

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2021-0112310
(43) 공개일자 2021년09월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 5/0783 (2010.01) *A61K 35/17* (2014.01)
A61K 39/00 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 14/725* (2006.01)
C07K 16/08 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12N 5/0636 (2013.01)
A61K 35/17 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7019705
(22) 출원일자(국제) 2019년12월05일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년06월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/064757
(87) 국제공개번호 WO 2020/118094
국제공개일자 2020년06월11일
(30) 우선권주장
62/776,012 2018년12월06일 미국(US)
- (71) 출원인
광동 티씨알큐어 바이오파마 테크놀로지 씨오., 엘티디.
중국, 광저우, 난샤 디스트릭트, 주지앙 애비뉴, 난지앙 세컨드 로드, 넘버 6, 빌딩 12
티씨알큐어 바이오파마 코퍼레이션
미국, 노스 캐롤라이나 27515, 채플 힐, 피.오. 박스 2403
- (72) 발명자
리 시
미국, 캘리포니아 91801, 알함브라, 아파트 디, 엔 4쓰 스트리트 134
왕 핀
미국, 캘리포니아 90024, 로스앤젤레스, 윌킨스 애비뉴 #6, 10661
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
강명구

전체 청구항 수 : 총 59 항

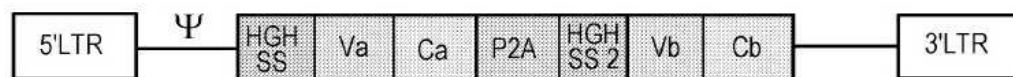
(54) 발명의 명칭 **종양 항원, TGF-베타 및 면역체크포인트를 표적으로 하는 TCR-T 세포 복합 치료법**

(57) 요약

요약서

본 명세서는 종양 항원을 인지하고, 동시에 면역 체크포인트 분자 및 TGF β 를 차단시키는 결합 단백질을 분비하는 유전적으로 조작된 TCR-T 세포에 관계한다. 이들 조작된 T 세포는 더 강력한 항종양 반응과 감소된 T 세포 고갈을 나타낸다. 본 명세서는 그 중에서도 HPV- 또는 EBV-양성 암에 대항하는 면역치료요법을 제공한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 39/0011 (2021.08)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 14/7051 (2013.01)

C07K 16/085 (2013.01)

A61K 2039/5156 (2013.01)

A61K 2039/5158 (2013.01)

C12N 2510/00 (2013.01)

(72) 발명자

브라이슨 폴

미국, 캘리포니아 91801, 알함브라, 엘 몰리노 스트리트 엔 401

알렉산더 피터

미국, 노스 캐롤라이나 27707, 더럼, 웰스 스트리트 1022

첸 루이

미국, 노스 캐롤라이나 27705, 더럼, 리딩턴 디알 4104

명세서

청구범위

청구항 1

항-LMP2 TCR을 인코딩하는 핵산을 포함하는 조작된 T 세포에 있어서,
이때 상기 항-LMP2 TCR은 종양에서 LMP2에 특이적으로 결합하는 유전적으로 조작된 T 세포 수용체를 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 이때 상기 항-LMP2 TCR은 아미노산 서열 식별 번호:1의 알파쇄 CDR1 (위치 27-32), CDR2 (위치 50-56), CDR3 (위치 90-101) 및 아미노산 서열 식별 번호:2의 베타쇄 CDR1 (위치 27-31), CDR2 (위치 49-54), CDR3 (위치 92-106)를 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 이때 상기 항-LMP2 TCR은 서열 식별 번호:1을 포함하는 알파쇄 가변 도메인과 서열 식별 번호:2의 베타쇄 가변 도메인을 포함하는, 서열 식별 번호:2, 조작된 T 세포.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 이때 상기 핵산은 서열 식별 번호:3과 서열 식별 번호:4를 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 이때 상기 항-LMP2 TCR은 아미노산 서열 식별 번호:5의 알파쇄 CDR1 (위치 25-30), CDR2 (위치 48-54), CDR3 (위치 89-100)와 아미노산 서열 식별 번호:6의 베타쇄 CDR1 (위치 25-29), CDR2 (위치 47-52), CDR3 (위치 91-103)를 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 이때 상기 항-LMP2 TCR은 아미노산 서열 식별 번호:5를 포함하는 알파쇄 가변 도메인과 아미노산 서열 식별 번호:6을 포함하는 베타쇄 가변 도메인을 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 이때 상기 핵산은 서열 식별 번호:7과 서열 식별 번호:8을 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 이때 상기 항-LMP2 TCR은 아미노산 서열 식별 번호:9의 알파쇄 CDR1 (위치 32-37), CDR2 (위치 55-61), CDR3 (위치 96-108)과 아미노산 서열 식별 번호:10의 베타쇄 CDR1 (위치 25-29), CDR2 (위치 47-52), CDR3 (위치 90-105)을 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 이때 상기 항-LMP2 TCR은 아미노산 서열 식별 번호:9를 포함하는 알파쇄 가변 도메인과 아미노산 서열 식별 번호:10을 포함하는 베타쇄 가변 도메인을 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 10

청구항 1에 있어서, 이때 상기 핵산은 서열 식별 번호:11과 서열 식별 번호:12를 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 11

청구항 1에 있어서, 이때 상기 항-LMP2 TCR은 구성적으로 발현되는, 조작된 T 세포.

청구항 12

청구항 1에 있어서, 종양에서 억제성 수용체의 기능 또는 발현을 감소시키는 억제성 단백질을 더 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 이때 상기 억제성 단백질은 면역 체크포인트 억제제인, 조작된 T 세포.

청구항 14

청구항 1-13중 임의의 한 항에 따른 조작된 T 세포 및 약제학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 15

이를 필요로 하는 대상체에게 청구항 14의 치료요법적 유효량의 세포를 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법.

청구항 16

청구항 15에 있어서 이때 상기 암은 비인두 암종, 호지킨 림프종, 버킷 림프종, 또는 위암인, 방법.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 상기 대상체에게 화학치료요법 또는 방사선을 포함하는 기존 치료요법의 치료요법적 유효량을 투여하는 것을 더 포함하는, 방법.

청구항 18

청구항 17에 있어서, 이때 상기 세포와 기존 치료요법은 연속적으로 또는 동시에 투여되는, 방법.

청구항 19

다음을 인코딩하는 핵산을 포함하는 조작된 T 세포:

- (a) 종양에 있는 항원에 특이적으로 결합하는 유전적으로 조작된 T 세포 수용체;
- (b) 종양에서 면역 체크포인트의 기능 또는 발현을 감소시키는 억제성 단백질; 그리고
- (c) 형질변환 성장 인자 베타 패밀리 (TGF- β)의 구성원에 결합하는 단백질.

청구항 20

청구항 19에 있어서, 이때 상기 면역 체크포인트는 하나 또는 그 이상의 PD1, PD-L1 및 CTLA-4를 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 21

청구항 19에 있어서, 이때 종양에서 항원은 인간 유두종바이러스 (HPV) 또는 Epstein-Barr 바이러스 (EBV) 항원을 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 22

청구항 21에 있어서, 이때 상기 유전적으로 조작된 T 세포 수용체는 항-LMP2 TCR인, 조작된 T 세포.

청구항 23

청구항 21에 있어서, 이때 상기 유전적으로 조작된 T 세포 수용체는 항-E6 TCR인, 조작된 T 세포.

청구항 24

청구항 19 -23중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 결합 단백질은 TGF β RII의 세포외 도메인을 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 25

청구항 22에 있어서, 이때 상기 항-LMP2 TCR 은서열 식별 번호:1의 알파쇄 가변 도메인, 그리고 서열 식별 번호:2의 베타쇄 가변 도메인을 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 26

청구항 22에 있어서, 이때 상기 유전적으로 조작된 항원 수용체를 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호:3과 서열 식별 번호:4를 포함하는, 조작된 T 세포.

청구항 27

청구항 19-26중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 유전적으로 조작된 TCR은 구성적으로 발현되는, 조작된 T 세포.

청구항 28

청구항 27에 있어서, 이때 TGF- β 를 표적으로 하는 결합 단백질이 구성적으로 발현되는, 조작된 T 세포.

청구항 29

청구항 19에 따른 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 30

청구항 29에 있어서, 이때 상기 벡터는 레트로바이러스 벡터인, 벡터.

청구항 31

청구항 19-28중 임의의 한 항에 따른 조작된 T 세포와 약제학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 32

이를 필요로 하는 대상체에게 청구항 31의 치료요법적 유효량의 세포를 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법.

청구항 33

청구항 32에 있어서, 이때 상기 암은 비인두암종, 호지킨 림프종, 버킷 림프종, 또는 위암인, 방법.

청구항 34

청구항 32에 있어서, 이때 상기 암은 자궁 경부암, 항문암, 구인두암 또는 생식기관암인, 방법.

청구항 35

청구항 33-34중 임의의 한 항에 있어서, 상기 대상체에게 화학치료요법 또는 방사선을 포함하는 기존 치료요법의 치료요법적 유효량을 투여하는 것을 더 포함하는, 방법.

청구항 36

청구항 35에 있어서, 이때 상기 세포와 기존 치료요법은 연속적으로 또는 동시에 투여되는, 방법.

청구항 37

청구항 19-28중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 종양은 바이러스-연합된 종양인, 방법.

청구항 38

가변 알파 (Va) 영역을 포함하는 알파쇄 및 가변 베타 (Vb) 영역을 포함하는 베타쇄를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 또는 이의 항원-결합 단편에 있어서, 이때:

(1) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호:1의 상보성 결정 영역 1 (CDR1), 상보성 결정 영역 2 (CDR2), 및 상보

성 결정 영역 3 (CDR3)을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 2의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고;

(2) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 5의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, CDR3을 포함하고, 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 6의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고; 또는

(3) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 9의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, CDR3을 포함하고, 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 10의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다.

청구항 39

청구항 38에 있어서, 이때

(1) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 17-19의 아미노산을 포함하는, CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, 그리고 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 20-22의 아미노산을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고;

(2) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 23-25의 아미노산을 포함하는, CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, 그리고 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 26-28의 아미노산을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고;

(3) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 29-31의 아미노산을 포함하는, CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, 그리고 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 32-34의 아미노산, 위치 25-29의 아미노산을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다.

청구항 40

청구항 38에 있어서, 이때:

상기 Va 영역은 서열 식별 번호: 1, 5, 또는 9중 임의의 서열로 제시된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고

상기 Vb 영역은 서열 식별 번호: 2, 6, 또는 10중 임의의 서열로 제시된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, TCR 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 41

청구항 38-40중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 TCR 또는 이의 항원-결합 단편이 펩티드 에피토프, LMP2 (LLWTLVLL) (서열 식별 번호: 16)에 결합하거나, 또는 이를 인지하는, TCR 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 42

청구항 38-41중 임의의 한 항에 있어서, 이때, 상기 TCR 또는 이의 항원-결합 단편이 T 세포의 표면 상에서 발현될 때, 표적 암 세포에 대항하는 세포독성을 자극하고, 이때 임의선택적으로 상기 표적 암 세포는 EBV DNA 서열을 함유하거나, 또는 LMP2를 발현시키는, TCR 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 43

청구항 38-42중 임의의 한 항에 따른 TCR 또는 이의 항원-결합 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 44

청구항 43에 있어서, 이때 상기 벡터는 발현 벡터, 바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 또는 렌티바이러스 벡터인, 벡터.

청구항 45

청구항 43-44중 임의의 하나에 따른 벡터를 포함하는 조작된 세포.

청구항 46

청구항 38-42중 임의의 한 항에 따른 TCR 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 조작된 세포.

청구항 47

청구항 46에 있어서, 이때 상기 TCR 또는 이의 항원 결합 단편은 해당 세포에 이질성인, 조작된 세포.

청구항 48

청구항 45-47중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 조작된 세포는 세포주인, 조작된 세포.

청구항 49

청구항 45-47중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 조작된 세포는 대상체(가령, 인간 대상체)로부터 구한 원발성 세포인, 조작된 세포.

청구항 50

청구항 45-47중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 조작된 세포는 T 세포인, 조작된 세포.

청구항 51

청구항 50에 있어서, 이때 상기 T 세포는 CD8+인, 조작된 세포.

청구항 52

청구항 50에 있어서, 이때 상기 T 세포는 CD4+인, 조작된 세포.

청구항 53

청구항 43 또는 44의 백터를 시험관내에서 또는 생체외에서 세포로 도입시키는 것을 포함하는 조작된 세포를 만드는 방법.

청구항 54

청구항 53에 있어서, 이때 상기 백터는 바이러스 백터이며, 상기 도입은 형질도입에 의해 실행되는, 방법.

청구항 55

청구항 45-52중 임의의 한 항에 따른 조작된 세포를 있어서 EBV와 연관된 질환 또는 장애를 갖고 있는 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

청구항 56

청구항 55에 있어서, 이때 EBV와 연관된 질환 또는 장애는 암인, 방법.

청구항 57

대상체의 종양을 치료하는 방법에 있어서, 이 방법은

이를 필요로 하는 대상체에게 다음을 투여하는 것을 포함하는 방법:

(a) 종양에 있는 항원에 특이적으로 결합하는 TCR 또는 이의 항원-결합 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 조작된 T 세포; 그리고

(b) 형질변환 성장 인자 베타 패밀리 ($TGF-\beta$)의 구성원에 결합하는 체크포인트 억제제 또는 단백질중 하나 또는 이 둘 모두.

청구항 58

대상체에서 종양을 치료하는 방법에 있어서, 상기 방법은

이를 필요로 하는 대상체에게 다음을 투여하는 것을 포함하는 방법:

다음을 인코딩하는 핵산을 포함하는 조작된 T 세포:

- (a) 종양에 있는 항원에 특이적으로 결합하는 TCR 또는 이의 항원-결합 단편; 그리고
- (b) 체크포인트 억제제 및 형질변환 성장 인자 베타 패밀리 (TGF- β)의 구성원을 표적으로 하는 이중기능성 트랩 단백질.

청구항 59

청구항 57 또는 58에 있어서, 이때 상기 종양은 EBV-유도된 종양 또는 HPV-유도된 종양인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

우선권 주장

[0002]

본 출원은 2018년 12월 6일자로 제출된 미국 가특허출원 번호 62/776,012를 우선권 주장다. 상기-언급된 전체 내용은 본원에 참고자료에 편입된다.

[0003]

기술 분야

[0004]

본 명세서는 전반적으로 조작된 세포 및 이의 조성물, 구체적으로, 유전적으로 조작된 T 세포 수용체 (TCRs), TGF- β 수용체 (가령, TGF- β 트랩) 및 체크포인트 억제제 (CPIs)를 포함하는 T 세포에 관계한다. 암을 치료하는데 상기 조성물을 이용하는 방법 또한 본원에서 개시된다.

배경 기술

[0005]

발명의 배경

[0006]

감염된 B 세포 증식에 있어서, Epstein-Barr 바이러스 (EBV)는 유전자 발현 프로그램, "성장" 프로그램 또는 "잠복(latency) III" 프로그램을 설치한다. 이러한 유형의 잠복은 시험관내에서 EBV-유도된 림프구구성 세포주 (LCLs), 이식-후 림프구증식성 질환 (Brink AA, 1997, J Clin Pathol 50: 911-918.), 뿐만 아니라 원발성 및 지속적 EBV 감염 동안 EBV-감염된 B 세포에서 볼 수 있는데, 여기에서 이 프로그램은 감염된 세포의 증식을 통하여 EBV 로드의 증식으로 이어지는 것으로 간주된다 (Young LS, 2004, Nat Rev Cancer 4: 757-768; Hochberg D, 2004, Proc Natl Acad Sci U S A 101: 239-244). 몇 가지 면역원성 EBV 항원들, 잠복성 막 단백질 (LMP1, LMP2A, LMP2B) 그리고 Epstein-Barr 핵 항원들 (EBNA1, -2, -3A, -3B, -3C, -LP)이 잠복 III EBV-감염된 B 세포에서 발현된다. Epstein-Barr 바이러스 (EBV) DNA는 비인두 암 (Mutirangura et al., Clin Cancer Res. 4: 665-9 (1998); Lo et al., Cancer Res. 59: 1188-91 (1999)), 특정 림프종 (Lei et al., Br J Haematol. 111:239-46 (2000); Gallagher et al., Int J Cancer. 84: 442-8 (1999); Dronet et al., J Med Viral. 57: 383-9 (1999)), 유방암 (Bonnet, M. et al., J. Natl. Cancer Inst., 91: 1376-1381 (1999)) 및 간세포 암종 (Sugawara, Y. et al., Virology, 256: 196-202 (1999))의 환자들에서 발현된다.

[0007]

암의 면역치료요법 양식으로 입양 세포 전달(ACT)은 혈액 악성종양 및 악성 흑색종의 치료에 상당한 성공을 거두었다. 종양-연합된-항원 (TAA), 이를 테면, CD19 또는 GD2를 특이적으로 표적으로 하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현시키는 유전적으로 변형된 T 세포를 이용하는 한 가지 형태의 ACT는 B 세포 악성종양과 같은 질환 치료를 위한 임상 시도에 고무적인 결과를 보여주었다

[0008]

혈액 악성종양 환자에서 CAR-T 세포 치료요법의 성공 기록에도 불구하고, 고형 종양에서는 단지 중등도(modest)의 반응만 관찰되었다. 이는 부분적으로 면역억제성 종양 미세환경의 확립으로 인하여 일부 기인할 수 있다. 이러한 환경은 종양 내 동족(cognate) 리간드와 반응하는 T 세포에서 억제성 수용체 (IR)의 증가된 발현에 의해 매개되는 여러가지 고유한 억제 경로의 상향 조절이 관련된다(Ping Y, et al, Protein Cell 2018, 9(3):254-266). 추가적으로, 자연 발생적 T 세포 수용체 (TCRs)와는 달리, CARs는 주요 조직적합성 클래스(MHC)-독립적 방식으로 세포 표면 TAAs를 직접, 그리고 선택적으로 인지할 수 있다. 고-밀도의 TAAs는 CAR-T 세포에 의한 고형 종양 침투에 영향을 줄 수 있다. 그러나, 암세포 표면에 표적화된 MHC-의존성 항원이 부족하기 때문에, 자연 TCRs를 모방하는 유전적으로 조작된 TCRs를 가진 T 세포들은 CAR-T 세포보다 훨씬 더 깊이 침투 할 수 있다. TCR은 MHC의 관련하여 세포-내 또는 세포-외 항원을 인지할 수 있다. 종양을 표적으로 하는 TCR을 설계할 때, 세포-내 종양 항원을 표적으로 하는 옵션을 갖는 것이 유리할 수 있다. (Fesnak AD, et al. Nat Rev Cancer. 2016 Aug 23; 16(9): 566-581.)

