgtcata cgcataa 1467

<210> 366

<211> 488

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 366

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Phe Leu Leu Leu Pro Leu Leu

1 5 10 15

Leu Ala Val Ser Gly Leu Arg Pro Val Gln Val Gln Ala Gln Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

```
Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu
    50                  55                  60
Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala Glu Ala Ala Thr Arg

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

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

        195                 200                 205
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    210                 215                 220
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
225                 230                 235                 240
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                245                 250                 255
Ala Ser Gly Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu 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 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser
```

290 295 300

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala

305 310 315 320

Ser Gln Ser Ile Arg Tyr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly

325 330 335

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Ser Ile Leu Gln Asn Gly

340 345 350

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

355 360 365

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu

370 375 380

Gln Thr Tyr Thr Thr Pro Asp Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile

385 390 395 400

Lys Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Pro Thr

405 410 415

Glu Pro Ser Ser Lys Thr Gly Asn Pro Arg His Leu His Val Leu Ile

420 425 430

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

435 440 445

Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln

450 455 460

Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln

465 470 475 480

Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala

485

<210> 367

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 367

atgggggggac ttgaaccctg cagcaggttc ctgctcctgc ctctcctgct ggctgtaagt 60

ggtctccgtc ctgtccaggt ccaggcccag agcgattgca gttgctctac ggtgagcccg 120

ggcgtgctgg cagggatcgt gatgggagac ctggtgctga cagtgctcat tgccctggcc 180

gtgtacttcc tgggccggct ggtccctcgg gggcgagggg ctgcggaggc agcgacccgg 240

aaacagcgta tcactgagac cgagtcgcct tatcaggagc tccagggtca gaggtcggat 300

gtctacagcg acctcaacac acagaggccg tattacaaat ga 342

<210> 368

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 368

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Phe Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ala Val Ser Gly Leu Arg Pro Val Gln Val Gln Ala Gln Ser Asp
20 25 30

Cys Ser Cys Ser Thr Val Ser Pro Gly Val Leu Ala Gly Ile Val Met
35 40 45

Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu
50 55 60

Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala Glu Ala Ala Thr Arg
65 70 75 80

Lys Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr Gln Glu Leu Gln Gly
85 90 95

Gln Arg Ser Asp Val Tyr Ser Asp Leu Asn Thr Gln Arg Pro Tyr Tyr
100 105 110

Lys

<210> 369

<211> 261

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polynucleotide"

<400> 369

atgattccag cagtggtctt gctcttactc cttttggttg aacaagcagc ggccctggga 60

gagcctcagc tctgctatat cctggatgcc atcctgtttc tgtatggaat tgtcctcacc 120

ctcctctact gccgactgaa gatccaagtg cgaaaggcag ctataaccag ctatgagaaa 180

tcagatggtg tttacacggg cctgagcacc aggaaccagg agacttacga gactctgaag 240

catgagaaac caccacagta g 261

<210> 370

<211> 86

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 370

Met Ile Pro Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Val Glu Gln Ala
1 5 10 15

Ala Ala Leu Gly Glu Pro Gln Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu
20 25 30

Phe Leu Tyr Gly Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile
35 40 45

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

Tyr Thr Gly Leu Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu Thr Leu Lys
65 70 75 80

His Glu Lys Pro Pro Gln
85

<210> 371

<211> 59

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 371

Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Lys Ile Pro Phe Thr Ile Leu Leu
1 5 10 15

Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val
20 25 30

Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg Thr Val Asn Ser Glu Asp Ser
35 40 45

Asp Glu Gln Asp His Gln Glu Val Ser Tyr Ala
50 55

<210> 372

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic 12xHis tag"

<400> 372

His His His His His His His His His His His His
1 5 10