- [0009] 지금까지, T 세포에서 몇 가지 IRs, 이를 테면, CTLA-4, T 세포 Ig 뮤신-3 (TIM-3), 림프구-활성화 유전자 3 (LAG-3), 그리고 예정된 사멸-1 (PD-1)이 특징화되었다. 이러한 분자들은 만성 질환 및 암에서 T 세포의 지속적인 활성화에 따라 상향조절되며, T 세포 기능장애 및 고갈을 촉진시켜, 종양이 면역 감시로부터 벗어날 수 있게 한다. 다른 IRs와는 달리, PD-1은 T 세포 활성화직 후 상향조절되고, 이는 다시 이의 두 가지 리간드: PD-L1 또는 PD-L2중 하나와 상호작용을 통하여 T 세포 작동체 기능을 억제시킨다. PD-L1은 T 세포, B 세포, 대식세포, 그리고 수지상 세포 (DCs)에서 구성적으로 발현된다. 이것은 또한 다양한 고형 종양에서 풍부하게 발현되는 것으로 나타났다. 대조적으로, 정상 조직에서 PD-L1의 발현은 검출되지 않는다. 면역 억제에서 중요한 역할을 하는 PD-1은 T 세포에 대한 부정적인 영향을 중립화시키고, 항종양 반응을 향상시키는 것을 목표로 하는 최근 연구의 초점이 되어 왔다. 임상 연구는 PD-1 차단이 대장암, 신장암 및 폐암 그리고 흑색종에서 종양 퇴행을 유의하게 매개한다는 것을 입증했다. (Chae_YK, et al, J Immunother Cancer 2018; 6: 39; Le DT, et al. N Engl J Med 2015; 372: 2509-20.)
- [0010] TGF β 리간드 및 이의 수용체는 모두 치료 표적으로 집중적으로 연구되었다. 3개 리간드 아이소폼(isoforms), TGF β 1, 2 및 3이 있는데, 이들 모두 동종이량체로 존재한다. 또한 3개 TGF β 수용체 (TGF β R)가 있는데, 이들 TGF β R 유형 I, II 및 III이라고 한다 (López-Casillas et al., J. Cell Biol. 1994; 124:557-68). TGF β RI는 신호전달 쉐이며, 리간드에는 결합하지 못한다. TGF β RII는 리간드 TGF β 1 및 3에는 높은 친화력으로 결합하지만, TGF β 2에는 결합하지 않는다. TGF β RII/TGF β 복합체는 TGF β RI를 모집하여 신호전달 복합체를 만든다 (Won et al., Cancer Res. 1999: 59:1273-7). TGF β RIII는 TGF β 가 이의 신호전달 수용체로의 결합의 양성 조절자이며, 3가지 TGF β 아이소폼 모두에 높은 친화력으로 결합한다. 세포 표면 상에서, TGF β /TGF β RIII 복합체는 TGF β RII에 결합하고, 그 다음 TGF β RI를 모집하는데, 이는 TGF β RIII를 대체시켜 신호전달 복합체를 만든다.
- [0011] 상기 3가지 상이한 TGF β 아이소폼은 모두 동일한 수용체를 통하여 신호를 전달하지만, 이들은 차등적인 발현 패턴을 갖고, 생체내에서 비-중첩되는 기능을 갖는다. 세 가지 다른 TGF β 아이소폼 녹아웃 마우스는 별개의 표현형을 가지고 있고, 비-보상적(compensated) 수많은 기능을 나타낸다 (Bujak et al., Cardiovasc Res. 2007: 74: 184-95). 따라서, 종양 미세환경 및 심장 생리학에서 각각 TGF β 1 및 TGF β 2의 주된 역할을 고려할 때, TGF β 1을 중화시키지만 TGF β 2를 중화시키지 않는 치료제는 항-종양 활성을 손상시키지 않으면서, 심장 독성을 최소화함으로써, 최적의 치료 지수를 제공할 수 있다.
- [0012] 지금까지 면역 체크포인트 억제제의 유망한 임상 활동에도 불구하고, 치료 효능을 증가시키거나 또는 독성을 감소시키거나, 또는 이들 둘 모두를 통해 치료 지수를 증가시키는 것은 항암 면역치료제 개발의 핵심 목표로 남아 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0013] 발명의 요약
- [0014] 본 명세서는 다음을 포함하는 조작된 T 세포를 제공한다: 항-LMP2 TCR을 인코딩하는 핵산, 이때 항-LMP2 TCR은 종양에서 LMP2에 특이적으로 결합하는 유전적으로 조작된 T 세포 수용체 (TCR)이다.
- [0015] 본 발명의 측면에서, 상기 항-LMP2 TCR은 다음의 모티프 서열을 포함한다: 각각 아미노산 서열 식별 번호:1의 알파 채 CDR1 (위치 27-32), CDR2 (위치 50-56), CDR3 (위치 90-101), 그리고 아미노산 서열 식별 번호:2의 베타 채 CDR1 (위치 27-31), CDR2 (위치 49-54), CDR3 (위치 92-106). 또다른 구체예에서, 상기 항-LMP2 TCR은 서열 식별 번호:1의 알파 채 가변 도메인, 그리고 서열 식별 번호:2의 베타 채 가변 도메인을 포함한다. 더 많은 구체예들에서, 유전적으로 조작된 TCR을 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호:3로 제시된 서열과 서열 식별 번호:4로 제시된 서열을 포함한다.
- [0016] 본 발명의 또다른 측면에서, 상기 항-LMP2 TCR은 각각 아미노산 서열 식별 번호:5의 알파 채 CDR1 (위치 25-30), CDR2 (위치 48-54), CDR3 (위치 89-100), 그리고 아미노산 서열 식별 번호:6의 베타 채 CDR1 (위치 25-29), CDR2 (위치 47-52), CDR3 (위치 91-103)를 포함한다. 더 많은 구체예들에서, 상기 항-LMP2 TCR은 서열 식별 번호:5의 알파 채 가변 도메인, 그리고 서열 식별 번호:6의 베타 채 가변 도메인을 포함한다. 바람직한 구체예들에서, 유전적으로 조작된 TCR을 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호:7로 제시된 서열과 서열 식별 번호:8로 제시된 서열을 포함한다.

- [0017] 본 발명의 또다른 측면에서, 상기 항-LMP2 TCR은 각각 아미노산 서열 식별 번호:9의 알파쇄 CDR1 (위치 32-37), CDR2 (위치 55-61), CDR3 (위치 96-108), 그리고 아미노산 서열 식별 번호:10의 베타쇄 CDR1 (위치 25-29), CDR2 (위치 47-52), CDR3 (위치 90-105)을 포함한다. 더 많은 구체예들에서, 상기 항-LMP2 TCR은 서열 식별 번호:9의 알파쇄 가변 도메인, 그리고 서열 식별 번호:10의 베타쇄 가변 도메인을 포함한다. 바람직한 구체예들에서, 유전적으로 조작된 TCR을 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호:11로 제시된 서열과 서열 식별 번호:12로 제시된 서열을 포함한다.
- [0018] 본 발명의 또다른 측면에서, 상기 항-LMP2 TCR은 구성적으로 발현된다.
- [0019] 본 발명의 또다른 측면에서, 상기 조작된 T 세포는 종양에서 억제성 수용체의 기능 또는 발현을 감소시키는 억제성 단백질을 더 포함한다.
- [0020] 일부 구체예들에서, 상기 억제성 단백질은 면역 체크포인트 억제제다.
- [0021] 일부 구체예들에서, 상기 억제성 단백질은 예정된 세포 사멸 단백질 1 (PD-1)을 차단하는데, 이때 상기 단백질은 단일쇄 항체 (scFv)이다. 바람직한 구체예들에서, 상기 억제성 단백질은 구성적으로 발현된다.
- [0022] 본 발명의 측면에서, 상기 언급된 조작된 T 세포와 약제학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 이를 필요로 하는 대상체에게 치료요법적 유효량의 상기 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법에 또한 제공되며, 이때 상기 암은 비인두암, 호지킨(Hodgkin) 림프종, 버킷(Burkitt) 림프종, 또는 위암이다.
- [0023] 일부 구체예들에서, 상기 방법은 상기 대상체에게 화학치료요법 또는 방사선을 포함하는 기존 치료요법의 치료요법적 유효량을 투여하는 것을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 세포와 기존 치료요법은 연속적으로 또는 동시에 투여된다.
- [0024] 본 발명은 다음을 포함하는 조작된 T 세포를 제공한다: (a) 종양에 있는 항원에 특이적으로 결합하는 유전적으로 조작된 T 세포 수용체; (b) 종양에서 면역 체크포인트의 기능 또는 발현을 감소시키는 억제성 단백질; 그리고 (c) 형질변환 성장 인자 베타 (TGF- β) 패밀리의 구성원에 결합하는 단백질을 인코딩하는 핵산. 이들 조작된 T 세포는 T 세포 고갈을 감소시키고; 따라서 더 강력한 항-종양 반응을 유도하는 능력을 갖는다. 상기 표적화된 형질변환 성장 인자 베타 (TGF- β)는 TGF- β 1, 2 또는 3일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 측면에서, 상기 면역 체크포인트는 하나 또는 그 이상의 PD1, PD-L1 및 CTLA-4를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 억제성 단백질은 예정된 세포 사멸 단백질 1 (PD-1)을 차단하는데, 이때 상기 단백질은 단일쇄 항체 (scFv)이다.
- [0026] 본 발명의 측면에서, 상기 종양 항원은 인간 유두종바이러스 (HPV) 또는 Epstein-Barr 바이러스 (EBV) 항원이다. 일부 구체예들에서, 상기 유전적으로 조작된 T 세포 수용체는 항-LMP2 TCR이다. 일부 구체예들에서, 상기 항-LMP2 TCR은 서열 식별 번호:1, 5 또는 9로 구성된 군에서 선택된 알파쇄 가변 도메인과 서열 식별 번호:2, 6 또는 10으로 구성된 군에서 선택된 베타쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 항-LMP2 TCR을 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호:3과 서열 식별 번호:4를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 항-LMP2 TCR을 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호:7과 서열 식별 번호:8을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 항-LMP2 TCR을 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호:11과 서열 식별 번호:12를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 유전적으로 조작된 T 세포 수용체는 항-E6 또는 항-E7 TCR이다.
- [0027] 본 발명의 또다른 측면에서, 상기 유전적으로 조작된 TCR은 구성적으로 발현된다.
- [0028] 본 발명의 측면에서, 형질변환 성장 인자 베타 패밀리의 구성원을 표적으로 하는 결합 단백질은 인간 TGF β RII의 단편이다. 한 구체예에서, 상기 결합 단백질은 TGF β RII (서열 식별 번호: 13)의 세포외 도메인 (ECD)을 포함한다.
- [0029] 본 발명의 측면에서, 상기 억제성 단백질 및/또는 TGF β 결합 단백질은 구성적으로 발현된다.
- [0030] 본 발명은 앞에 언급된 다음을 포함하는 핵산을 포함하는 벡터를 더 제공한다: (a) 종양에 있는 항원에 특이적으로 결합하는 유전적으로 조작된 T 세포 수용체를 인코딩하는 핵산; (b) 종양에서 면역 체크포인트의 기능 또는 발현을 감소시키는 억제성 단백질을 인코딩하는 핵산; 그리고 (c) 형질변환 성장 인자 베타 (TGF- β) 패밀리의 구성원에 결합하는 단백질을 인코딩하는 핵산, 이때 상기 벡터는 레트로바이러스 벡터다.
- [0031] 본 발명의 측면에서, 상기 언급된 조작된 T 세포와 약제학적으로 수용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물

이 제공된다. 이를 필요로 하는 대상체에게 치료요법적 유효량의 상기 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법에 또한 제공되며, 이때 상기 암은 대개 바이러스-연합된 악성종양이다.

- [0032] 일부 구체예들에서, 상기 암은 HPV 또는 EBV 양성 암이다. 일부 구체예들에서, EBV 연합된 암은 비인두 암종, 호지킨 림프종, 버킷 림프종, 또는 위암일 수 있지만, 이에 국한되지 않는다. 일부 구체예들에서, HPV 연합된 암은 자궁 경부암, 항문암, 구인두암 또는 생식기암 암일 수 있지만, 이에 국한되지 않는다.
- [0033] 본 발명의 측면에서, 상기 종양은 바이러스-연합된 종양 또는 바이러스 종양-유전자들과 연합된 종양이다.
- [0034] 일부 구체예들에서, 상기 방법은 상기 대상체에게 화학치료요법 또는 방사선을 포함하는 기존 치료요법의 치료요법적 유효량을 투여하는 것을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 세포와 기존 치료요법은 연속적으로 또는 동시에 투여된다.
- [0035] 본 발명의 또다른 측면에서, 유전적으로 조작된 T 세포를 만드는 방법은 3개 형질전환유전자들을 함유하는 벡터를 도입시키는 것을 포함한다: (1) 종양에 있는 항원에 특이적으로 결합하는 유전적으로 조작된 T 세포 수용체의 알파 쇄, (2) 동일한 TCR의 베타 쇄, 그리고 (3) 상기 가변 중쇄의 C 말단에서 유연성 링커 펩티드를 통하여 TCR β RII의 세포의 도메인의 리간드-결합 서열에 융합된 GS 링커에 연계된 신규한 면역 체크포인트 억제제 (ICI)의 중쇄 및 경쇄의 영역, 이때 상기 벡터에는 레트로바이러스 벡터가 내포되나, 이에 국한되지 않는다. 더 많은 구체예들에서, 상기 3개 형질전환유전자는 2A 서열에 의해 연계된다. 일부 구체예들에서, 상기 유전적으로 조작된 TCR은 신호 펩티드 서열을 더 포함한다.
- [0036] 한 측면에서, 본 명세서는 가변 알파 (Va) 영역이 내포된 알파 쇄와 가변 베타 (Vb) 영역을 포함하는 베타 쇄를 포함하는, T 세포 수용체 (TCR) 또는 이의 항원-결합 단편에 관련된다.
- [0037] 일부 구체예들에서, 다음의 TCR 또는 항원-결합 단편이 본원에 제공된다:
- [0038] (1) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호:1의 상보성 결정 영역 1 (CDR1), 상보성 결정 영역 2 (CDR2), 및 상보성 결정 영역 3 (CDR3)을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 2의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고;
- [0039] (2) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 5의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, CDR3을 포함하고, 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 6의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고; 또는
- [0040] (3) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 9의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, CDR3을 포함하고, 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 10의 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다.
- [0041] 일부 구체예들에서, 다음의 TCR 또는 항원-결합 단편이 본원에 제공된다:
- [0042] (1) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 17-19의 아미노산을 포함하는, CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, 그리고 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 20-22의 아미노산을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고;
- [0043] (2) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 23-25의 아미노산을 포함하는, CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, 그리고 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 26-28의 아미노산을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고;
- [0044] (3) 상기 Va 영역은 각각 서열 식별 번호: 29-31의 아미노산을 포함하는, CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고, 그리고 상기 Vb 영역은 각각 서열 식별 번호: 32-34의 아미노산, 위치 25-29의 아미노산을 포함하는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함한다.
- [0045] 일부 구체예들에서, 다음의 TCR 또는 항원-결합 단편이 본원에 제공된다:
- [0046] 상기 Va 영역은 서열 식별 번호: 1, 5, 또는 9중 임의의 서열로 제시된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고
- [0047] 상기 Vb 영역은 서열 식별 번호: 2, 6, 또는 10중 임의의 서열로 제시된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0048] 일부 구체예들에서, TCR 또는 이의 항원-결합 단편이 펩티드 에피토프, LMP2 (LLWTLVVLL) (서열 식별 번호: 1

6)에 결합하거나, 또는 이를 인지하는, TCR 또는 항원-결합 단편이 본원에서 제공된다.

- [0049] 일부 구체예들에서, T 세포의 표면 상에서 TCR 또는 이의 항원-결합 단편이 발현될 때, 표적 암 세포에 대항하는 세포독성을 자극하는, TCR 또는 항원-결합 단편이 본원에서 제공되며, 임의선택적으로 일부 구체예들에서, 상기 표적 암 세포는 EBV DNA 서열을 함유하거나, 또는 LMP2를 발현시킨다.
- [0050] 한 측면에서, 본 명세서는 원에서 기술된 바와 같이, TCR 또는 이의 항원-결합 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 벡터에 관계한다.
- [0051] 일부 구체예들에서, 상기 벡터는 발현 벡터, 바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 또는 렌티바이러스 벡터다.
- [0052] 한 측면에서, 본 명세서는 본원에서 기술된 바와 같은, 벡터를 포함하는 조작된 세포에 관계한다.
- [0053] 한 측면에서, 본 명세서는 본원에서 기술된 바와 같이, TCR 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 조작된 세포에 관계한다.
- [0054] 일부 구체예들에서, 상기 TCR 또는 이의 항원 결합 단편은 해당 세포에 대해 이질성이다.
- [0055] 일부 구체예들에서, 상기 조작된 세포는 세포주이다. 일부 구체예들에서, 상기 조작된 세포는 대상체(가령, 인간 대상체)로부터 구한 원발성 세포다. 일부 구체예들에서, 상기 조작된 세포는 T 세포다. 일부 구체예들에서, 상기 T 세포는 CD8+이다. 일부 구체예들에서, 상기 T 세포는 CD4+이다.
- [0056] 한 측면에서, 본 명세서는 상기 조작된 세포를 만드는 방법에 관계하는데, 이 방법은 본원에서 기술된 바와 같은 벡터를 시험관내에서 또는 생체외에서 세포로 도입시키는 것을 포함한다.
- [0057] 일부 구체예들에서, 상기 벡터는 바이러스 벡터이며, 상기 도입은 형질도입에 의해 실행된다.
- [0058] 한 측면에서, 본 명세서는 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관계하며, 이 방법은 본원에서 기술된 바와 같이, 조작된 세포를 EBV와 연관된 질환 또는 장애를 갖고 있는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0059] 일부 구체예들에서, 상기 EBV와 연관된 질환 또는 장애는 암이다.
- [0060] 한 측면에서, 본 명세서는 대상체의 종양을 치료하는 방법에 관계하며, 이 방법에는 이를 필요로 하는 대상체에게 다음을 투여하는 것이 내포된다: (a) 종양에 있는 항원에 특이적으로 결합하는 TCR 또는 이의 항원-결합 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 조작된 T 세포; 그리고 (b) 형질변환 성장 인자 베타 패밀리 (TGF- β)의 구성원에 결합하는 체크포인트 억제제 또는 단백질중 하나.
- [0061] 한 측면에서, 본 명세서는 대상체의 종양을 치료하는 방법에 관계하며, 이 방법에는 이를 필요로 하는 대상체에게 다음을 투여하는 것이 내포된다: (a) 종양에 있는 항원에 특이적으로 결합하는 TCR 또는 이의 항원-결합 단편; 그리고 (b) 체크포인트 억제제와 형질변환 성장 인자 베타 패밀리 (TGF- β)의 구성원을 표적으로 하는 이중기능성 트랩 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함하는 조작된 T 세포.
- [0062] 일부 구체예들에서, 상기 종양은 EBV-유도된 종양 또는 HPV-유도된 종양이다.
- [0063] 다른 언급이 없는 한, 본 명세서에서 이용된 모든 기술적 그리고 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 분야의 통상적 숙련자에 의해 흔히 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 발명에서 사용하기 위한 방법 및 재료가 본 명세서에 기술되어있다; 당업계에 공지된 다른 적합한 방법 및 재료가 또한 사용될 수 있다. 재료, 방법, 그리고 실험은 단지 예시이고, 이에 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 본원에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허, 서열, 데이터베이스 항목 및 기타 참고 문헌은 그 전문이 참조로 포함된다. 충돌이 있는 경우, 정의를 비롯하여 본 명세서의 내용이 우선한다.
- [0064] 본 발명의 다른 특징 및 장점은 다음의 상세한 설명 및 도면 및 청구 범위로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0065] 도면의 간단한 설명

예시적인 구체예들은 참조 도면에 예시되어 있다. 본 명세서에 개시된 구체예들 및 도면은 예시적인 것으로 간주되어야 하며, 이에 국한되는 것은 아니다.

도 1A는 MP71 레트로바이러스 벡터 구조체를 보여주는 개략도다. P2A는 2A 자가-절단 펩티드를 인코딩하고; Va는 인간 항-LMP2 TCR의 알파쇄의 가변 영역을 인코딩하고; Vb는 인간 항-LMP2 TCR의 베타쇄를 인코딩하고; Ca

는 TCR 알파쇄의 불변 영역을 인코딩하고; Cb는 TCR 베타쇄의 불변 영역을 인코딩하고; HGHWS 및 HGHWSW2는 신호 펩티드이다 (각각 서열 식별 번호: 14 및 15임). 또는 바이러스 RNA에서 패키징 서열을 나타낸다.

도 1B는 MP71 레트로바이러스 벡터 구조체를 보여주는 개략도다. P2A 및 T2A는 2A 자가-절단 펩티드를 인코딩하고; Va는 유전적으로 조작된 인간 TCR의 알파쇄의 가변 영역을 인코딩하고; Vb는 유전적으로 조작된 인간 TCR의 베타쇄를 인코딩하고; Ca는 TCR 알파쇄의 불변 영역을 인코딩하고; Cb는 TCR 베타쇄의 불변 영역을 인코딩하고; HGHWS 및 HGHWSW2는 신호 펩티드이고 (각각 서열 식별 번호: 14 및 15); ICI-ScFv는 GS 링커에 연결된 면역 체크포인트 억제제 (ICI)의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 인코딩하고; TGFβRII는 TCRβRII의 세포외 도메인의 리간드-결합 서열을 인코딩하고; 링커는 가변 중쇄의 C 말단에 있는 유연성 링커 펩티드이다.

도 2A는 L201 TCR의 알파쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 보여준다.

도 2B는 L201 TCR의 베타쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 보여준다.

도 3A는 L201 TCR α쇄 가변 도메인을 인코딩하는 DNA 서열을 보여준다.

도 3B는 L201 TCR β쇄 가변 도메인을 인코딩하는 DNA 서열을 보여준다.

도 4A는 L202 TCR의 알파쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 보여준다.

도 4B는 L202 TCR의 베타쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 보여준다.

도 5A는 L202 TCR α쇄 가변 도메인을 인코딩하는 DNA 서열을 보여준다.

도 5B는 L202 TCR β쇄 가변 도메인을 인코딩하는 DNA 서열을 보여준다.

도 6A는 L203 TCR의 알파쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 보여준다.

도 6B는 L203 TCR의 베타쇄 가변 도메인 아미노산 서열을 보여준다.

도 7A는 L203 TCR α쇄 가변 도메인을 인코딩하는 DNA 서열을 보여준다.

도 7B는 L203 TCR β쇄 가변 도메인을 인코딩하는 DNA 서열을 보여준다.

도 8은 HGHWS 신호 펩티드의 아미노산 서열과 HGHWSW2 신호 펩티드의 아미노산 서열을 보여준다.

도 9는 L201, L202 및 L203의 구조체로 형질도입된 인간 T 세포의 TCR 발현의 유동 세포측정 결과를 보여주는 일련의 그래프이며, 이때 CD3, CD4 및 CD8은 동시에 착색되며, 생존가능한 CD3+ 림프구 게이팅 전략이 이용되었다. NT는 형질도입안된 대조군이다. TCR 발현은 마우스 TCRβ 착색에 의해 나타낸다.

도 10은 항원-특이적 자극된 TCR-T 세포의 유동 세포측정 결과를 나타내는 일련의 그래프이며, 이때 CD3, CD8 및 세포내 IFN-γ가 착색되었다. L201, L202 및 L203 구조체를 이용하여 해당 세포를 형질도입시켰다. NT는 형질도입안된 대조군이다.

도 11A는 항-LMP2 TCR L201을 함유하는 TCR-T 세포의 활성화 곡선을 보여주는 그래프다. 상기 TCR-T 세포는 1:1의 작동체-대-표적 비율에서 EBV 펩티드-펄스된 APCs로 공동-배양되었으며, 세포내 IFN-γ를 발현시키는 T 세포의 백분율 (Y-축)은 유동 세포측정에 의해 측정되었다. 최대 효과 농도의 절반 (EC50)이 결정되었다.

도 11B는 항-LMP2 TCR L202를 함유하는 TCR-T 세포의 활성화 곡선을 보여주는 그래프다. 상기 TCR-T 세포는 1:1의 작동체-대-표적 비율에서 EBV 펩티드-펄스된 APCs로 공동-배양되었으며, 세포내 IFN-γ를 발현시키는 T 세포의 백분율 (Y-축)은 유동 세포측정에 의해 측정되었다. 최대 효과 농도의 절반 (EC50)이 결정되었다.

도 11C는 항-LMP2 TCR L203을 함유하는 TCR-T 세포의 활성화 곡선을 보여주는 그래프다. 상기 TCR-T 세포는 1:1의 작동체-대-표적 비율에서 EBV 펩티드-펄스된 APCs로 공동-배양되었으며, 세포내 IFN-γ를 발현시키는 T 세포의 백분율 (Y-축)은 유동 세포측정에 의해 측정되었다. 최대 효과 농도의 절반 (EC50)이 결정되었다.

도 12는 항원-특이적 자극 시에 TCR-T 세포의 장기적 IFN-γ 생산을 보여주는 히스토그램이다. 인간 T 세포는 L201 TCR을 발현시키도록 형질도입되거나 (TCR 형질도입된) 또는 형질도입안된 것이며 (음성 대조군), 1:0, 1:1 또는 3:1의 작동체-대-표적 (E: T) 비율에서 EBV 펩티드-펄스된 APCs와 함께 공동-배양되었고, IFN-γ 생산은 인간 IFN-γ ELISA 키트를 이용하여 측정되었다.

도 13A는 L201 TCR-T 세포에 의해 표적 세포의 특이적 사멸 백분율을 나타내는 히스토그램이다. EBV 펩티드-펄스된 APCs는 1:1 또는 3:1의 작동체-대-표적 비율에서 L201 TCR-T 세포와 함께 공동-배양되었으며, 그리고 TCR-

T 세포의 세포독성은 APCs의 세포 사멸을 측정함으로써 결정되었다. 인간 T 세포는 L201 TCR을 발현시키도록 형질도입되었거나 (TCR 형질도입된) 또는 형질도입안되었다 (음성 대조군).

도 13B는 L202 TCR-T 세포 및 E:T 비율에 의해 표적 세포의 특이적 사멸 백분율을 나타내는 히스토그램이다. 표적 세포와 비-표적 세포 (1:1 비율로 혼합됨)는 표시된 작동체-대-표적 비율에서 L202 TCR-T 세포와 함께 공동-배양되었으며, TCR-T 세포의 세포독성은 표적 세포의 세포사멸을 측정함으로써 결정되었다.

도 14는 구조체 E6, E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII로 형질도입된 인간 T 세포의 TCR 발현의 유동 세포측정 결과를 보여주는 일련의 그래프이며, 이때 CD3, CD4 및 CD8은 동시에 착색되며, 생존가능한 CD3+ 림프구 게이팅 전략이 이용되었다. NT는 형질도입안된 대조군이다. TCR 발현은 마우스 TCR β 착색에 의해 나타난다. TCR 백분율은 직사각 상자 내에 있는 신호를 전체 신호로 나눈 값으로 정의된다. E6은 항-E6 TCR을 나타낸다. α PD1-TGF β RII는 융합 단백질을 지칭하며, 이때 인간 TGF β RII (TGF β 트랩)의 세포외 도메인은 항-PD-1 단일 체 Fv (scFV)의 C-말단에 연계된다. α PDL1-TGF β RII는 융합 단백질을 지칭하며, 이때 TGF β 트랩은 항-PD-L1 scFV의 C-말단에 연계된다. HAC-TGF β RII는 융합 단백질을 지칭하며, 이때 TGF β 트랩은 PD-L1-결합 단백질을, HAC로 명명된 단백질의 C-말단에 연계된다. α gp120-TGF β RII는 융합 단백질 대조군을 지칭하며, 이때 TGF β 트랩은 항-gp120 scFV의 C-말단에 연계된다.

도 15A는 항원-특이적 자극 시에 세포내 IFN- γ 를 발현시키는 TCR-T 세포의 백분율을 나타내는 (Y-축) 히스토그램이다. NT는 형질도입안된 대조군이다. E6, E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII TCRs를 발현시키는 TCR-T 세포가 이용되었다. 펄스된 A562-A2 세포는 1:1의 작동체-대-표적 비율에서 TCR-T 세포와 공동-배양되었으며, 세포내 IFN- γ 를 발현시키는 TCR-T 세포의 백분율 (Y-축)은 유동 세포측정에 의해 측정되었다.

도 15B는 E6, E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII TCRs를 발현시키도록 형질도입된 TCR-T 세포의 IFN- γ 생산 수준을 보여주는 히스토그램이다. NT는 형질도입안된 대조군이다. Ca Ski E6/E7 세포는 1:0, 1:1 또는 3:1 작동체-대-표적 비율에서 TCR-T 세포와 함께 공동-배양되었으며, 상층액에서 IFN- γ 생산은 인간 IFN- γ ELISA 키트를 이용하여 측정되었다.

도 16은 E6, E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII TCRs를 발현시키도록 형질도입된 TCR-T 세포에 의한 표적 세포의 특이적 사멸 백분율을 보여주는 히스토그램이다. NT는 형질도입안된 대조군이다. Ca Ski 종양 세포는 1:1의 작동체-대-표적 비율에서 TCR-T 세포와 함께 공동-배양되었으며, TCR-T 세포의 세포독성은 표적 세포의 세포 사멸을 측정함으로써 결정되었다.

도 17은 분비된 scFv-TGF β RII의 TGF β 에 대한 결합 곡선을 보여주는 일련의 그래프다. 상기 분비된 scFv-TGF β RII는 E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII TCR을 발현시키도록 형질도입된 293T 세포에 의해 만들어졌다. 결합 활성은 ELISA에 의해 결정되었다.

도 18은 인간 Ca Ski 세포에서 TGF β 의 발현을 보여주는 히스토그램이다. CM은 배양 배지다.

도 19는 항원-특이적 자극 시 TCR-T 세포의 증식을 보여주는 히스토그램이다. 증식은 카르복시플루오레세인 수신이미틸 에스테르(CFSE) 음성 집단에 의해 결정되었다. NT는 형질도입안된 대조군이다. TCR-T 세포는 E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII TCRs를 발현시키도록 형질도입되었다.

도 20은 구조체 LMP2. α PD1-TGF β RII, LMP2. α PDL1-TGF β RII, LMP2.HAC-TGF β RII 또는 LMP2. α gp120-TGF β RII TCR로 형질도입된 인간 T 세포에서 TCR 발현의 유동 세포측정 결과를 나타내는 일련의 그래프다.

도 21은 항원-특이적 자극된 TCR-T 세포의 유동 세포측정 결과를 나타내는 일련의 그래프이며, 이때 CD3, CD8 및 세포내 IFN- γ 가 착색되었다. L201-PD1trap (L201. α PD1-TGF β RII), L201-PDL1trap (L201. α PDL1-TGF β RII), L201-HACtrap (L201.HAC-TGF β RII), 및 L201-gp210trap (L201. α gp120-TGF β RII)은 해당 세포를 형질도입시키는데 이용된 구조체들이다. NT는 형질도입안된 대조군이다.

도 22A는 항원-특이적 자극 시에 세포내 IFN- γ 를 발현시키는 TCR-T 세포의 백분율을 나타내는 (Y-축) 히스토그램이다. NT는 형질도입안된 대조군이다. L201-PD1trap (L201. α PD1-TGF β RII), L201-PDL1trap (L201. α PDL1-TGF β RII), L201-HACtrap (L201.HAC-TGF β RII), 또는 L201-gp210trap (L201. α gp120-TGF β RII) TCRs를 발현시키는 TCR-T 세포가 이용되었다. 펄스된 A562-A2 세포는 1:1의 작동체-대-표적 비율에서 TCR-T 세포와 공동-배양되었으며, 세포내 IFN- γ 를 발현시키는 TCR-T 세포의 백분율 (Y-축)은 유동 세포측정에 의해

측정되었다.

도 22B는 L201-PD1trap (L201. α PD1-TGF β RII), L201-PDL1trap (L201. α PDL1-TGF β RII), L201-HACtrap (L201.HAC-TGF β RII), 또는 L201-gp210trap (L201. α gp120-TGF β RII) TCRs를 발현시키도록 형질도입된 TCR-T 세포의 IFN- γ 생산 수준을 보여주는 히스토그램이다. NT는 형질도입안된 대조군이다. Ca Ski E6/E7 세포는 1:0, 1:2, 1:1 또는 3:1 작동체-대-표적 비율에서 TCR-T 세포와 함께 공동-배양되었으며, 상층액에서 IFN- γ 생산은 인간 IFN- γ ELISA 키트를 이용하여 측정되었다.

도 23은 L201-trap TCR-T 세포 및 E:T 비율에 의해 표적 세포의 특이적 사멸 백분율을 나타내는 히스토그램이다. 표적 세포는 L201-PD1trap (L201. α PD1-TGF β RII), L201-PDL1trap (L201. α PDL1-TGF β RII), L201-HACtrap (L201.HAC-TGF β RII), 또는 L201-gp210trap (L201. α gp120-TGF β RII) TCRs를 발현시키도록 형질도입된 TCR-T 세포와 함께 표시된 작동체-대-표적 (E: T) 비율에서 공동-배양되었으며, TCR-T 세포의 세포독성은 표적 세포의 세포 사멸을 측정함으로써 결정되었다.

도 24A는 L202 TCR-T 세포 또는 형질도입안된 세포로 처리 후 마우스에서 개별 흑색종 종양 용적을 보여주는 그래프다.

도 24B는 L202 TCR-T 세포 또는 형질도입안된 세포로 처리 후 마우스에서 평균 흑색종 종양 용적을 보여주는 그래프다.

도 24C는 표시된 코호트에서 동물들의 종양 용적 배수 변화(20일차 시점/0일차 시점)를 보여주는 그래프다.

도 24D는 L202 TCR-T 세포 또는 형질도입안된 세포 투여 후, 표시된 일자에서 평균 동물 체중을 나타내는 그래프다.

도 25는 3가지 T 세포 수용체에 대한 CDR 서열을 나타낸다.

도 26은 본 명세서에 기재된 서열을 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0066]

발명의 상세한 설명

[0067]

다음 구체예들 및 이들의 측면들은 예시적이고 설명적인 것을 의미하는 시스템, 조성물 및 방법과 함께 기술 및 예시되지만, 이에 국한하지 않는다.

[0068]

정의

[0069]

본원에 사용된 용어 "포함하는(comprising)" 또는 "포함하다(comprises)"은 구체예에 유용하지만, 유용성과 무관하게, 불특정 요소의 포함에 개방적인 조성물, 방법 및 각각의 성분 (들)과 관련하여 사용된다. 일반적으로 본 명세서에서 사용되는 용어는 일반적으로 "개방" 용어로 의도된다는 것을 당업자는 이해할 것이다 (예를 들어, "포함하는"용어는 "포함하지만 이에 국한되지 않고, 용어 "갖는"은 "적어도 ~를 갖는"으로 해석되어야 하고, "포함하는"이라는 용어는 "포함하지만 이에 국한되지 않는"등으로 해석되어야 한다.)

[0070]

달리 명시되지 않는 한, 특정 구체예를 설명하는 맥락에서 사용되는 용어 관사("a" 및 "an" 및 "the") 및 유사한 참조는 (특히 청구항의 맥락에서) 단수 및 복수 모두를 포함하는 것으로 해석될 수 있다. 본 명세서에서 값의 범위를 언급하는 것은 단지 범위 내에 속하는 각각의 개별 값을 개별적으로 언급하는 속기 방법으로 사용되도록 의도된다. 본원에서 달리 지시되지 않는 한, 각각의 개별 값은 마치 본원에서 개별적으로 언급된 것처럼 명세서에 포함된다. 본 명세서에 설명된 모든 방법은 본 명세서에서 달리 지시되거나 문맥상 명백히 모순되지 않는 한, 임의의 적절한 순서로 수행될 수 있다. 본원의 특정 구체예와 관련하여 제공되는 임의의 및 모든 예시 또는 예시적인 언어 (예를 들어 "이를 테면")의 사용은 단지 본 개시를 더 잘 조명하기 위한 것이며, 청구된 본 출원의 범위에 제한을 두지 않는다. 약어, '예를 들면,'는 라틴어 exempli gratia에서 유래한 것으로 여기에서 비-제한적인 예를 나타내기 위해 사용된다. 따라서 약어 "가령(e.g.)"은 "예를 들면"이라는 용어와 동의어다. 본 발명의 어떤 언어도 본 발명의 실시예에 필수적인 것으로 주장되지 않은 요소를 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0071]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약(about)"이란 측정가능한 값, 이를 테면, 양, 기간, 그리고 이와 유사한 것들을 지칭하며, 명시된 값으로부터 $\pm 20\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0.5\%$ 또는 $\pm 0.1\%$ 변동이 포괄된다.

[0072]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항체"란 무손상 면역글로불린, 또는 Fc (결정화가능한 단편) 영역 또는 Fc

영역의 FcRn 결합 단편(본원에서는 "Fc 단편" 또는 "Fc 도메인"으로 지칭됨)을 갖는 단일클론성 또는 다중클론성 항원-결합 단편을 지칭한다. 항원-결합 단편들은 재조합 DNA 기술, 또는 무손상 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다. 항원-결합 단편들에는 그중에서도, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, dAb, 그리고 상보성 결정 영역 (CDR) 단편들, 단일-쇄 항체 (scFv), 단일 도메인 항체, 키메라 항체, 디아바디(diabodies) 및 해당 폴리펩티드에 특이적 항원 결합을 부여하는데 충분한 면역글로불린의 적어도 일부분을 보유하는 폴리펩티드가 내포된다. 상기 Fc 도메인에는 해당 항체의 두 개 또는 세 개 클래스에 기여하는 두 개 중쇄의 일부분이 내포된다. 상기 Fc 도메인은 재조합 DNA 기술, 또는 무손상 항체의 효소적(예를 들면, 파파인 절단) 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다.

[0073] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항체 단편"이란 해당 무손상 항체의 항원 결합 부위가 일반적으로 내포됨으로써 항원에 결합하는 능력이 유지되는, 무손상 항체의 일부분만을 포함하는 단백질 단편을 지칭한다. 본 정의에 포괄되는 항체 단편들의 예시에는 다음이 내포된다 : (i) Fab 단편(VL, CL, VH 및 CH1 도메인들을 갖는다); (ii) Fab' 단편, 이것은 CH1 도메인의 C-말단에 하나 또는 그 이상의 시스테인 잔기를 보유하는 Fab 단편이다; (iii) Fd 단편(VH 및 CH1 도메인들을 갖는다); (iv) Fd' 단편(VH 및 CH1 도메인들과 CH1 도메인의 C-말단에 하나 또는 그 이상의 시스테인 잔기를 보유한다); (v) Fv 단편 (항체의 단일 아암(arm)의 VL 및 VH 도메인을 갖는다); (vi) dAb 단편 (Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989))-이는 VH 도메인으로 구성된다; (vii) 단리된 CDR 영역; (viii) F(ab')₂ 단편들-이것은 힌지 영역에서 디설파이드 다리에 의해 연계된 두 개의 Fab' 단편이 내포된 이가(bivalent) 단편이다; (ix) 단일 쇄 항체 분자 (가령, 단일 쇄 Fv; scFv) (Bird et al., Science 242:423-426 (1988); 그리고 Huston et al., PNAS (USA) 85:5879-5883 (1988)); (x) 동일한 폴리펩티드 쇄에서 경쇄 가변 도메인 (VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는 두 개 항원 결합 부위를 갖는 "디아바디" (가령, EP 404,097; WO 93/11161; 그리고 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993) 참고); (xi) 병렬 Fd 세그먼트 쌍 (VH-CH1-VH-CH1), 그리고 이와 함께 상보성 경쇄 폴리펩티드를 포함하여, 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성하는 "선형 항체" (Zapata et al. Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995); 그리고 U.S. Pat. No. 5,641,870).

[0074] 본원에서 사용된 바와 같이 "단일 쇄 가변 단편", "단일-쇄 항체 가변 단편들" 또는 "scFv" 항체는 오로지 중쇄 (VH) 및 경쇄 (VL) 쇄(이들은 링커 펩티드에 의해 연결됨) 만의 가변 영역을 포함하는 항체 형태를 지칭한다. scFvs는 단일 쇄 폴리펩티드로 발현될 수 있다. 상기 scFvs는 이것이 파생된 무손상 항체의 특이성을 유지한다. 경쇄와 중쇄는 표적 항원에 대한 scFv의 특이성이 유지되는 한, 임의의 순서, 예를 들면, VH-링커-VL 또는 VL-링커-VH일 수 있다.

[0075] 용어 "결합 단백질"이란 천연 단백질 결합 도메인들 (이를 테면, 사이토킨, 사이토킨 수용체), 항체 단편들 (이를 테면, Fab, scFv, 디아바디, 가변 도메인 파생된 결합자, VHH 나노바디), 교대 스캐폴드 파생된 단백질 결합 도메인들 (이를 테면, Fn3 변이체, 안키린 반복 변이체, 센티린 변이체, 아비머(avimers), 아프바디(affibody)) 또는 특이적 항원들을 인지하는 임의의 단백질을 지칭한다.

[0076] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항원"이란 MHC 분자에 의해 대표된다면 항체 또는 T 세포 수용체(TCR)에 의해 결합될 수 있는 분자를 지칭한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항원"에는 T-세포 수용체에 의해 인지되는 T-세포 에피토프가 또한 포괄된다. 이러한 인지는 T-세포의 활성화 및 후속 작동체 기전, 이를 테면, T 세포의 증식, 사이토킨 분비, 등등을 야기한다. 항원은 면역 시스템에 의해 추가적으로 인지될 수 있고 및/또는 체액 면역 반응 및/또는 세포 면역 반응을 유도할 수 있고, 이는 B 림프구 및/또는 T 림프구의 활성화로 이어질 수 있다

[0077] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "HPV 항원"이란 인간 유두종 바이러스 (HPV)로부터 유래된 폴리펩티드 분자를 지칭하며, 바람직하게는 이때 상기 HPV는 HPV1, HPV2, HPV3, HPV4, HPV6, HPV10, HPV11, HPV16, HPV18, HPV26, HPV27, HPV28, HPV29, HPV30, HPV31, HPV33, HPV34, HPV35, HPV39, HPV40, HPV41, HPV42, HPV43, HPV45, HPV49, HPV51, HPV52, HPV54, HPV55, HPV56, HPV57, HPV58, HPV59, HPV68, HPV69로부터 선택된다. 더욱 바람직하게는, 상기 HPV는 고위험 HPVs, 예를 들면, HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV68, HPV69이다. 일부 구체예들에서, 상기 HPV 폴리펩티드 분자는 E6 및 E7로부터 선택된다.

[0078] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "EBV 항원"은 Epstein-Barr 바이러스 (EBV)로부터 유래된 폴리펩티드 분자를 지칭한다. EBV 항원에는 잠복성 막 단백질 (LMP1, LMP2A, 및 LMP2B) 그리고 Epstein-Barr 핵 항원들 (EBNA1, -2, -3A,

- [0079] -3B, -3C, -LP)이 내포되나, 이에 국한되지 않는다.
- [0080] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "말초 혈액 세포 아형"이란 호산구, 호중구, T 세포, 단핵구, K 세포, 과립구, 그리고 B 세포가 내포되나, 이에 국한되지 않은 말초 혈액에서 정상적으로 발견되는 세포 유형을 지칭한다.
- [0081] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "T 세포"에는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포가 내포된다. 용어 T 세포에는 T 헬퍼 유형 1 T 세포와 T 헬퍼 유형 2 T 세포 모두가 내포된다. T 세포는 표적 세포의 표면 상에 특이적 항원 모이어티를 인지하는 세포 표면 수용체를 발현시킨다. 상기 세포 표면 수용체는 야생형 또는 재조합 T 세포 수용체 (TCR), 키메라 항원 수용체 (CAR), 또는 해당 표적 세포와 연합된 항원성 모이어티를 인지할 수 있는 임의의 다른 표면 수용체일 수 있다. 전형적으로, TCR은 특정 세포의 표면 상에 있는 MHC 단백질에 의해 제시되는 특이적 펩티드에 결합하는 두 개 단백질 쇠 (알파-쇄와 베타-쇄)를 갖는다. TCRs은 표적 세포의 표면 상에 발현되는 MHC 분자 관련 펩티드를 인지한다. TCRs은 암 세포 표면 상에서 직접적으로 제시되는 암 항원들을 또한 인지한다.
- [0082] "유전적으로 변형된 세포", "재-지향된(redirected) 세포", "조작된 세포", "유전적으로 조작된 세포" 또는 "변형된 세포"란 본원에서 사용된 바와 같이, 상기 유전적으로 조작된 항원 수용체 및 체크포인트 억제제를 발현시키는 세포를 지칭한다. 일부 구체예들에서, 상기 유전적으로 변형된 세포는 유전적으로 조작된 TCR을 인코딩하는 벡터와 하나 또는 그 이상의 체크포인트 억제제를 인코딩하는 벡터를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 유전적으로 변형된 세포는 유전적으로 조작된 TCR 및 하나 또는 그 이상의 체크포인트 억제제를 인코딩하는 벡터를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 유전적으로 변형된 세포는 T 림프구 (T 세포)다. 한 구체예에서, 상기 유전적으로 변형된 세포는 천연 킬러 (NK) 세포다.
- [0083] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "유전적으로 조작된" 또는 "유전적으로 변형된"이란 코딩 또는 non-코딩 영역 또는 이의 일부분의 결손, 또는 코딩 영역 또는 이의 일부분의 삽입이 내포되나, 이에 국한되지 않는, 세포의 핵산 서열의 변형을 지칭한다.
- [0084] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "벡터", "클로닝 벡터" 또는 "발현 벡터"란 폴리뉴클레오타이드 서열 (예를 들면, 외래 유전자)을 숙주 세포로 도입시킬 수 있는 비히클을 지칭하며, 이는 숙주를 형질변환시켜, 도입된 서열의 발현 (예를 들면, 전사 및 해독)을 촉진시키기 위한 것이다. 벡터에는 플라스미드, 파아지, 바이러스, 등등이 내포된다. 벡터의 가장 인기있는 유형은 "플라스미드"로써, 이는 관심대상 유전자를 포함하는 추가적인 DNA 세그먼트가 결합될 수 있는 닫힌 원형 이중 가닥으로 된 DNA 루프를 의미한다. 벡터의 또다른 유형은 바이러스 벡터이며, 이때 운반될 핵산 구조체는 바이러스 게놈에 결합된다. 바이러스 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포에서 자율 복제가 가능하거나, 또는 숙주 세포의 게놈에 통합되어 숙주 게놈과 함께 복제될 수 있다. 더욱이, 특정 벡터는 이들이 작동 가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시 할 수 있다. 이러한 벡터를 본 명세서에서 "재조합 발현 벡터" 또는 간단히 "발현 벡터"라고 지칭한다. 본 발명은 다른 형태의 발현 벡터, 이를 테면, 동등한 기능을 제공하는 바이러스 벡터 (예를 들어, 복제 결합성 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연합된 바이러스)와 같은 다른 형태의 발현 벡터가 내포됨을 의도한다.
- [0085] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "레트로바이러스 벡터" 또는 "재조합 레트로바이러스 벡터"란 특정 구체예 내에서 관심대상 핵산 분자의 발현을 지시하는 핵산 구조체를 지칭한다. 레트로바이러스는 이의 바이러스 캡슐 안에 RNA 형태로 존재하고, 숙주 세포에서 복제될 때, 이중-가닥 DNA 중간체를 형성한다. 유사하게, 레트로바이러스 벡터는 RNA 및 이중-가닥 DNA 형태 모두로 존재하는데, 이들 두 형태는 용어 "레트로바이러스 벡터" 및 "재조합 레트로바이러스 벡터" 안에 내포된다. 용어 "레트로바이러스 벡터" 및 "재조합 레트로바이러스 벡터"는 재조합 DNA 단편을 함유하는 DNA 형태 및 재조합 RNA 단편을 함유하는 DNA 형태를 또한 포괄한다. 상기 벡터에는 적어도 하나의 전사 프로모터/인핸서, 또는 유전자 발현을 제어하는 다른 요소들이 내포될 수 있다. 이러한 벡터에는 패키지 신호, 긴 말단 반복 (LTRs) 또는 이의 일부분, 그리고 이용되는 레트로바이러스에 적합한 (만약 레트로바이러스 벡터에 이미 존재하지 않는 경우) 양성 및 음성 가닥 프라이머 결합 부위가 또한 내포될 수 있다. 임의선택적으로, 상기 벡터에는 폴리아데닐화를 지시하는 신호, 선택성 마커, 이를 테면, 암피실린 내성, 네오마이신 내성, TK, 하이그로마이신 내성, 플레오마이신 내성 히스티딘올 내성 또는 DHFR, 뿐만 아니라 하나 또는 그 이상의 제한효소 부위 및 해독 종료 서열이 또한 내포될 수 있다. 예를 들어, 이러한 벡터는 5' LTR, 리딩 서열, tRNA 결합 부위, 패키징 신호, 제 2 가닥 DNA 합성의 기점 및 3' LTR 또는 이의 일부가 내포될 수 있다.
- [0086] 본원에서 사용된 바와 같이, "링커" (L) 또는 "링커 도메인" 또는 "링커 영역"이란 길이가 약 1개 내지 100개 아미노산의 올리고- 또는 폴리펩티드 영역을 지칭하는데, 이들은 본 발명의 TCR의 모데인/영역중 임의의 것에

함께 연계된다. 링커는 글리신 및 세린과 같은 유연성 잔기들로 구성되어, 인접 단백질 도메인들이 서로에 대하여 상대적으로 움직임이 자유롭다. 2개의 인접 도메인이 서로 입체적으로 간섭하지 않도록 하기 위해, 더 긴 링커가 이용될 수 있다. 링커는 절단가능하거나 또는 절단-불가능할 수 있다. 절단가능한 링커의 예시에는 2A 링커 (예를 들면 T2A), 2A-유사 링커 또는 이의 기능적 등가체 및 이의 조합이 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 링커에는 피코크리나바이러스 2A-유사 링커, 돼지 테스초바이러스 (P2A)의 CHYSEL 서열, Thosea asigna 바이러스 (T2A) 또는 이의 조합, 이의 변이체 및 이의 기능적 등가체가 내포된다. 다른 구체예들에서, 링커 서열은 Asp-Val/Ile-Glu-X-Asn-Pro-Gly(2A)-Pro(2B) 모티프를 포함할 수 있고, 이로써 2A 글리신과 2B 프롤린 사이가 절단된다. 다른 링커는 당업자에게 자명할 것이며, 본 발명의 다른 실시예와 관련하여 사용될 수 있다.

[0087] 용어 "약학 제형(pharmaceutical formulation)"이란 이 조성물 안에 포함된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과가 있도록 하기 위한 형태의 조제물을 지칭하며, 제형이 투여되는 대상에게 수용불가능한 독성을 주는 추가 성분들은 포함하지 않는다.

[0088] "약학적으로 수용가능한 운반체(pharmaceutically acceptable carrier)"란, 대상에게 비독성이며, 활성 성분 이외의 약학 제제에 포함된 성분을 지칭한다. 약학적으로 수용가능한 운반체는 완충액, 부형제, 안정화제, 또는 보존제를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0089] 본원에서 사용된 바와 같이, "대상체"는 포유류, 이를 테면, 인간 또는 다른 동물인데, 전형적으로 인간이다. 일부 구체예들에서, 대상체, 가령, 상기 세포, 세포 집단, 또는 조성물이 투여되는 환자는 포유류, 전형적으로 영장류, 이를 테면, 인간이다. 일부 구체예들에서, 영장류는 원숭이 또는 유인원(ape)이다. 상기 대상체는 남성 또는 여성일 수 있으며, 유아, 청소년, 청소년, 성인 및 노인 대상체를 포함한 임의의 적절한 연령일 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 대상체는 비-영장류 포유류, 이를 테면, 설치류다.

[0090] 용어 "대조군"은 시험 샘플에서 발현 생성물과의 비교하기 위해 적합한 임의의 참조 표준을 지칭한다.

[0091] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "억제하다"란 예를 들면, 특정 작용, 기능, 또는 상호작용의 임의의 감소를 지칭한다. 예를 들면, 생물학적 기능, 이를 테면, 단백질의 기능 및/또는 하나의 단백질이 또다른 것에 결합과 같은 기능은 참조 상태, 이를 테면, 야생형 상태 또는 적용 제제 부재시의 상태와 같은 대조군과 비교하였을 때, 감소된다면 이는 억제된다. 예를 들면, PD-1 단백질이 이의 하나 또는 그 이상의 리간드, 이를 테면, PD-L1 및/또는 PD-L2에 결합, 및/또는 생성된 PD-1 신호전달 및 면역 효과는 상기 결합, 신호전달, 그리고 다른 면역 효과가 작용제, 이를 테면, 항-PD-1 항체가 PD-1 단백질이 작용제에 접촉되지 않은 경우에 비교하여, 해당 작용제와의 접촉으로 인하여 감소된다면, 이는 억제 또는 부족하다. 이러한 억제 또는 결핍은 예를 들어 특정 시간 및/또는 장소에서 작용제의 적용에 의해 유도될 수 있거나, 또는 연속 투여에 의해 구성적일 수 있다. 이러한 억제 또는 결핍은 또한 부분적이거나 완전할 수 있다 (예를 들어, 야생형 상태와 같은 대조군과 같은 참조 상태와 비교하여, 본질적으로 측정가능한 활성이 없음). 본질적으로 완벽한 억제 또는 결핍을 차단이라고 한다.

[0092] 본원에서 사용된 바와 같이, "병태" 및 "질환 상태"에는 암, 종양 또는 감염성 질환이 내포될 수 있다. 예시적인 구체예들에서, 이러한 병태에는 악성 신생물 세포 증식 장애 또는 질환의 모든 형태가 내포되지만, 이에 국한되지 않는다. 예시적인 구체예들에서, 병태에는 임의의 하나 또는 그 이상의 신장암, 흑색종, 전립선암, 유방암, 교모세포종, 폐암, 결장암, 또는 방광암이 내포된다.

[0093] 용어 "암"과 "암의"란 조절불가능한 세포 성장을 전형적으로 특징으로 하는 포유류의 생리학적 상태를 지칭하거나 또는 설명한다. 암은 조직 병리학적 유형 또는 침습성 단계에 상관없이, 모든 유형의 암성 성장 또는 발암 과정, 전이 조직 또는 악성 형질 전환된 세포, 조직 또는 기관이 내포되는 것을 의미한다. 고형 종양의 예는 간, 폐, 유방, 림프종, 위장관 (예를 들어, 결장), 비뇨관 (예를 들어, 신장, 요로 세포), 전립선 및 인두에 영향을 미치는 것과 같은 다양한 기관 시스템의 악성 종양, 예를 들어, 육종, 선암종 및 암종을 포함한다. 선암종은 대부분의 결장암, 직장암, 신장-세포 암종, 간암, 폐의 비-소 세포 암종, 소장 암 및 식도암과 같은 악성 종양을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 암은 흑색종, 가령, 진행 단계 흑색종이다. 상기 언급된 암의 전이성 병변은 본 발명의 방법 및 조성물을 사용하여 또한 치료 또는 예방될 수 있다. 치료될 수 있는 다른 암의 예는 골암, 췌장암, 피부암, 머리 또는 목의 암, 피부 또는 안내(intraocular) 악성 흑색종, 자궁암, 난소 암, 직장암, 항문 부위 암, 위암, 고환암, 자궁암, 나팔관 암종, 자궁 내막 암종, 자궁 경부 암종, 질 암종, 외음부의 암종, 비-호지킨 림프종, 식도의 암, 소장의 암, 내분비 계의 암, 갑상선의 암, 부갑상선의 암, 부신의 암, 연조직의 육종, 요도의 암, 음경의 암, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병을 포함한 만성 또는 급성 백혈병, 소아의 고형 종양, 림프구 림프종, 방광의 암, 신장 또는 요관의 암, 신장 골반의 암종, 중추 신경계의 신생물 (CNS), 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관신생, 척추 축 종양, 뇌

간 신경 교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피 암, 편평 상피 세포 암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유도된 암을 포함하는 환경적으로 유발된 암 및 상기 암의 조합을 포함한다. 전이성 암, 특히 PD-L1을 발현시키는 전이성 암 치료(Iwai et al. (2005) Int. Immunol. 17:133-144)는 본원에서 기술된 항체 분자를 이용하여 효과를 볼 수 있다.

[0094] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료", "치료하는" 또는 "개선"이란 치료요법적 처리를 지칭하며, 여기서 목적은 질환 또는 장애와 관련된 상태의 진행 또는 중증도를 역전, 완화, 개선, 억제, 늦추거나 중지시키는 것이다. 용어 "치료하는"이란 병태, 질환 또는 장애, 이를 테면, 암의 적어도 하나의 부작용 또는 증상을 감소 시키거나 또는 완화시키는 것을 포함한다. 치료에서 일반적으로 하나 또는 그 이상의 증상이나 임상 지표가 감소하는 경우, "효과적"이라고 한다. 대안적으로, 질환 진행이 감소하거나 또는 중단되면 치료는 "효과적"이다. 즉, "치료"에는 증상 또는 마커의 개선 뿐만 아니라 치료를 하지 않을 때 예상되는 증상의 진행 또는 악화를 적어도 늦추거나 또는 중단시키는 것도 포함된다. 유의한 또는 바람직한 임상 결과는 탐지가능하거나, 또는 하나 또는 그 이상의 증상(들)의 개선, 질병의 정도의 감소, 질병 상태의 안정화 (즉, 악화되지 않음), 질병의 진행 지연 또는 둔화, 질병 상태의 개선 또는 완화, 그리고 차도(부분적으로 또는 전체적으로)를 포함할 수 있지만, 이에 국한되지는 않는다. 질환의 "치료"라는 용어는 또한 질병의 증상 또는 부작용의 완화(완화 치료 포함)를 제공하는 것이 또한 내포된다. 일부 구체예들에서, 암 치료에는 종양 부피 감소, 암 세포 수 감소, 암 전이 억제, 기대 수명 증가, 암 세포 증식 감소, 암 세포 생존 감소 또는 암 상태와 관련된 다양한 생리적 증상의 개선이 내포된다.

[0095] 본원에서 사용된 바와 같이, 질환의 발달을 "지연(delaying)"시키는 것은 질병(이를 테면, 암)의 발달을 지연, 방해, 늦춤, 지체, 안정화 및 / 또는 연기하는 것을 의미한다. 이러한 지연은 질병의 이력 및/또는 치료되는 개체에 따라 다양한 기간이 될 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 충분히 또는 상당한 지연은 사실상 개체가 질병을 발병하지 않는다는 점에서 예방을 포함할 수 있다. 예를 들면, 말기 단계 암, 이를 테면, 전이 발달이 지연될 수 있다.

[0096] 본원에서 사용된 바와 같이, "예방"이란 질병에 걸리기 쉬울 수 있지만, 아직 질병으로 진단되지 않은 대상체에서 질병의 발생 또는 재발과 관련하여 예방을 제공하는 것을 포함한다. 일부 구체예들에서, 제공된 세포 및 조성물은 질환 또는 장애의 발달을 지연 또는 질환의 진행을 느리게 하는데 이용된다.

[0097] 본원에서 사용된 바와 같이, 기능 또는 활동을 "억제"하는 것은 관심 조건 또는 매개 변수를 제외하고, 다른 동일한 조건과 비교할 때 또는 대안적으로 다른 조건과 비교했을 때, 기능 또는 활동을 감소시키는 것이다. 예를 들면, 종양 성장을 억제시키는 세포는 해당 세포가 없을 때의 종양 성장 속도에 비교하여, 해당 종양의 성장 속도를 감소시킨다.

[0098] 작용제, 가령, 약학 제형, 세포, 또는 조성물의 "유효량(effective amount)"이란 원하는 결과, 이를 테면, 치료요법적 결과 또는 예방 결과를 달성하는데 필요한 투여량/양 및 필요한 시간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0099] 작용제, 예를 들어, 약제학적 제형 또는 세포의 "치료적 유효량"은 질환, 병태 또는 장애의 치료의 원하는 치료 결과, 및/또는 치료의 약동학적 또는 약력학적 효과를 달성하기 위해 필요한 투여량 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다. 치료적 유효량은 질환 상태, 연령, 성별, 대상체의 체중 및 투여되는 세포 집단과 같은 요인에 따라 달라질 수 있다. 일부 구체예들에서, 제공된 방법은 세포 및/또는 조성물을 유효량, 예를 들어, 치료 유효량으로 투여하는 것을 포함한다.

[0100] 작용제의 "예방차원의 유효량"이란 원하는 예방 결과를 달성하는데 필요한 투여량 및 필요한 시간 동안 효과적인 양을 지칭한다. 전형적으로, 그러나, 반드시 그런 것은 아니지만, 예방적 투여 분량(dose)은 질환의 전 또는 초기 단계에 이용되기 때문에, 예방적으로 효과적인 양은 치료요법적으로 효과적인 양보다 적을 것이다. 낮은 종양 부하의 맥락에서, 일부 측면에서 예방적 유효량은 치료 유효량보다 높을 것이다.

[0101] 본원에서 기술된 각종 구체예들에 따르면, 본 발명은 조작된 세포 및 해당 조작된 세포를 함유하는 조성물/제형을 제공한다. 본 발명은 상기 조작된 세포를 제작하는 방법 또는 공정을 또한 제공하며, 이는 병리학적 질환 또는 병태를 갖는 환자 치료에 유용할 것이다.

[0102] 더욱이, 본원에서 기술된 각종 구체예들에 따르면, 본 발명은 세포를 유전적으로 변형에 적합한 핵산 구조체를 포함하는 재조합 벡터를 제공하는데, 이는 병리학적 질환 또는 병태를 갖는 환자 치료에 유용할 것이다.

[0103] 더욱이, 본원에서 기술된 각종 구체예들에 따르면, 본 발명은 세포를 유전적으로 변형에 적합한 핵산 구조체를 포함하는 재조합 벡터를 제공하는데, 이는 병리학적 질환 또는 병태를 갖는 환자 치료에 유용할 것이며, 이때

상기 핵산은 다음을 인코딩한다: (a) 항원에 특이적으로 결합하는 유전적으로 조작된 항원 수용체; 그리고 (b) 종양 표적의 발현을 감소 또는 감소에 효과적인 억제성 단백질. 각종 구체예들에서, 상기 세포는 상기 유전적으로 조작된 항원 수용체 및 상기 억제성 단백질을 발현시킨다. 각종 구체예들에서, 상기 억제성 단백질은 구성적으로 발현된다.

[0104] 제공된 세포, 조성물, 방법 및 용도를 이용한 치료를 위한 질환, 병태 및 장애에는 종양(고형 종양, 혈액 악성 종양, 그리고 흑색종을 비롯), 그리고 감염성 질환, 이를 테면, 감염 with 바이러스 또는 다른 병원균, 가령, HPV, HIV, HCV, HBV, EBV, HTLV-1, CMV, 아데노바이러스, BK 폴리오마르바이러스, HHV-8, MCV 또는 다른 병원균, 및 기생충 질환이다. 일부 구체예들에서, 상기 질환 또는 병태는 종양, 암, 악성종양, 신생물, 또는 기타 증식성 질환 또는 장애다. 이러한 질환에는 다음이 내포되나, 이에 국한되지 않는다: 백혈병, 림프종, 예를 들어, 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 급성 림프구성 백혈병 (ALL), 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 백혈병, 다발성 골수종, 불응성 여포성 림프종, 맨틀 세포 림프종, 무통성(indolent) B 세포 림프종, B 세포 악성종양, 자궁 경부암, 결장암, 폐암, 간암, 유방암, 전립선암, 난소암, 피부암, 흑색종, 뼈 및 뇌암, 난소암, 상피암, 신장 세포암종, 췌장 선암, 호지킨 림프종, 자궁경부 암종, 대장 암, 교모세포종, 신경 모세포종, 유잉 육종, 수모세포종, 골육종, 활액 육종 및/또는 중피종.

[0105] T 세포 수용체 및 결합 분자

[0106] 본 명세서는 T 세포 수용체 (TCR) 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 구체예들에서, "T 세포 수용체" 또는 "TCR"은 가변 (또는 알파) 및 b (또는 베타) 쇠 (각각 TCR α 및 TCR β 로도 알려짐) 또는 가변 g (또는 감마) 및 d (또는 델타) 쇠 (각각 TCR γ 및 TCR δ 로도 알려짐) 또는 이의 항원-결합 부분을 함유하고, 항원, 가령, MHC 분자에 결합된 펩티드 항원 또는 펩티드 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있는 분자다. 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 ab 형태다. 전형적으로, $\alpha\beta$ 및 $\gamma\delta$ 형태로 존재하는 TCRs는 일반적으로 구조적으로 유사하지만, 이를 발현시키는 T 세포는 뚜렷한 해부학적 위치 또는 기능을 가질 수 있다. 일반적으로, TCR은 T 세포 (또는 T 림프구)의 표면에서 발견되며, 이때 그것은 일반적으로 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 분자에 결합된 펩티드와 같은 항원을 인식하는 역할을 한다.

[0107] 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 무손상 또는 전장 TCR, 이를 테면, a 쇠 및 b 쇠를 함유하는 TCR이다. 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 전장 TCR보다 작지만 MHC-펩티드 복합체에 결합하는 것과 같이, MHC 분자에 결합된 특정 펩티드에 결합하는 항원-결합 부분이다. 일부 경우에, TCR의 항원-결합 부분 또는 단편은 전장 또는 무손상 TCR의 구조적 도메인의 일부만을 함유할 수 있지만, 전체 TCR이 결합하는 MHC-펩티드 복합체와 같은 펩티드 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 경우들에서, 항원-결합 부분은 TCR의 가변 도메인, 이를 테면, TCR의 가변 a (Va) 쇠 및 가변 b (Vb) 쇠, 또는 특이적 MHC-펩티드 복합체에 결합하기 위한 결합 부위를 형성하는데 충분한 이의 항원-결합 단편들을 함유한다.

[0108] TCR의 가변 도메인들은 상보성 결정 영역 (CDRs)를 함유하는데, 이는 일반적으로 펩티드, MHC 및/또는 MHC-펩티드 복합체의 항원 인지 및 결합 능력 및 특이성에 대한 일차 기여체다. 일부 구체예들에서, TCR의 CDR 또는 이의 조합은 주어진 TCR 분자의 항원-결합 부위 모두 또는 실질적으로 모두를 형성한다. TCR 쇠의 가변 영역내 다양한 CDRs는 CDRs와 비교하였을 때, TCR 분자중에서 가변성을 더 적게 나타내는 일반적으로 프레임워크 영역 (FRs)에 의해 전형적으로 분리된다 (가령, Jores et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A. 87:9138, 1990; Chothia et al., EMBO J. 7:3745, 1988; Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27:55, 2003 또한 참고). 일부 구체예들에서, CDR3은 항원 결합 또는 특이성을 담당하는 주요 CDR이며, 또는 항원 인지, 및/또는 펩티드-MHC 복합체의 프로세싱된 펩티드 부분과 상호작용을 위하여 주어진 TCR 가변 영역 상에 3개 CDR중 가장 중요하다. 일부 경우에서, 알파 쇠의 CDR1은 정 항원성 펩티드의 N-말단 부분과 상호작용할 수 있다. 일부 경우에서, 베타 쇠의 CDR1은 해당 펩티드의 C-말단 부분과 상호작용할 수 있다. 일부 경우에서, CDR2는 MHC-펩티드 복합체의 MHC 부분과 상호작용 또는 인지 담당에 가장 강력하게 기여하거나, 또는 일차 CDR이다.

[0109] 일부 구체예들에서, TCR의 a-쇠 및/또는 b-쇠는 불변 도메인, 막경유 도메인 및/또는 짧은 세포질 꼬리를 또한 함유할 수 있다 (가령, Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 3 Ed., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997). 일부 측면에서, TCR의 각 쇠 (예를 들면, 알파 또는 베타)는 한 개의 N-말단 면역글로불린 가변 도메인, 한 개의 면역글로불린 불변 도메인, 막경유 영역, 그리고 C-말단 단부에서 짧은 세포질 꼬리를 소유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 세포질 꼬리를 통한 TCR은 신호 형질도입을 증가하는데 연루된 CD3 복합체의 불변(invariant) 단백질과 연합한다. 일부 경우들에서, 상기 구조는 CD3 및 이의 하위단위와 유사한 다른 분자와 연합하는 것을 허용한다. 예를 들면, 막경유 영역을 갖는 불변 도메인을 함유하

는 TCR은 세포 막에서 단백질을 고정시킬 수 있고, CD3 신호전달 장치 또는 복합체의 불변 하위단위와 연합할 수 있다. CD3 신호전달 하위단위 (예를 들면, CD3 γ , CD3 δ , CD3 ϵ 및 CD3 ζ 쇠)의 세포내 꼬리는 하나 또는 그 이상의 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 IT AM을 함유하고, 일반적으로 TCR 복합체의 신호전달 능력에 연루된다.

[0110] TCR의 다양한 도메인 또는 영역을 결정하거나 또는 확인하는 것은 숙련된 기술자의 수준 내에 있다. 일부 경우에서, 도메인 또는 영역의 정확한 위치는 특정 구조적 모델링 또는 상동성 모델링 또는 특정 도메인을 설명하는 데 사용되는 기타 속성에 따라 달라질 수 있다. TCR의 도메인 구성을 설명하기 위해 사용되는 서열 식별 번호로 제시된 특정 서열을 포함하는 아미노산에 대한 언급은 예시 목적을 위한 것이며, 제공된 구체예들의 범위를 제한하는 것을 의미하지 않는 것으로 이해되어야 한다. 일부 경우들에서, 특이적 도메인 (예를 들면, 가변 또는 불변)은 몇 가지 더 긴 또는 더 짧은 아미노산 (이를 테면, 하나, 둘, 셋 또는 넷)일 수 있다 일부 측면들에서, TCR 잔기들은 공지되어 있거나, 또는 International Immunogenetics Information System (IMGT) 번호매김 체계 (예를 들면, www.imgt.org 참고; Lefranc et al. (2003) Developmental and Comparative Immunology, 27(1):55-77; 그리고 The T Cell Factsbook 2nd Edition, Lefranc and LeFranc Academic Press 2001 참고)에 따라 확인될 수 있다.

[0111] 일부 구체예들에서, TCR의 a 쇠 및 b 쇠 각각은 불변 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, a 쇠 불변 도메인 (Ca) 및 b 쇠 불변 도메인 (Cb)은 개별적으로 포유류, 이를 테면, 인간 또는 무린 불변 도메인이다. 일부 구체예들에서, 상기 불변 도메인은 세포 막에 인접해있다. 예를 들면, 일부 경우들에서, 두 개 쇠에 의해 형성된 TCR의 세포의 부분은 2개의 막-근위 불변 도메인들, 그리고 2개의 막-원위 가변 도메인들을 함유하는데, 각 가변 도메인은 CDRs을 함유한다.

[0112] 일부 측면들에서, 인간 불변 영역, 이를 테면, 인간 Ca 영역을 포함하는 알파 쇠와 인간 Cb를 함유하는 베타 쇠를 함유하는 TCRs가 본원에서 제공된다. 일부 구체예들에서, 제공된 TCRs은 온전한 인간이다. 제공된 TCRs중에는 인간 불변 영역을 함유하는 TCRs, 이를 테면, 온전한 인간 TCRs으로써, 이를 테면, 인간 세포, 예를 들면, 인간 T 세포, 이를 테면, 원발성 인간 T 세포에서 발현될 때 이의 발현 및/또는 활성이 내재성 인간 TCR의 존재에 의해 영향을 받지 않거나 또는 실질적으로 영향을 받지 않는다.

[0113] 일부 구체예들에서, 상기 조작된 TCRs은 내생성 인간 TCR을 함유하거나 또는 이를 발현시키는 인간 세포, 이를 테면, 인간 T 세포에 의해 발현될 때, 유사한 인간 세포이지만, 상기 내생성 TCR의 발현이 감소되었거나 또는 제거된 세포에서 동일한 TCR의 발현, 기능 활성 및/또는 항-종양 활성 수분과 비교하여 세포 표면 상에 유사한 수준 또는 개선된 수준으로 발현되고, 유사한 또는 더 큰 기능적 활성 (예를 들면, 세포용해성 활성)을 나타내고 및/또는 유사한 또는 더 큰 항-종양 활성을 나타낸다. 일부 실시예에서, 본원에서 기술된 바와 같은 조작된 TCR은 인간 T 세포에서 발현될 때, 유사한 인간 세포이지만, 상기 내생성 TCR의 발현이 감소되었거나 또는 제거된 세포에서 동일한 TCR의 발현 수준의 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115% 또는 120% 수준으로 해당 세포 표면에서 발현된다.

[0114] 일부 구체예들에서, 각 Ca 도메인과 Cb 도메인은 인간이다. 일부 구체예들에서, 상기 Ca는 TRAC 유전자 (IMGT 명명법)에 의해 인코딩되며, 또는 이의 변이체다. 일부 구체예들에서, Ca의 변이체는 적어도 하나의 비 고유 시스테인의 대체, 이를 테면, 본원에서 기술된 임의의 대체를 함유한다.

[0115] 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 이를 테면, 이황화물 결합 또는 이황화물 결합들에 의해 연계된 두 개 쇠 a와 b의 이중이량체일 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 TCR의 불변 도메인은 짧은 연결 서열을 함유할 수 있는데, 이때 시스테인 잔기는 이황화물결합을 형성하고, 이로 인하여 TCR의 두 개 쇠가 연계된다. 일부 구체예들에서, TCR은 각 a 쇠와 b 쇠에 추가 시스테인 잔기를 보유할 수 있고, 상기 TCR은 상기 불변 도메인들에서 두 개 이황화물 결합을 함유한다. 일부 구체예들에서, 상기 불변 도메인과 가변 도메인 각각은 시스테인 잔기들에 의해 형성된 이황화물 결합을 함유한다.

[0116] 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 본원에서 기술된 바와 같이, CDRs, Va 및/또는 Vb 그리고 불변 영역 서열을 포함한다.

[0117] 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 전장 TCR이다. 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 항원-결합 부분이다. 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 이량체 TCR (dTCR)이다. 일부 구체예들에서 dTCR은 제 1 폴리펩티드, 이때 제공된 TCR a 쇠 가변 영역 서열에 상응하는 서열이 TCR a 쇠 불변 영역 세포의 서열에 상응하는 서열의 N 말단에 융합되며, 그리고 제 2 폴리펩티드, 이때 제공된 TCR b 쇠 가변 영역 서열에 상응하는 서열이 TCR b 쇠 불변 영역 세포의

서열에 상응하는 서열의 N 말단에 융합되며, 이때 제 1 폴리펩티드와 제 2 폴리펩티드는 이황화물 결합에 의해 연계된다.

- [0118] 일부 구체예들에서, TCR은 세포-결합되거나, 또는 가용성 형태일 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 세포 표면 상에 발현된 세포-결합된 형태에 있다.
- [0119] 일부 구체예들에서, 상기 TCR은 단일쇄 TCR (scTCR)이다. 상기 scTCR은 MHC-펩티드 복합체에 결합할 수 있는 a쇄와 b쇄를 함유하는 단일 아미노산 가닥이다. 전형적으로, scTCR은 당업자에 공지된 방법에 의해 만들어질 수 있는데, 가령, WO 96/13593, WO 96/18105, W099/18129, WO 04/033685, W02006/037960, W02011/044186; U.S. 특허 번호. 7,569,664를 참고한다; 이들 각 참조는 본원에 이의 전문이 참고자료로 편입된다.
- [0120] 결합 분자, 이를 테면, 항원(가령, 암 항원)에 연합된 펩티드 에피토프에 결합하거나 또는 인지하는 결합 분자가 본원에서 제공된다. 일부 구체예들에서, 상기 항원은 MHC 분자 맥락에서 암 세포 및/또는 Epstein-Barr 바이러스 (EBV) 또는 인간 유두종바이러스 (HPV)로 감염된 세포의 표면에서 발현된 펩티드 에피토프일 수 있다. 이러한 결합 분자에는 T 세포 수용체 (TCRs) 및 이의 항원-결합 단편들 그리고 이러한 펩티드 에피토프에 결합하거나 또는 인지하는 항원 특이성을 나타내는 항체 및 이의 항원 결합 단편들이 내포된다. 상기 결합 분자를 인코딩하는 핵산, 상기 결합 분자를 함유하는 조작된 세포, 조성물, 그리고 이러한 결합 분자, 조작된 세포 또는 조성물을 투여하는 것과 관련된 치료 방법이 일부 구체예들에서 또한 제공된다. 일부 측면들에서, 제공된 결합 분자, 예를 들면, TCR 또는 항원-결합 단편을 발현시키는 조작된 세포는 해당 펩티드 에피토프를 발현시키는 표적 세포, 이를 테면, 암 세포 또는 EBV에 감염된 세포에 대항하는 세포독성 활성을 나타낸다.
- [0121] 일부 측면들에서, 본 명세서는 TCR 또는 이의 항원 결합 단편 또는 항체, 가령, 이의 항체 단편들, 그리고 단백질 이를 테면, 전술한 것들 중 하나 또는 그 이상을 함유하는 키메라 분자, 이를 테면, 키메라 수용체, 가령, TCR-유사 CARs를 비롯한 분자를 제공하며, 및/또는 상기 TCRs 또는 CARs을 발현시키는 조작된 세포들은 EBV로부터 유래된 펩티드 에피토프에 결합한다. 일부 구체예들에서, 상기 결합 분자는 항-LMP2 결합 분자이다.
- [0122] 일부 측면들에서, 상기 결합 분자는 MHC 분자, 이를 테면, MHC 클래스 I 분자 맥락에서 에피토프를 인지하거나 또는 이에 결합한다. 일부 측면들에서, 상기 MHC 클래스 I 분자는 인간 백혈구 항원 (HLA)-A2 분자, 그리고 이의 임의의 하나 또는 그 이상의 아형, 예를 들면, HLA-A*0201, *0202, *0203, *0206, 또는 *0207을 비롯한 것들이다. 일부 경우들에서, 상이한 집단 간에 아형의 빈도에서 차이가 있을 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, HLA-A2 양성 백인(Caucasian) 집단의 95% 이상은 HLA-A*0201인 반면, 중국인(Chinese) 집단에서 빈도는 대략적으로 다음과 같이 보고되었다: 대략적으로 23% HLA-A*0201, 45% HLA-A*0207, 8% HLA-A*0206 및 23% HLA-A*0203. 일부 구체예들에서, MHC 분자는 HLA-A*0201이다. 일부 구체예들에서, 본 명세서는 EBV-LMP2/HLA-A02 복합체에 결합하는 TCR 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0123] 일부 구체예들에서, 상기 결합 분자, 가령, TCR 또는 이의 항원-결합 단편 또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 단리되거나, 정제되거나, 또는 재조합체다. 특정 구체예들에서, 제공된 임의의 결합 분자, 예를 들면, TCRs 또는 이의 항원-결합 단편들 또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편들은 재조합체다. 일부 측면들에서, 상기 결합 분자, 가령, TCR 또는 이의 항원-결합 단편 또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간이다. 일부 구체예들에서, 상기 결합 분자는 단일클론성이다. 일부 측면들에서, 상기 결합 분자는 단일쇄다. 다른 구체예들에서, 상기 결합 분자는 두 개쇄를 함유한다. 일부 구체예들에서, 상기 결합 분자, 가령, TCR 또는 이의 항원-결합 단편 또는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 세포 표면 상에서 발현된다.
- [0124] 일부 구체예들에서, 상기 Va 영역은 서열 식별 번호: 1, 5, 또는 9중 임의의 하나에서 제시된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 Vb 영역은 서열 식별 번호: 2, 6, 또는 10중 임의의 서열로 제시된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 Va 영역은 본원에서 기술된 바와 같이, 하나 또는 그 이상의 Va CDR 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 Vb 영역은 본원에서 기술된 바와 같이 하나 또는 그 이상의 Vb CDR 서열을 포함한다.
- [0125] 본 명세서는 본원에서 기술된 바와 같이, TCR a쇄 및/또는 b쇄를 또한 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 a쇄는 서열 식별 번호: 35, 37, 또는 39중 임의의 서열로 제시된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 b쇄는 서열 식별 번호: 36, 38, 또는 40중 임의의 서열로 제시된 아미노산 서열, 또

는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 a 채는 본원에서 기술된 바와 같이, 하나 또는 그 이상의 Va CDR 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 b 채는 본원에서 기술된 바와 같이 하나 또는 그 이상의 Vb CDR 서열을 포함한다.

[0126] **Epstein-Barr 바이러스 감염 및 암**

[0127] Epstein Barr 바이러스 (EBV)는 발암성으로 확인된 최초 바이러스중 하나다. EBV는 CD21 및 MHC 클래스 II와의 상호 작용을 통해 B 세포 감염에 매우 효과적이다. EBV는 또한 상피 세포를 감염시키고, 이에 유지될 수 있다. 사실상 전 세계의 모든 성인이 EBV에 노출되었다. 면역 손상이 없는 경우, 어린 시절 초기에 노출되면 세포 면역 반응에 의해 제어되는 자가-제한적 질병이 발생한다. Epstein Barr 바이러스 (EBV) 및 EBV 관련 질환에 대한 면역 방어의 존재는 잘 알려져 있다. 숙주가 바이러스 단백질에 대한 항원 특이적 T-세포를 생성하는 것은 바이러스에 대항하여 매우 효과적이다. 그러나, EBV는 완전히 제거되지 않고, 상피 또는 B 세포에서 지속될 수 있다. 숙주의 면역 상태의 변화는 재-활성화로 이어질 수 있으며, 면역 손상 정도에 따라 이러한 재-활성화는 악성으로 이어질 수 있다.

[0128] EBV는 실질 기관 및 조혈 세포 이식 (HSCT)에 관여하며, T-세포의 수가 감소하거나 또는 부재하면, EBV를 보유하는 B 세포의 무제한 증식을 유발할 수 있다. 이러한 통제되지 않은 확장은 이식-후 림프 증식성 질환 (PTLD), 가장 흔한 것으로 이식-후 악성 종양으로 이어질 수 있다. 이 증후군의 빈도와 강도는 환자마다 다르며, 면역 억제제가 T-세포 집단에 미치는 영향에 따라 상이하다. EBV는 다른 악성종양에도 또한 연루된다. 여러 라인의 연구에서 EBV가 다양한 상피 및 림프성 악성 종양의 병인에 연루되었다. 예를 들면, 호지킨 림프종 (Glaser, et al. "Epstein-Barr 바이러스-연합된 Hodgkin's disease: epidemiologic characteristics in international data." International journal of cancer 70.4 (1997): 375-382)과 비-호지킨 림프종이 EBV와 관련된다는 것은 알려진 사실이다. EBV와 비인두 암종 간의 명백한 인과관계가 또한 존재한다 (NPC; Raab-Traub "Nasopharyngeal carcinoma: an evolving role for the Epstein-Barr virus." Epstein Barr Virus Volume 1. Springer, Cham, 2015. 339-363.). 호지킨 림프종 및 NPC 환자의 종양 샘플은 잠복성 단백질 2 (LMP2)를 포함하는 EBV 유래 단백질을 발현시킨다. LMP-2는 또한 EBV-관련 위암의 40 %에서 발견되었다. 이들은 비-자가이며, EBV에 대한 세포 면역 반응의 주요 표적이기 때문에, 면역 요법 접근법에 이상적인 표적을 나타낸다.

[0129] EBV와 연합된 LMP2(+) 인간 악성종양에는 버킷 림프종, 면역억제성 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 만성 염증과 연합된 미만성 거대 B-세포 림프종, 림프종 육아종증, 형질모세포 림프종, 원발성삼출 림프종, 이식-후 림프증식성 장애, 비인두암, 위 선암종, 림프상피종-연합된 암종, 그리고 면역결핍-관련 평활근육종이 내포된다. 이들 장애는 가령, WO/2019/213416 A1; Thompson et al., "Epstein-Barr virus and cancer." Clinical Cancer Research 10.3 (2004): 803-821에 기술되며, 이들 모두는 전체가 본원에 참고로 포함된다

[0130] 휴지기 B-세포의 EBV 감염/형질전환은 잠복성 림프 모세포종 라인 (LCL)을 생성한다. LCL은 잠복 복제에 존재하며, 에피솜으로 바이러스 게놈의 여러 복사체를 운반한다. 그들은 잠복기 단계에 따라 달라지는 잠복 단백질로 명명된 많은 바이러스 유전자 산물을 발현시킨다. 총 10개 잠복 단백질이 기술된다: 6개 Epstein 바이러스 Nuclear 항원들 (EBNA 1, 2, 3A, 3B, 3C 및 LP), 3개 잠복성 막 단백질 (LMP 1, 2A 및 2B) 그리고 BARF1. 최초 EBV 감염은 B-세포를 활성화시키고, EBNA1, EBNA2, EBNA3, LMP1, LMP2 및 BARF1이 발현될 때, 잠복 III을 유도한다. 이들 단백질은 가령, Bollard, et al., "T-cell therapy in the treatment of post-transplant lymphoproliferative disease." Nature reviews Clinical oncology 9.9 (2012): 510에 기술되며, 이는 전문이 본원에 참고로 포함된다

[0131] 본 명세서는 EBV 감염 및/또는 EBV 유도된 질환 및 장애를 치료하는 방법을 제공한다.

[0132] **조작된 세포**

[0133] 본 명세서는 본원에서 기술된 바와 같이 TCR 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 다른 유사한 항원-결합 분자를 포함하는 조작된 세포 (가령, T 세포)를 제공한다. 이들 조작된 세포는 본원에서 기술된 바와 같은 다양한 장애 또는 질환 (가령, 바이러스 감염, 암, 바이러스-유도된 장애)를 치료하는데 이용될 수 있다.

[0134] 각종 구체예들에서, 상기 조작된 세포는 동물 및 인간으로부터 수득될 수 있지만, 이에 국한되지 않는다. 각종 구체예들에서, 상기 조작된 세포는 백혈구, 림프구 또는 임의의 다른 적합한 혈액 세포 유형이 내포된 혈구지만, 이에 국한되지 않는다. 바람직하게는, 상기 세포는 말초 혈액 세포다. 더욱 바람직하게는, 상기 세포는 T 세포, B 세포 또는 NK 세포다.

- [0135] 또다른 구체예에서, 상기 세포는 T 세포다. 본 발명에 이용된 T 세포의 예로는 다음이 내포되나, 이에 국한되지 않는다: 시험관내에서 환자로부터 분리된 T 세포 (가령, 중앙 침윤성 림프구) 배양에서 획득된 세포; 환자의 말초 혈액으로부터 분리된 T 세포에 바이러스 벡터를 형질도입시켜 획득된 TCT 유전자-변형된 T 세포; 그리고 CAR-형질도입된 T 세포. 바람직하게는, 상기 T 세포는 TCR 유전자-변형된 T 세포다.
- [0136] 본 발명의 구체예에서, 상기 세포는 NK 세포다.
- [0137] 일부 구체예들에서, 상기 공작된 세포들의 준비는 하나 또는 그 이상의 배양 및/또는 준비 단계들이 내포된다. 결합 분자, 가령, TCR의 도입을 위한 세포는 샘플, 이를 테면, 생물학적 샘플, 가령, 대상체서 획득한 또는 대상체로부터 유래된 샘플로부터 분리될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 세포가 분리되는 대상체는 세포 치료요법이 필요한 질환 또는 상태를 가진 대상체, 또는 세포 치료요법이 투여되어야 하는 대상체이다. 일부 구체예들에서, 대상체는 특정 치료요법적 중재, 이를 테면, 세포들이 분리, 프로세싱, 및/또는 공작되는 채택성 세포 치료요법이 요구되는 인간이다.
- [0138] 일부 구체예들에서, 분리 방법들에는 상기 세포에서 하나 또는 그 이상의 특이적 분자, 이를 테면, 표면 마커, 가령, 표면 단백질들, 세포내 마커, 또는 핵산의 발현 또는 실재에 근거하여 상이한 세포 유형의 분리가 내포된다. 일부 구체예들에서, 이러한 마커 기반의 분리를 위한 임의의 공지 방법들이 이용될 수 있다. 일부 구체예들에서, 이러한 분리는 친화력-기반 또는 면역친화력-기반 분리다. 예를 들면, 일부 측면들에서, 이러한 분리에는 상기 세포 상에서 하나 또는 그 이상의 마커, 전형적으로 세포 표면 마커의 발현 또는 발현 수준에 근거한 세포 또는 세포 집단의 분리가 내포되는데, 예를 들면, 이러한 마커에 특이적으로 결합하는 항체 또는 결합짝과 항은 처리하고, 이어서 결합된 항체 또는 결합짝을 보유한 세포를 이러한 결합된 항체 또는 결합짝이 없는 세포로부터 세척 및 분리함으로써 이뤄진다.
- [0139] 이러한 분리 단계는 결합된 시약을 보유하는 세포를 추가 사용을 위하여 유지시키는 양성적 선별; 및/또는 항체 또는 결합짝이 결합되지 않은 세포를 유지시키는 음성적 선별에 기초될 수 있다. 일부 실시예에서, 이들 분획은 모두 추가 사용을 위해 유지된다. 일부 측면들에서, 음성적 선별은 이중성 집단에서 세포 유형을 특이적으로 식별하는 항체가 없는 경우에 특히 유용할 수 있어서, 원하는 집단 이외의 세포에 의해 발현된 마커에 기초한 분리가 가장 잘 수행된다.
- [0140] 결합 분자를 발현시키기 위한 방법, 핵산, 조성물 및 키트, 그리고 이러한 결합 분자를 발현시키는 유전적으로 공작된 세포를 만들기 위한 방법, 핵산, 조성물 및 키트가 또한 제공된다. 유전 공학은 일반적으로 이를 테면, 레트로바이러스 전달, 형질감염, 또는 형질전환을 통하여, 치료요법적 분자, 예를 들면, TCR, CAR, 예를 들면, TCR-유사 CAR, 폴리펩티드, 융합 단백질을 인코딩하는 핵산을 이 세포 안으로 도입시키는 것과 관련된다. 일부 구체예들에서, 유전자 전달은 우선 세포를 자극시키는데, 이를 테면, 세포에 이를 테면, 증식, 생존, 및/또는 활성화와 같은 반응을 유도하는 자극(이것은 가령, 사이토킨 또는 활성화 마커의 발현의 측정으로 확인됨)을 복합시키고, 이어서 가령, 활성화된 세포를 형질도입시키고, 그리고 임상 적용에 충분한 수가 되도록 배양으로 확장시켜서 이루어진다.
- [0141] 일부 구체예들에서, 재조합 핵산은 재조합 감염성 바이러스 입자들, 이를 테면, 가령, 원숭이 바이러스 40 (SV40), 아데노바이러스, 아데노-연합된 바이러스 (AAV)에서 유래된 벡터를 이용하여 세포로 전달된다. 일부 구체예들에서, 재조합 핵산은 재조합 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터, 이를 테면, 감마-레트로바이러스 벡터를 이용하여 T 세포로 전달된다. 일부 구체예들에서, 레트로바이러스 벡터, 가령, 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스 (MoMLV), 골증식성 육종 바이러스 (MPSV), 뮤린 배아 줄기 세포 바이러스 (MESV), 뮤린 줄기 세포 바이러스 (MSCV), 또는 비장 포커스 형성 바이러스 (SFFV)로부터 유래된 레트로바이러스 벡터는 긴 말단 반복 서열 (LTR)을 갖는다. 대부분의 레트로바이러스 벡터는 뮤린 레트로바이러스로부터 유도된다. 일부 구체예들에서, 이 레트로바이러스에는 임의의 조류 또는 포유류 세포 출처로부터 유래된 것들이 내포된다. 이 레트로바이러스는 전형적으로 암포트로픽(amphotropic)으로써, 이것은 이들 바이러스는 인간을 비롯한 몇 가지 종의 숙주 세포를 감염시킬 수 있음을 의미한다. 일부 구체예들에서, 상기 벡터는 렌티바이러스 벡터다. 일부 구체예들에서, 재조합 핵산은 전기천공을 통하여 T 세포로 전달된다. 일부 구체예들에서, 재조합 핵산은 전좌를 통하여 T 세포로 전달된다. 면역 세포들로 유전적 물질을 도입시키고, 이를 발현시키는 다른 방법들에는 인산 칼슘염 형질감염, 원형질체(protoplast) 융합, 양이온성 리포솜-매개된 형질감염; 텅스텐 입자-실행된 미립자 투하; 그리고 스트론튬 인산염 DNA 공-침전이 내포된다. 이들 방법중 많은 것들이 가령, W02019195486에 기술되며, 이는 이의 전문이 본원의 참고자료에 편입된다.

- [0142] **재조합 벡터**
- [0143] 임의의 벡터 또는 벡터 유형을 이용하여 유전 물질을 세포로 전달할 수 있다. 이들 벡터에는 플라스미드 벡터, 바이러스 벡터, BACs, YACs, 그리고 HACs가 내포되나, 이에 국한되지 않는다. 따라서, 바이러스 벡터에는 재조합 레트로바이러스 벡터, 재조합 렌티바이러스 벡터, 재조합 아데노바이러스 벡터, 포미(foamy) 바이러스 벡터, 재조합 아데노-연합된 바이러스 (AAV) 벡터, 하이브리드 벡터, 그리고 플라스미드 트랜스포존 (예를 들면, 잠꾸러기 트랜스포존 시스템) 또는 인테그라제(integrase) 기반 벡터 시스템이 내포되나, 이에 국한되지 않는다. 본 발명의 다른 실시 예와 관련하여 사용될 수 있는 다른 벡터는 당업자에게 명백할 것이다.
- [0144] 또다른 구체예에서, 이용된 벡터는 재조합 레트로바이러스 벡터다. 바이러스 벡터는 바이러스 벡터 제조에 특이적인 배양 배지에서 성장할 수 있다. 바이러스 벡터를 성장시키기 위한 임의의 적합한 성장 배지 및/또는 보충제가 본원에 기재된 구체예들에 따라 사용될 수 있다.
- [0145] **유전적으로 조작된 항원 수용체**
- [0146] 유전적으로 조작된 항원 수용체에는 T 세포 수용체 (TCRs), 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체 패밀리를 (KIRs), C-유형 렉틴 수용체 패밀리를, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 패밀리를 (LILRs), 유형 1 사이토킨 수용체, 유형 2 사이토킨 수용체 패밀리를, 중앙 피사 인자 패밀리를, TGF β 수용체 패밀리를, 케모킨 수용체, 그리고 IgSF가 내포되나, 이에 국한되지 않는다.
- [0147] 본 발명의 구체예에서, 핵산 구조체에 의해 인코딩된 상기 유전적으로 조작된 항원 수용체는 유전적으로 조작된 NK 세포 수용체를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 NK 세포 수용체는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체 패밀리를 (KIRs)를 포함한다. 대체 구체예들에서, 상기 NK 세포 수용체는 C-유형 렉틴 수용체 패밀리를 포함한다.
- [0148] 다른 구체예들에서, 핵산 구조체에 의해 인코딩된 상기 유전적으로 조작된 항원 수용체는 유전적으로 조작된 T 세포 수용체(TCR)를 포함한다. 한 구체예에서, TCR을 발현시키는 T 세포는 $\alpha\beta$ -T 세포다. 대체 구체예들에서, TCR을 발현시키는 T 세포는 $\gamma\delta$ -T 세포다.
- [0149] **표적화된 항원**
- [0150] 일부 구체예들에서 질환 또는 장애 연합된 항원은 HPV, HIV, HCV, HBV, EBV, HTLV-1, CMV, 아데노바이러스, BK 폴리오마르 바이러스, HHV-8, MCV 또는 다른 병원균, 고아 티로신 키나제 수용체 ROR1, tEGFR, Her2, L1-CAM, CD19, CD20, CD22, 메소텔린, CEA, 그리고 간염 B 표면 항원, 항-염산 수용체, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, EGP-2, EGP-4, EPHA2, ErbB2, 3, 또는 4, FBP, 태아 아세틸콜린 e 수용체, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-알파, IL-13R-알파2, kdr, 카파 경쇄, Lewis Y, L1-세포 흡착 분자, MAGE-A1, 메소텔린, MUC1, MUC16, PSCA, NKG2D 리간드, NY-ESO-1, MART-1, gp100, 중앙태아 항원, ROR1, TAG72, VEGF-R2, 암배아 항원 (CEA), 전립선 특이적 항원, PSMA, Her2/neu, 에스트로젠 수용체, 프로게스테론 수용체, 에피린B2, CD123, CS-1, c-Met, GD-2, 그리고 MAGE A3 및/또는 바이오티닐화된 분자로 구성된 군에서 선택된다.
- [0151] 상기 유전적으로 조작된 항원 수용체는 인간 유두종바이러스 (HPV)의 항원에 결합한다. HPV의 아형은 HPV1, HPV2, HPV3, HPV4, HPV6, HPV10, HPV11, HPV16, HPV18, HPV26, HPV27, HPV28, HPV29, HPV30, HPV31, HPV33, HPV34, HPV35, HPV39, HPV40, HPV41, HPV42, HPV43, HPV45, HPV49, HPV51, HPV52, HPV54, HPV55, HPV56, HPV57, HPV58, HPV59, HPV68, HPV69로부터 선택되나, 이에 국한되지 않는다. 일부 구체예들에서, 상기 유전적으로 조작된 항원 수용체에 의해 효적화된 HPV의 아형은 적어도 하나의 고위험 HPV, 예를 들면, HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV68, HPV69로부터 선택되나, 이에 국한되지 않는다.
- [0152] 일부 구체예들에서, 상기 HPV 항원에는 E1, E2, E3, E4, E6 및 E7, L1 및 L2 단백질이 내포되나, 이에 국한되지 않는다. 또다른 구체예에서, 상기 항원은 E6 항원이다. 유전히 또다른 구체예에서, 상기 항원은 E7 항원이다. 또다른 구체예에서, 상기 항원은 HPV16 E6 항원이다.
- [0153] 다른 구체예들에서, 상기 유전적으로 조작된 항원 수용체는 EBV의 항원에 결합한다. 상기 EBV 항원은 잠복성 막 단백질 (LMP1, LMP2A, LMP2B) 및 Epstein-Barr 핵 항원들 (EBNA1, -2, -3A, -3B, -3C, -LP)로부터 선택되나, 이에 국한되지 않는다.
- [0154] 따라서, 치료될 질환 또는 병태는 감염성 질환 또는 병태, 이를 테면, 바이러스, 레트로바이러스, 박테리아, 그리고 프로토조아 감염, 면역결핍, 인간 유두종 바이러스 (HPV), Cytomegalo 바이러스 (CMV), Epstein-Barr 바이러스 (EBV), 아데노바이러스, BK 폴리오마바이러스에 의한 감염이나, 이에 국한되지 않는다. 일부 구체예들에

서, 질환 또는 병태는 바이러스 연합된 악성종양 예를 들면, HPV, HCV, EBV, HIV, HHV-8, HTLV-1, 그리고 MCV 이다. 바람직하게는, 상기 제공된 조성물, 세포, 방법 및 용도로 치료하기 위한 바이러스-연합된 악성종양은 HPV 또는 EBV 연합된 암이다. 더욱이, 상기 제공된 조성물, 세포, 및 방법은 HPV 또는 EBV 연합된 암으로 인한 고형 종양 치료에 이용될 수 있다. 구체적으로, 질병 또는 병태는 HPV 관련 암을 포함하고, 자궁 경부암, 구강 인두암, 항문암, 항문관, 항문직장암, 질암, 외음부 및 음경 암이 내포되나, 이에 국한되지는 않는다. 상기 질환 또는 병태에는 HPV 연합된 두경부암, HPV 관련 자궁 경부암이 내포된다. 특히, 상기 질환 또는 병태에는 EBV 연합된 암, 예를 들면, 비인두 암, 림프종, 유방암 및 간세포 암종이 또한 내포된다.

[0155] **체크포인트 억제제**

[0156] 각종 구체예들에서, 상기 조작된 세포는 적어도 하나의 체크포인트 억제제 (CPI)를 발현시킨다. 본 발명의 조작된 세포에 의해 발현되는 억제성 단백질 또는 CPI는 면역 체크포인트를 억제 또는 차단시키고, 이때 상기 면역 체크포인트는 PD-1, PD-L1, PD-L2, 2B4 (CD244), 4-1BB, A2aR, B7.1, B7.2, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, BTLA, 부티로필린, CD160, CD48, CTLA4, GITR, gp49B, HHLA2, HVEM, ICOS, ILT-2, ILT-4, KIR 패밀리를 수용체, LAG-3, OX-40, PIR-B, SIRPalpha (CD47), TFM-4, TIGIT, TIM-1,

[0157] TIM-3, TIM-4, VISTA 및 이의 조합을 포함한다.

[0158] 일부 구체예들에서, 상기 억제성 단백질은 PD-1 또는 PD-L1을 차단한다. 각종 구체예들에서, 상기 억제성 단백질은 항-PD-1 scFv를 포함한다. 상기 억제성 단백질은 T 세포에서 PD-1 또는 PD-L1의 감소된 발현을 유도하거나 및/또는 PD-1 또는 PD-L1의 상호조절을 억제하거나 및/또는 PD-1/PD-L1 복합체의 형성 및 후속 신호 전달도입을 물리적으로 차단시킬 수 있다. 한 구체예에서, 상기 억제성 단백질은 PD-1을 차단시킨다.

[0159] **핵산 구조체**

[0160] 도 1A를 참고하면, 다양한 바람직한 구조체에서, 핵산 구조체는 두 개 서열을 포함하고, 이때 이 두 서열에는 다음이 내포된다: (a) 마우스 TCR 알파쇄의 불변 영역에 융합된 항-LMP2 TCR의 알파쇄의 가변 영역, "aLMP-2_Va-Ca"로 확인됨, 이때 aLMP-2_Va는 항-LMP2 TCR의 알파쇄의 가변 영역에 상응하며, Ca는 마우스 TCR 알파쇄의 불변 영역에 상응하고; (b) 마우스 TCR 베타쇄의 불변 영역에 융합된 동일한 항-LMP2 TCR의 베타쇄의 가변 영역, "aLMP-2_Vb-Cb"로 확인됨, 이때 aLMP-2_Vb는 동일한 인간 항-LMP2 TCR의 베타쇄의 가변 영역에 상응하고, Cb는 마우스 TCR 베타쇄의 불변 영역에 상응한다. 한 구체예에서, 상기 핵산 구조체는 신호 펩티드를 인코딩하는 서열을 더 포함한다.

[0161] 도 1B를 참고하면, 다양한 구체예들에서, 핵산 구조체는 3개 서열을 포함하며, 이때 상기 3개 서열에는 다음이 내포된다: (a) 마우스 TCR 알파쇄의 불변 영역에 융합된 인간 TCR의 알파쇄의 가변 영역, "Va-Ca"로 확인됨, 이때 Va는 인간 TCR의 알파쇄의 가변 영역에 상응하며, Ca는 마우스 TCR 알파쇄의 불변 영역에 상응하며; (b) 마우스 TCR 베타쇄의 불변 영역에 융합된 동일한 인간 TCR의 베타쇄의 가변 영역, "Vb-Cb"로 확인됨, 이때 Vb는 동일한 인간 TCR의 베타쇄의 가변 영역이고, Cb는 마우스 TCR 베타쇄의 불변 영역에 상응하며; 그리고, (c) 중쇄의 가변 영역 C 말단에서 유연성 링커 펩티드를 통하여 TCRβRII의 세포외 도메인의 리간드-결합 서열에 융합된 면역 체크포인트 억제제 (ICI)의 중쇄와 경쇄(GS 링커에 의해 연계됨)의 가변 영역. 바람직한 구체예들에서, 상기 핵산 구조체는 신호 펩티드를 인코딩하는 서열을 더 포함한다. 일부 구체예들에서, 인간 TCR은 항-LMP2 TCR이다. 일부 다른 구체예들에서, 인간 TCR은 항-E-6 TCR이다. 일부 구체예들에서, 상기 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-1 항체다. TCRs의 가변 영역은 신호 펩티드 서열에 연결될 수 있다.

[0162] 상기 핵산 구조체에는 형질감염, 형질도입, 통합, 복제, 전사, 해독, 발현 및/또는 구조체의 안정화를 지원 또는 가능하게 하는 다른 서열이 더 내포될 수 있다. 바람직한 구체예들에서, 상기 핵산 구조체는 앞에 언급된 서열 (a), (b) 및/또는 (c)를 연계시키는 P2A 및/또는 T2A 서열을 포함한다.

[0163] 본 명세서는 본원에서 기술된 바와 같이, TCR a쇄 및/또는 b쇄를 인코딩하는 핵산을 또한 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 a쇄를 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호: 41, 43, 또는 45에서 제시되는 임의의 하나의 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 b쇄를 인코딩하는 핵산은 서열 식별 번호: 42, 44, 또는 46에서 제시되는 임의의 하나의 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 a쇄는 본원에서 기술된 바와 같이, 하나 또는 그 이상의 Va CDR 서열을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 b쇄는 본원에서 기술된 바와 같이, 하나 또는 그 이상의 Vb CDR 서열을 포함한다.

[0164] **조작된 세포를 준비하는 방법**

[0165] 본 발명은 상기 조작된 세포를 제작하고, 병리학적 질환 또는 병태의 치료에 상기 조작된 세포를 이용하는 방법 또는 공정을 제공한다. 상기 방법은 다음의 단계들을 포함한다: (I) 환자의 혈액으로부터 T 세포를 분리시키는 단계; (II) 유전적으로 조작된 항원 수용체 및 억제성 단백질을 인코딩하는 핵산 구조체가 내포된 바이러스 벡터로 상기 T 세포 집단에 형질도입시키는 단계; (III) 상기 형질도입된 세포를 시험관내에서 확장시키는 단계; 그리고, (IV) 상기 확장된 세포를 해당 환자로 주입시키는 단계, 이때 상기 조작된 T 세포는 항원 양성 종양 세포를 찾아, 이를 파괴한다. 일부 구체예들에서, 이들 조작된 T 세포는 PD-1/PD-L1 면역억제를 차단시키고, 항종양 면역 반응을 강화시킬 수 있다.

[0166] 상기 방법은 다음을 더 포함한다: 단계 (II)에 앞서, 본 발명의 핵산 구조체를 함유하는 바이러스 벡터로 T 세포를 형질감염시킨다.

[0167] T 세포의 형질감염은 임의의 표준 방법, 이를 테면, 인산칼슘염, 전기천공, 리포좀 매개된 전달, 현미주사, 바이러스 입자 전달 시스템, 또는 당업자에게 공지된 임의의 기타 방법을 이용하여 이루어질 수 있다. 일부 구체예들에서, T 세포의 형질감염은 인산칼슘염 방법을 이용하여 실행된다.

[0168] 본원에 기재된 다양한 구체예에 따라, 본 발명은 종양, 구체적으로 EBV 및 HPV 연합된 암에 대항하는 면역치료 요법을 제공한다. 상기 조작된 T 세포는 종양 연합된 HPV/EBV 항원을 인지하고, 예정된 세포 사멸 단백질 1 (PD-1) 및 TGF β 를 차단시키는 단일-쇄 항체 (scFv) 융합 단백질을 동시에 분비시킨다. 이들 조작된 T 세포는 더 강력한 항종양 반응과 감소된 T 세포 고갈을 나타낸다.

[0169] PD-1 체크포인트 차단이 본 발명에 더 효과적인 것으로 실험적으로 밝혀졌는데, 그 이유는 (1) 항-PD-1 약물 전달이 종양 부위로 국소화되고, 그리고 (2) 상기 항-PD-1 단일-쇄 항체는 현행 기존 항체보다 더 강력하게 결합하기 때문이다. 또한, 비-특이적 염증으로 인한 독성이 감소되는데, 그 이유는 항-PD-1 약물 전달이 종양 부위로 국소화되기 때문이다. 본 발명은 항-LMP2 TCR 및 항-PD-1의 조합이 기존 대안과 비교하여 T 세포 활성화를 개선시키고 및/또는 T 세포 고갈을 방지한다는 것을 제공한다.

[0170] 또한, 본 발명은 개인 맞춤형 항-종양 면역치료요법을 창출하는 방법을 제공한다. 항-LMP2+/항-PD-1 조작된 T 세포는 환자의 혈액으로부터 만들어질 수 있다. 이들 조작된 T 세포를 세포 치료요법 산물로 해당 환자에 재-주입한다. 이 산물은 비인두 암종, 호지킨 림프종, 버킷 림프종, 위암 및 기타 암이 내포되나, 이에 국한되지 않은 EBV LMP2 연합된 종양을 가진 임의의 환자에게 적용될 수 있다.

[0171] **변이체 & 변형**

[0172] 상기 결합 분자, 가령, TCR 또는 이의 항원-결합 단편은 변형될 수 있다. 특정 구체예들에서, 상기 결합 분자, 가령, TCRs 또는 이의 항원-결합 단편들에는 결합 분자, 가령, 본원에서 기술된 TCR의 서열과 비교하여, 하나 또는 그 이상의 아미노산 변이, 가령, 치환, 결손, 삽입 및/또는 돌연변이가 내포된다. 예시적인 변이체에는 상기 결합 분자의 결합 친화력 및/또는 기타 생물학적 속성을 개선시키도록 기획된 것들이 내포된다. 결합 분자의 아미노산 서열 변이체들은 상기 결합 분자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 안으로 적절한 변형을 도입시킴으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 만들어질 수 있다. 이러한 변형은 예를 들면, 이러한 결합 분자의 아미노산 서열 안에 잔기의 결손 및/또는 삽입 및/또는 잔기의 치환을 포함한다. 만일 최종 구조체가 바람직한 특징, 가령, 항원-결합을 보유한다면, 최종 구조체에 결손, 삽입, 및 치환의 임의의 조합이 있을 수 있다.

[0173] 일부 구체예들에서, 부모계 결합 분자, 가령, TCR의 CDR 안에 하나 또는 그 이상의 잔기들이 치환된다. 일부 구체예들에서, 예를 들면, 가령, 인간 대상체에게 투여시 면역원성의 가능성을 감소시키기 위해, 이 서열에서 서열 또는 위치를 생식세포계열 서열, 이를 테면, 생식세포계열 (가령, 인간 생식세포계열)에서 발견되는 결합 분자 서열로 역전시키는 치환이 만들어진다.

[0174] 본 명세서는 또한 TCRs에 대해 상기에서 기술된 바와 같이, CDRs중 임의의 하나 또는 그 이상을 함유하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 알파쇄에 함유된 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3을 함유하고, 베타쇄에 함유된 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3을 함유하는 가변 중쇄 및 경쇄를 함유한다.

[0175] 일부 구체예들에서, 항체의 중쇄 및 경쇄는 전장이거나 또는 항원-결합 부분 (Fab, F(ab')₂, Fv 또는 단일쇄 Fv 단편 (scFv))일 수 있다. 다른 구체예들에서, 상기 항체 중쇄 불변 영역은 가령, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, 및 IgE, 구체적으로 가령, IgG1, IgG2, IgG3, 그리고 IgG4, 더 구체적으로, IgG1

(가령, 인간 IgG1)로부터 선택된다. 일부 구체예들에서, 상기 항체 경쇄 불변 영역은 가령, 카파 또는 람다, 구체적으로 카파로부터 선택된다. 항원-결합 단편은 무손상(intact) 항체가 결합하는 항원에 결합하는 손상되지 않은 항체의 부분을 포함하는 손상되지 않은 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항원-결합 단편의 예시에는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 가변 중쇄 (VH) 영역, 단일-쇄 항체 분자 이를 테면, scFvs 및 단일 도메인 VH 단일 항체; 그리고 항체 단편들로부터 형성된 다중특이적 항체가 내포되나, 이에 국한되지 않는다. 특정 구체예들에서, 상기 항체는 가변 중쇄 영역 및/또는 가변 경쇄 영역, 이를 테면, scFvs를 포함하는 단일-쇄 항체 단편들이다. 단일-도메인 항체는 이 항체의 중쇄 가변적 도메인의 전부 또는 일부분 또는 경쇄 가변적 도메인의 전부 또는 일부분이 포함된 항체 단편들이다. 특정 구체예들에서, 단일-도메인 항체는 인간 단일-도메인 항체다.

[0176] 일부 구체예들에서, 상기 항체 또는 항원-결합 이의 일부분은 재조합 수용체, 이를 테면, 항원 수용체의 일부분으로써 세포 상에서 발현된다. 상기 항원 수용체들중에는 기능적 비-TCR 항원 수용체들, 이를 테면, 키메라 항원 수용체들 (CARs)이 있다. 일반적으로, MHC 분자 맥락에서 펩티드로 지향되는 TCR-유사 특이성을 나타내는 항체 또는 항원-결합 단편을 함유하는 CAR은 TCR-유사 CAR이라고 불릴 수 있다. 따라서, 제공된 결합 분자들중, 가령, EBV 결합 분자는 항원 수용체, 이를 테면, 제공된 항체, 가령, TCR-유사 항체중 하나가 내포된 것들이다. 일부 구체예들에서, 상기 항원 수용체 및 기타 키메라 수용체는 LMP2, 예를 들면, TCR-유사 항체의 영역 또는 에피토프에 특이적으로 결합한다. 상기 항원 수용체들중에는 기능적 비-TCR 항원 수용체들, 이를 테면, 키메라 항원 수용체들 (CARs)이 있다. CARs를 발현시키는 세포, 적응성 세포 요법에서의 용도, 이를 테면, HPV 또는 EBV 발현과 연관된 질환 및 장애의 치료에서의 용도 또한 제공된다.

[0177] TCR-유사 CARs는 MHC 분자 맥락에서 도시되거나 또는 제시될 때, 이를 테면, T 세포 에피토프 또는 펩티드 에피토프에 대해 T 세포 수용체 특이성을 나타내는 비-TCR 분자를 함유한다. 일부 구체예들에서, TCR-유사 CAR은 가령, TCR-유사 항체, 이를 테면, 본원에서 기술된 항체 또는 항원-결합 이의 일부분을 함유할 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 항체 또는 항체-결합 이의 일부분은 MHC 분자 맥락에서 특이적 펩티드 에피토프에 반응성이며, 이때 상기 항체 또는 항체 단편은 MHC 분자의 맥락에서 특이적 펩티드를 MHC 분자 단독, 특이적 펩티드 단독, 그리고, 일부 경우들에서, MHC 분자 맥락에서 무관 펩티드와 구별할 수 있다. 일부 구체예들에서, 항체 또는 항원-결합 이의 일부분은 T 세포 수용체 보다 더 높은 결합 친화력을 나타낼 수 있다.

[0178] CARs이 내포된 예시적인 항원 수용체, 그리고 이러한 수용체를 조작하는 방법 및 이를 세포 안으로 도입시키는 방법들에는 예를 들면, U.S. 특허 출원 공개 번호 2002/131960, US2013/287748, US2013/0149337, U.S. 6,451,995, U.S. 7,446,190, U.S. 8,252,592에 기재된 것들이 내포되며; 이들 각각은 이의 전문이 본원의 참고 자료에 편입된다.

[0179] 일부 구체예들에서, 상기 CARs에는 MHC 분자 맥락에서 펩티드에 대해 특이적인 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로써 일반적으로 세포의 항원 (또는 리간드) 결합 도메인이 내포되는데, 이들은 하나 또는 그 이상의 세포내 신호전달 성분들(일부 측면들에서 링커 및/또는 막경유 도메인(들)을 통하여)에 연계된다. 일부 구체예들에서, 이러한 분자는 천연 항원 수용체, 이를 테면, TCR를 통한 신호, 그리고 임의선택적으로, 공동-자극 수용체와 조합된 이러한 수용체를 통한 신호를 모방하거나 또는 근접할 수 있다.

[0180] 일부 구체예들에서, 상기 CAR에는 전형적으로 이의 세포의 부분 하나 또는 그 이상의 항원 결합 분자, 이를 테면, 하나 또는 그 이상의 항원-결합 단편, 도메인, 또는 부분, 또는 하나 또는 그 이상의 항체 가변 도메인들, 및/또는 항체 분자들이 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 CAR에는 항체 분자의 항원-결합 부분 또는 부분들, 이를 테면, 단일클론성 항체 (mAb)의 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL)로부터 유래된 단일-쇄 항체 단편 (scFv)이 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 CAR은 TCR-유사 항체, 이를 테면, MHC 분자 맥락에서 세포 표면 상에 제시되는 펩티드 에피토프를 특이적으로 인지하는 항체 또는 항원-결합 단편 (가령, scFv)을 함유한다.

[0181] 이중기능성 트랩 융합 단백질

[0182] 본 명세서는 또한 이중기능성 트랩 융합 단백질을 제공한다. 면역 체크포인트 (가령, PD-1 또는 PD-L1)를 표적으로 하는 단일클론성 항체가 이들 작용제의 주요 클래스다. PD-1 수용체는 활성화된 T 세포 및 천연 킬러 (NK) 세포 상에서 발현된다. 항원 제시 세포 상에서 전형적으로 발현되는 이의 리간드 PD-L1 및 PD-L2와의 상호작용 후, PD-1은 T 및 NK 세포의 성숙, 증식, 그리고 작동체 기능을 억제시킴으로써, 면역 반응을 조절한다.

[0183] 면역 체크포인트의 발현에 추가적으로, 상기 종양 미세환경은 다른 면역억제성 분자를 함유한다. 그중 흥미로운 것은 암에서 다중기능을 갖는 사이토킨 TGF- β (TGFB)이다. TGF- β 는 종양 발달 초기에 증식을 방해하고, 종양

세포의 분화 및 세포자멸을 촉진시킨다. 그러나, 종양 진행 동안, TGF- β 수용체 발현의 상실 또는 하류 신호 요소에 대한 돌연변이로 인해, 종양 TGF- β 무감각이 발생한다. 그 다음 TGF- β 는 혈관 신생, 상피-에서-간엽으로 전이(EMT) 유도 및 면역 억제에 대한 효과를 통해 종양 진행을 촉진시킨다. 혈장의 높은 TGF- β 수준 및 종양에서의 TGF- β 수용체 (TGF β R) 발현 상실은 나쁜 예후와 관련된다. TGF β -표적화된 요법은 제한적인 임상적 활성을 입증하였다.

[0184] 일부 측면들에서, 본 명세서는 면역 체크포인트 및 TGF- β 음성 조절 경로 모두를 표적으로 할 수 있는 이중기능성 트랩 단백질을 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 이중기능성 트랩 단백질은 PD-1 및 TGF- β 를 모두 표적으로 한다. 일부 구체예들에서, 상기 이중기능성 트랩 단백질은 PD-L1 및 TGF- β 를 모두 표적으로 한다. 일부 구체예들에서, 상기 이중기능성 융합 단백질은 PD-L1을 차단시키고, TGF- β 를 격리시킨다. M7824 (MSB0011395 C)는 인간 IgG1 단일클론성 항체 (mAb) 아벨루마에 기반을 둔, 인간 항-PD-L1 scFv의 C-말단에 연계된 인간 TGF- β 수용체 II (TGF β RII)의 세포의 도메인을 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 이중기능성 융합 단백질은 인간 항-PD-1 scFv의 C-말단에 연계된 인간 TGF- β 수용체 II (TGF β RII)의 세포의 도메인을 포함한다.

[0185] 이들 이중기능성 트랩 융합 단백질은 가령, Knudson, et al. "M7824, a novel bifunctional anti-PD-L1/TGF β Trap fusion protein, promotes anti-tumor efficacy as monotherapy and in combination with vaccine." Oncoimmunology 7.5 (2018): e1426519(이는 이의 전문이 본원의 참고자료에 편입됨)에서 기술된다.

[0186] 본 명세서는 본원에서 기술된 바와 같은 TCR 또는 항원-결합 분자와 하나 또는 그 이상의 이중기능성 트랩 융합 단백질과 조합하여 이용함으로써, 본원에서 기술된 바와 같은 다양한 질환 (가령, 암)을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 대상체는 본원에서 기술된 바와 같은 TCR 또는 항원-결합 분자 및 하나 또는 그 이상의 이중기능성 트랩 융합 단백질을 발현시키는 세포로 치료된다.

[0187] 조성물, 제형 및 투여 방법

[0188] 본 명세서는 기재된 방법에 의해 만들어진 상기 조작된 T 세포 및 이의 집단을 함유하는 조성물(약제학적 조성물 및 치료요법적 조성물을 비롯)을 제공한다. 상기 조작된 T 세포 및 이의 조성물을 대상체, 가령, 환자에게 투여하기 위한 방법, 가령, 치료요법적 방법이 또한 제공된다.

[0189] A. 조성물 및 제형

[0190] 약제학적 조성물 및 제형, 이를 테면, 주어진 투여량 또는 이의 분획으로 투여를 위한 다수의 세포가 내포된 단위 투약형 조성물이 내포된, 투여를 위한 조작된 T 세포가 내포된 조성물이 제공된다. 상기 약제학적 조성물 및 제형에는 하나 또는 그 이상의 임의선택적 약제학적으로 수용가능한 담체 또는 부형제가 내포될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 조성물에는 적어도 한 가지 추가 치료요법제가 내포된다.

[0191] 일부 구체예들에서, 담체의 선택은 특정 세포 (가령, T 세포 또는 NK 세포) 및/또는 투여 방법에 의해 일부 결정된다. 따라서, 다양한 적합한 제형이 있다. 예를 들면, 상기 약제학적 조성물은 보존제를 함유할 수 있다. 적합한 보존제는 예를 들어, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 벤조에이트 나트륨 및 염화 벤잘코늄을 내포할 수 있다. 일부 구체예들에서, 두 가지 또는 그 이상의 보존제 혼합물이 이용된다. 보존제 또는 이의 혼합물은 전체 조성물 중량의 약 0.0001% 내지 약 2%의 양으로 전형적으로 존재한다. 담체는 가령, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)에서 기술된다. 약제학적으로 수용가능한 담체는 이용되는 투약형 및 농도에서 수령자에게 비독성이며, 그리고 생리학적으로 수용가능한 담체의 예로는 완충액, 이를 테면, 인산염, 시트르산염, 및 다른 유기산; 아스코르브산, 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제 (이를 테면, 옥타데실 디메틸벤질 암모니움 클로라이드; 헥사메토니움 클로라이드; 벤잘코니움 클로로이드, 벤제토니움 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤 이를 테면, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르씨놀; 사이클로헥사놀; 3-펜타놀; 그리고 m-크레솔); (약 10개 미만 잔기의) 저분자량 폴리펩티드; 단백질, 이를 테면, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로블린; 친수성 폴리머 이를 테면, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 이를 테면, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 그리고 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린이 포함된 기타 탄수화물; 킬레이트 물질들, 이를 테면 EDTA; 슈가, 이를 테면, 수크로스, 만니톨, 트레할로스, 또는 솔비톨; 염-형성 카운터-이온, 이를 테면, 나트륨, 금속 착물 (가령, Zn-단백질 착물); 및/또는 비이온성 계면활성제, 이를 테면, 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이 내포된다.

[0192] 본 발명에 사용되는 적합한 완충제에는 예를 들어, 시트르산, 시트르산 나트륨, 인산, 인산 칼륨 및 다양한 다른 산 및 염이 내포된다. 일부 구체예들에서, 둘 이상의 완충제의 혼합물이 사용된다. 완충제 또는 이의 혼합물은 전체 조성물 중량의 약 0.001% 내지 약 4%의 양으로 전형적으로 존재한다. 투여가능한 약제학적 조성물을 제

조하는 방법은 공지되어 있다. 예시적인 방법들은 예를 들면, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005)에 상세히 기술된다.

- [0193] 제형에는 수용액이 내포될 수 있다. 제형 또는 조성물은 조작된 T 세포로 치료되는 특정 징후, 질환 또는 병태에 유용한 하나 또는 그 이상의 활성 성분, 바람직하게는 해당 세포에 상보적인 활성(이때 각각의 활성이 서로에 악영향을 미치지 않는)을 갖는 것들을 또한 함유할 수 있다. 이러한 활성 성분들은 목적하는 목적에 효과적인 양으로 적절하게 조합하여 존재한다. 따라서, 일부 구체예들에서, 약제학적 조성물은 화학요법제, 예를 들어, 아스파라기나제, 부술판, 카르보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 젬시타빈, 히드록시우레아, 메토타렉세이트, 파클리탁셀, 리톡시맙, 빈블라스틴 및/또는 빈크리스틴을 더 내포할 수 있다.
- [0194] 일부 구체예들에서, 약제학적 조성물 조성물은 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는데 효과적인 양, 예를 들어 치료요법적 유효량 또는 예방적 유효량으로 해당 세포를 함유한다. 일부 구체예들에서, 치료 또는 예방 효능은 치료 대상체의 주기적 평가에 의해 모니터링된다. 원하는 투여량은 세포의 단일 볼루스(bolus) 투여, 세포의 다중 볼루스 투여, 또는 세포의 연속 주입 투여에 의해 전달 될 수 있다.
- [0195] 세포 및 조성물은 표준 투여 기술, 제형 및/또는 장치를 사용하여 투여 될 수 있다. 세포의 투여는 자가 (autologous) 또는 이종(heterologous)일 수 있다. 예를 들면, 면역반응성 T 세포 또는 전구 세포는 하나의 대상체로부터 수득될 수 있고, 본원에 기재된 각종 구체예들에 따르면 이들을 유전적으로 변형시킨 후, 동일한 대상체 또는 상이한 양립가능한 대상체에게 투여될 수 있다. 말초 혈액 유래된 면역반응성 T 세포 또는 그 자손(예를 들어, 생체내, 생체-외 또는 시험관-내에서 유래된)은 카테터 투여, 전신 주사, 국소 주사, 정맥 주사 또는 비-경구 투여가 내포된 국소 주사를 통해 투여될 수 있다. 일반적으로, 치료 조성물 (예를 들어, 유전적으로 변형된 면역반응 세포를 함유하는 약제학적 조성물)을 투여할 때, 이는 일반적으로 단위 투여량 주사가 가능한 형태 (용액, 현탁액, 에멀전)로 제형화된다.
- [0196] 본원에서 기술된 제형에는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 폐, 경피, 근육내, 비강내, 볼, 설하, 또는 좌약 투여가 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 세포 집단은 비경구로 투여된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "비-경구"에는 정맥 내, 근육 내, 피하, 직장, 질 및 복강내 투여가 내포된다. 일부 구체예들에서, 세포는 정맥 내, 복강 내 또는 피하 주사에 의한 말초 전신 전달을 사용하여 대상체에게 투여된다.
- [0197] 일부 구체예들에서, 조성물은 멸균 액체 제제, 예를 들어 등장성 수용액, 현탁액, 에멀전, 분산액 또는 점성 조성물로서 제공되며, 이는 일부 측면에서 선택된 pH로 완충될 수 있다. 액체 조성물은 일반적으로 겔, 기타 점성 조성물 및 고체 조성물보다 제조하기가 더 용이하다. 또한, 액체 조성물은 특히 주사에 의해 투여하기에 다소 더 편리하다. 반면에 점성 조성물은 특정 조직과의 더 긴 접촉 기간을 제공하기 위해, 적절한 점도 범위 내에서 제형화될 수 있다. 액체 또는 점성 조성물은 담체를 포함할 수 있는데, 이는 예를 들면, 물, 염수, 인산염 완충된 염수, 폴리올 (가령, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜), 그리고 이들의 적합한 혼합물들을 함유하는 용매 또는 분산액 매질이 될 수 있다.
- [0198] 멸균 주사 용액은 적합한 담체, 희석제 또는 멸균수, 생리 식염수, 글루코스, 텍스트로스 또는 이와 유사한 것들과 같은 부형제와의 혼합물과 같이 용매에 세포를 혼입시켜 준비할 수 있다. 상기 조성물은 원하는 투여 경로 및 제제에 따라, 습윤제, 분산제 또는 유화제 (가령, 메틸 셀룰로스), pH 완충제, 겔화제 또는 점도 향상 첨가제, 방부제, 향미제 및/또는 색상과 같은 보조 물질을 포함할 수 있다. 적절한 준비를 준비하기 위해 일부 측면에서 표준 텍스트를 참조할 수 있다.
- [0199] 항균 방부제, 항산화제, 킬레이트제 및 완충제를 비롯하여 조성물의 안정성 및 무균성을 향상시키는 다양한 첨가제를 첨가할 수 있다. 미생물 작용의 예방은 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 및 소르브 산과 같은 다양한 항균 및 항진균제에 의해 보장될 수 있다. 흡수를 지연시키는 물질, 이를 테면, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴과 같은 물질을 이 조성물에 사용함으로써 주사가 가능한 약제학적 형태의 연장된 흡수를 가져올 수 있다.
- [0200] 생체내 투여에 사용되는 제형은 일반적으로 무균이다. 멸균은 예를 들어, 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성 될 수 있다.
- [0201] B. 입양 세포 치료요법에서 조작된 T 세포의 투여 및 사용 방법
- [0202] 상기 세포, 집단, 및 조성물을 투여하는 방법, 그리고 이러한 세포, 집단, 및 조성물을 암을 비롯한 질환, 병태 및 장애 치료 또는 예방을 위해 사용하는 방법이 제공된다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 방법은 본원에서

기술된 바와 같은 질환, 병태 및 장애 발달 위험을 감소시킬 수 있다.

- [0203] 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 세포, 집단, 및 조성물은 가령, 입양 세포치료요법, 이를 테면, 입양 T 세포 치료요법을 통하여 치료될 특정 질환 또는 병태를 갖는 대상체 또는 환자에게 투여된다. 일부 구체예들에서, 제공된 방법에 의해 준비된 세포 및 조성물, 이를 테면, 항온처리 및/또는 다른 처리 과정 후 조작된 조성물 및 생산-종료 조성물은 대상체, 이를 테면, 질환 또는 병태를 갖는 또는 이의 위험에 처한 대상체에게 투여된다. 일부 측면들에서, 이에 의해 방법은 예를 들어, 조작된 T 세포에 의해 인지되는 항원을 발현하는 암에서 종양 부하를 감소시킴으로써, 질환 또는 병태의 하나 또는 그 이상의 증상을 치료한다.
- [0204] 입양 세포치료요법 을 위한 세포 투여 방법은 공지되어 있으며, 제공된 방법 및 조성물과 관련하여 사용될 수 있다. 예를 들면, 입양 T 세포 치료요법 방법은 가령, US 특허 출원 공개 번호 2003/0170238, Gruenberg et al.; U.S. 특허 4,690,915, Rosenberg; Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85)에 기술된다. 가령, Themeli et al. (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara et al. (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338 참고.
- [0205] 일부 구체예들에서, 상기 세포 치료요법, 가령, 입양 T 세포 치료요법은 자가 전달에 의해 실행되는데, 이때 상기 T 세포는 단리되거나 및/또는 그렇지 않으면 세포 치료요법을 제공받는 대상체로부터 준비되거나, 또는 이러한 대상체로부터 유래된 샘플로부터 준비된다. 따라서, 일부 측면들에서, 상기 세포는 대상체, 가령, 치료를 요하는 환자로부터 유래되며, 단리 및 가공 후 해당 세포는 동일한 대상체에게 투여된다.
- [0206] 일부 구체예들에서, 상기 세포 치료요법, 가령, 입양 T 세포 치료요법은 동종이계(allogeneic) 전달에 의해 실행되며, 이때 상기 T 세포는 단리되거나 및/또는 그렇지 않으면 해당 세포 치료요법을 제공받는, 또는 궁극적으로 제공받는 대상체이외의 대상체, 가령, 제 1 대상체로부터 준비된다. 이러한 구체예들에서, 그 다음 상기 세포는 상이한 대상체, 가령, 동일한 종의 제 2 대상체에게 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 대상체와 제 2 대상체는 유전적으로 동일하다. 일부 구체예들에서, 상기 제 1 대상체와 제 2 대상체는 유전적으로 유사하다. 일부 구체예들에서, 상기 제 2 대상체는 제 1 대상체와 동일한 HLA 클래스 또는 슈퍼유형(supertype)을 발현시킨다.
- [0207] 일부 구체예들에서, 상기 대상체는 상기 세포 또는 이 세포를 함유하는 조성물을 투여하기 전, 질환 또는 병태, 예를 들면 종양을 표적으로 하는 치료요법적 작용제로 치료받았다. 일부 측면들에서, 상기 대상체는 다른 치료요법적 작용제에 불응성 또는 비-반응적이다. 일부 구체예들에서, 대상체는 예를 들어, 화학 요법, 방사선 및/또는 조혈 줄기 세포 이식 (HSCT), 예를 들어, 동종이계 HSCT를 비롯한 다른 치료요법적 개입으로 치료한 후, 지속성 또는 재발성 질환을 갖는다. 일부 구체예들에서, 투여는 해당 대상체가 또다른 요법에 내성이 있음에도 불구하고, 효과적으로 이 대상체를 치료한다.
- [0208] 일부 구체예들에서, 상기 대상체는 다른 치료요법적 작용제에 반응하고, 이 치료요법적 작용제로 치료하면 질병 부하가 감소된다. 일부 측면들에서, 상기 대상체는 처음에 상기 치료요법적 작용제에 반응하지만, 시간 경과에 따라 질병 또는 병태의 재발을 보인다. 일부 구체예들에서, 상기 대상체는 재발하지 않았다. 이러한 일부 구체예들에서, 상기 대상체는 재발 위험이 높은 것과 같이 재발 위험이 있는 것으로 결정되고, 따라서 예를 들어, 재발 가능성을 감소 시키거나 예방하기 위해 해당 세포를 예방차원으로 투여한다. 일부 구체예들에서, 상기 대상체는 또다른 치료요법적 작용제로 사전 치료를 받지 않았다.
- [0209] 일부 구체예들에서, 세포는 원하는 용량(dosage)으로 투여되며, 일부 측면에서 이 용량에는 원하는 투여량(dose) 또는 세포 수 또는 세포 유형(들) 및/또는 원하는 비율의 세포 유형이 내포된다. 따라서, 일부 구체예들에서, 세포의 용량은 총 세포 수 (또는 체중 kg 당 세포 수) 및 CD4 + 대 CD8 + 비율과 같은 개별 집단 또는 하위-유형의 원하는 비율에 기초한다. 일부 구체예들에서, 세포의 용량은 개별 집단 또는 개별 세포 유형의 원하는 총 세포 수 (또는 체중 kg 당 세포 수)를 기반으로 한다. 일부 구체예들에서, 상기 용량은 원하는 총 세포 수, 원하는 비율 및 개별 집단에서 원하는 총 세포 수와 같은 이러한 속성 의 조합을 기반으로 한다.
- [0210] 일부 구체예들에서, CD8+ 및 CD4+ T 세포와 같은 세포의 집단 또는 하위-유형은 원하는 투여량의 T 세포와 같은 전체 세포의 바람직한 투여량의 허용 차이에서 또는 그 범위 내에서 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 바람직한 투여량이란 세포의 바람직한 수 또는 이들 세포가 투여되는 대상체의 체중 단위 당 세포의 바람직한 수, 가령, 세포/kg를 말한다. 일부 구체예들에서, 상기 바람직한 투여량은 최소 세포 수 또는 체중 단위당 최소 세포 수 또는 그 이상이다. 일부 구체예들에서, 바람직한 투여량으로 투여되는 전체 세포에서 개별 집단 또는 하위-유형은 원하는 산출 비율 (이를 테면, CD4+ 대 CD8+ 비율) 또는 그 근처에, 예를 들어, 이러한 비율의 특정 허

용 차이 또는 오류 내에서 존재한다.

- [0211] 일부 구체예들에서, 상기 세포는 하나 또는 그 이상의 세포의 개별 집단 또는 하위-유형의 바람직한 투여량, 이를 테면, 바람직한 투여량의 CD4⁺ 세포 및/또는 바람직한 투여량의 CD8⁺ 세포의 바람직한 투여량의 허용 차이에서 또는 그 범위 내에서 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 바람직한 투여량이란 하위-유형 또는 집단의 세포의 바람직한 수 또는 이들 세포가 투여되는 대상체의 체중 단위 당 세포의 바람직한 수, 가령, 세포/kg를 말한다. 일부 구체예들에서, 상기 바람직한 투여량은 하위-유형 또는 집단의 최소 세포 수 또는 체중 단위당 하위-유형 또는 집단의 최소 세포 수 또는 그 이상이다.
- [0212] 따라서, 일부 구체예들에서, 상기 용량은 전체 세포의 바람직한 고정된 투여량 및 바람직한 비율에 기반을 두거나 및/또는 가령, 개별 하위-유형 또는 하위-집단 각각의 하나 또는 그 이상의 바람직한 고정된 투여량에 기반을 둔다. 따라서, 일부 구체예들에서, 상기 용량은 바람직한 고정된 투여량 또는 최저 투여량의 T 세포 및 CD4⁺ 대 CD8⁺ 세포의 바람직한 고정 비율에 기반을 두고, 및/또는 바람직한 고정된 투여량의 또는 최저 투여량의 CD4⁺ 및/또는 CD8⁺ 세포에 기반을 둔다.
- [0213] 특정 구체예들에서, 상기 세포 또는 세포의 하위-유형의 개별 집단은 상기 대상체에게 약 1 백만 내지 약 천억 개 세포, 이를 테면, 가령, 1 백만 내지 약 500 억 개의 세포 (예를 들어, 약 5 백만 개, 약 2 천 5 백만 개, 약 5 억 개의 세포, 약 10 억 개의 세포, 약 50 억 개의 세포, 약 200 억 개의 세포, 약 300 억 개의 세포, 약 400 억 개의 세포, 또는 상기 값 중 임의의 2 개에 의해 정의 된 범위), 예를 들어 약 1 천만 내지 약 1 천억 개의 세포 (예를 들어, 약 2 천만 개 내지 약 1 천만 개 세포, 약 4 천만 개 세포, 약 6 천만 개 세포, 약 7 천만 개 세포), 약 8 천만 개의 세포, 약 9 천만 개의 세포, 약 100 억 개의 세포, 약 250 억 개의 세포, 약 500 억 개의 세포, 약 750 억 개의 세포, 약 900 억 개의 세포, 또는 상기 값 중 임의의 2 개로 정의 된 범위) 및 일부 경우에 약 1 억 개의 세포 내지 약 500 억 개의 세포 (예를 들어, 약 1 억 2 천만 세포, 약 2 억 5 천만 세포, 약 3 억 5 천만 세포, 약 4 억 5 천만 세포, 약 6 억 5 천만 세포, 약 8 억 세포, 약 9 억 세포, 약 30 억 개의 세포, 약 300 억 개의 세포, 약 450억 개의 세포) 범위 또는 이들 범위 사이의 임의의 값으로 투여된다.
- [0214] 일부 구체예들에서, 전체 세포의 투여량 및/또는 세포의 개별 하위-집단의 투여량은 약 10^4 내지 약 10^9 세포/킬로그램 (kg), 예를 들어, 10^5 내지 10^6 세포/kg 체중, 예를 들어, 적어도 (또는 적어도 대략), 또는 (대략) 1×10^5 세포/kg, 1.5×10^5 세포/kg, 2×10^5 세포/kg 또는 1×10^6 세포/kg 체중 범위 안에 있다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 상기 세포는 약 10^4 내지 약 10^9 T 세포/킬로그램 (kg), 예를 들어, 10^5 내지 10^6 T 세포/kg 체중, 예를 들어, 적어도 (또는 적어도 대략), 또는 (대략) 1×10^5 T 세포/kg, 1.5×10^5 세포/kg, 2×10^5 T 세포/kg 또는 1×10^6 T 세포/kg 체중 사이에서 또는 이의 오차 범위 안에서 투여된다.
- [0215] 일부 구체예들에서, 상기 세포는 약 10^4 내지 약 10^9 CD4⁺ 및/또는 CD8⁺ 세포/킬로그램 (kg), 예를 들어, 10^5 내지 10^6 CD4⁺ 및/또는 CD8⁺ 세포/kg 체중, 예를 들어, 적어도 (또는 적어도 대략), 또는 (대략) 1×10^5 CD4⁺ 및/또는 CD8⁺ 세포/kg, 1.5×10^5 세포/kg, 2×10^5 CD4⁺ 및/또는 CD8⁺ 세포/kg 또는 1×10^6 CD4⁺ 및/또는 CD8⁺ 세포/kg 체중 사이에서 또는 이의 오차 범위 안에서 투여된다.
- [0216] 일부 구체예들에서, 상기 세포는 약 1×10^6 , 약 2.5×10^6 , 약 5×10^6 , 약 7.5×10^6 , 또는 약 9×10^6 의 CD4⁺ 세포, 및/또는 적어도 약 1×10^6 , 약 2.5×10^6 , 약 5×10^6 , 약 7.5×10^6 , 또는 약 9×10^6 의 CD8⁺ 세포, 및/또는 적어도 약 1×10^6 , 약 2.5×10^6 , 약 5×10^6 , 약 7.5×10^6 , 또는 약 9×10^6 의 T 세포로, 또는 이의 특정 오류 범위 내, 또는 이보다 더 많거나, 또는 적어도 대략 이 범위로 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 세포는 약 10^8 내지 10^{12} 또는 약 10^{10} 내지 10^{11} T 세포, 약 10^8 내지 10^{12} 또는 약 10^{10} 내지 10^{11} CD4⁺ 세포, 및/또는 약 10^8 내지 10^{12} 또는 10^{10} 내지 10^{11} 개의 CD8⁺ 세포로, 또는 이의 특정 오류 범위 내로 투여된다.
- [0217] 일부 구체예들에서, 상기 세포는 CD4⁺ 및 CD8⁺ 세포 또는 하위-유형과 같은 다중 세포 집단 또는 하위 유형의 원하는 산출 비율에서 또는 이의 허용 범위 내에서 투여된다. 일부 측면들에서, 상기 바람직한 비율은 특이적 비율 또는 비율 범위일 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 상기 바람직한 비율 (가령, CD4⁺ 대 CD8⁺ 세

포의 비율)은 (약) 5:1 내지 (약) 5:1 (또는 약 1:5을 넘거나, 약 5:1 미만이거나), 또는 (약) 1:3 내지 (약) 3:1 (또는 약 1:3을 넘거나, 약 3:1 미만이거나), 이를 테면, (약) 2:1 내지 (약) 1:5 (또는 약 1:5를 넘고, 약 2:1 미만, 이를 테면, (약) 5:1, 4.5:1, 4:1, 3.5:1, 3:1, 2.5:1, 2:1, 1.9:1, 1.8:1, 1.7:1, 1.6:1, 1.5:1, 1.4:1, 1.3:1, 1.2:1, 1.1:1, 1:1, 1:1.1, 1:1.2, 1:1.3, 1:1.4, 1:1.5, 1:1.6, 1:1.7, 1:1.8, 1:1.9:1:2, 1:2.5, 1:3, 1:3.5, 1:4, 1:4.5, 또는 1:5이다. 일부 측면들에서, 허용되는 차이는 상기 바람직한 비율의 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50% 이내에 있고, 그리고 이들 범위 사이의 임의의 값도 내포된다.

[0218] 질환의 방지 또는 치료를 위하여, 상기 적절한 용량은 상기에서 정의된 바와 같이 치료될 질환의 유형, 세포 또는 제조할 수용체의 유형, 해당 질환의 심각성 및 과정, 상기 세포가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지의 여부, 기존 치료, 환자의 임상적 병력 그리고 상기 세포에 대한 반응, 그리고 주치의의 판단에 따라 달라질 것이다. 상기 조성물 및 세포는 일부 구체예들에서 한 번에 또는 일련의 치료 일정에 걸쳐 환자에게 적절하게 투여된다.

[0219] 본원에서 기술된 세포는 임의의 적절한 수단, 예를 들면, 정맥 또는 피하 주사, 안구내 주사, 안구주위 주사, 망막하 주사, 유리체내 주사, 경-중격 주사, 공막하 주사, 맥락막내 주사, 전방내(intracameral) 주사, 결막하(subconjunctival) 주사, 결막하(subconjunctival) 주사, 테논-하 주사, 구후방 주사, 눈돌레 주사 또는 후방 공막 측 전달에 의해 투여될 수 있다. 일부 구체예들에서, 세포들은 비-경구, 폐내 및 비강 내로 투여되며, 국소 치료를 원할 경우, 병변 내로 투여된다. 장관외 주입은 근육내, 정맥, 동맥내, 복막내, 또는 피부아래 투여를 포함한다. 일부 구체예들에서, 주어진 투여량은 세포의 단일 볼루스 투여에 의해 투여된다. 일부 구체예들에서, 이는 예를 들어, 3 일 이하의 기간에 걸쳐 세포의 다중 볼루스 투여에 의해, 또는 세포의 연속 주입 투여에 의해 투여된다.

[0220] 일부 구체예들에서, 세포는 복합 치료의 일부로서, 예컨대, 또 다른 치료적 개입, 이를 테면, 항체 또는 조작된 세포 또는 수용체 또는 작용제, 예컨대, 세포 독성 또는 치료요법적 작용제와 복합되어, 임의의 순서로, 동시에 또는 순차적으로 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 세포는 다른 치료요법적 개입과 관련하여 하나 또는 그 이상의 추가 치료요법적 작용제와 함께, 또는 동시에 또는 임의의 순서로 연속적으로 공동-투여된다. 일부 맥락에서, 상기 세포는 이들 세포 집단이 하나 또는 그 이상의 추가 치료요법적 작용제의 효과를 향상시키도록 (또는 이 역으로) 충분히 가까운 시간 안에 또다른 요법과 공동-투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 세포는 상기 하나 또는 그 이상의 추가적인 치료요법적 작용제보다 먼저 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 세포는 상기 하나 또는 그 이상의 추가적인 치료요법적 작용제의 투여 후, 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 하나 또는 그 이상의 추가적인 작용제에는 예를 들면, 지속성을 강화시키기 위해, 사이토킨, 이를 테면, IL-2이 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법은 화학치료요법적 작용제의 투여를 포함한다.

[0221] 일부 구체예들에서, 상기 세포 투여 후, 상기 조작된 세포 집단의 생물학적 활성은 다수의 공지된 방법중 임의의 방법에 의해 특정된다. 평가할 매개변수는 생체 내, 예를 들어, 이미징, 또는 생체외, 예를 들어 ELISA 또는 유동 세포 분석에 의한 항원에 대한 조작된 T 세포의 특이적 결합이 내포된다. 특정 구체예들에서, 표적 세포를 파괴하는 이들 상기 조작된 세포의 능력은 당분야에 공지된 임의의 적합한 방법, 이를 테면, 예를 들면, Kochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009), 그리고 Herman et al. J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004)에서 기술된 세포독성 검증에 의해 측정될 수 있다. 특정 구체예들에서, 상기 세포의 생물학적 활성은 하나 또는 그 이상의 사이토킨, 이를 테면, CD107a, IFN γ , IL-2, 그리고 TNF의 발현 및/또는 분비를 검증함으로써 측정된다. 일부 측면들에서, 상기 생물학적 활성은 임상적 결과, 이를 테면, 종양 부하 또는 로드의 감소를 평가함으로써 측정된다.

[0222] 특정 구체예들에서, 상기 조작된 세포는 이들의 치료요법적 또는 예방적 효능이 증가되는 임의의 다수의 방식에 의해 추가 변형된다. 예를 들면, 이들 집단에 의해 발현되는 조작된 CAR 또는 TCR은 표적화 모이머에 링커를 통하여 직접 또는 간접적으로 콘주게이트될 수 있다. 표적화 모이머에 화합물, 가령, CAR 또는 TCR을 콘주게이트하는 것은 당분야에 공지되어 있다. 예를 들면, Wadwa et al., J. Drug Targeting 3: 111 (1995), 그리고 U.S. 특허 번호. 5,087,616 참고.

[0223] C. 투여 일정 및 요법.

[0224] 일부 구체예들에서, 1 차 투여량의 세포가 제공되고, 이어서 1 회 또는 그 이상 2 차 연속 투여량이 제공되는 반복 용량 방법이 제공된다. 세포의 다중 투여 타이밍 및 크기는 일반적으로 임상 치료요법 방법으로 대상체에 투여될 때, TCR-발현 조작된 T 세포의 효능 및/또는 활성 및/또는 기능이 증가되도록 설계된다. 일부 구체예

들에서, 반복된 투여는 PD-1 및/또는 PD-L1과 같은 억제성 면역 분자가 TCR-발현 조작된 T 세포에서 상향조절될 때, 발생할 수 있는 하향조절 또는 억제 활성을 감소시킨다. 상기 방법은 제 1 용량을 투여한 후, 일반적으로 하나 또는 그 이상의 연속 투여하고, 다른 투여 간의 특정 시간 프레임에 갖는다.

- [0225] 입양 세포치료요법의 맥락에서, 주어진 "투여 량"의 투여는 주어진 양 또는 수의 세포를 단일 조성물 및/또는 단일 연속 투여, 예를 들어, 단일 주사 또는 연속 주입으로서 투여하는 것을 포함하고, 또한 지정된 기간 (3 일 이하)에 걸쳐 다중 개별 조성물 또는 주입으로 제공된 분할 용량으로 주어진 양 또는 세포 수의 투여가 포괄된다. 따라서, 일부 맥락에서, 첫 번째 또는 연속적인 투여는 단일 시점에서 제공되거나 또는 개시된, 명시된 수의 세포의 단일 또는 연속 투여다. 그러나, 일부 맥락에서, 첫 번째 또는 연속적인 투여는 3 일 동안 또는 2 일 동안 하루에 한 번, 또는 하루 동안 여러 번 주입하는 것과 같이, 3 일 이하의 기간에 걸쳐 다중 주사 또는 주입으로 투여된다.
- [0226] 따라서, 일부 측면들에서, 제 1 투여의 세포는 단일 약제학적 조성물로 투여된다. 일부 구체예들에서, 연속 투여의 세포는 단일 약제학적 조성물로 투여된다.
- [0227] 일부 구체예들에서, 제 1 투여 세포는 제 1 투여의 세포를 집합적으로 함유하는 복수의 조성물로 투여된다. 일부 구체예들에서, 연속 세포는 연속 투여 세포를 집합적으로 함유하는 복수의 조성물로 투여된다. 일부 측면들에서, 추가적인 연속 투여는 3 일 이하의 기간에 걸쳐 복수의 조성물로 투여될 수 있다.
- [0228] 용어 "분할 투여(split dose)"란 1 일 이상 투여되도록 분할된 투여를 의미한다. 이러한 유형의 투여는 본 방법에 포괄되며, 단일 투여로 간주된다.
- [0229] 따라서, 일부 측면들에서, 제 1 투여 및/또는 연속 투여(들)은 분할 투여로 투여될 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 상기 투여는 2 일에 걸쳐 또는 3 일에 걸쳐 대상체에게 투여될 수 있다. 분할 투여를 위한 예시적인 방법은 첫 번째 날에 투여량의 25 %를 투여하고, 두 번째 날에 투여량의 나머지 75 %를 투여하는 것이 내포된다. 다른 구체예들에서, 제 1 투여량의 33%는 첫날에 투여되고, 나머지 67 %는 두 번째 날에 투여될 수 있다. 일부 측면들에서, 투여량의 10 %는 첫날, 30 %는 둘째 날, 60 %는 셋째 날에 투여된다. 일부 구체예들에서, 분할 투여는 3일을 넘기지 않는다.
- [0230] 1 차 투여와 같은 앞선 투여와 관련하여, 용어 "연속 투여"는 이전에 동일한 대상체에게 투여되는 용량, 예를 들어, 기존 투여, 가령, 제 1 투여 후, 중간에 임의의 개입 투여 없이, 동일한 대상체에게 투여되는 것을 지칭한다. 그럼에도 불구하고, 이 용어는 단일 분할 투여 내에 포함된 일련의 주입 또는 주입에서의 제 2, 제 3, 및/또는 등등의 주입 또는 일련의 주입을 포괄하지 않는다. 따라서, 다른 언급이 없는 한, 1-일, 2-일 또는 3-일 이내 제 2 주입은 본원에서 사용된 "연속" 투여로 간주되지 않는다. 마찬가지로, 분할 투여 내에서 일련의 다중 투여의 두 번째, 세 번째 및 그 이후도 "연속" 투여의 의미에서 "개입" 투여으로 간주되지 않는다. 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 첫 번째 또는 앞선 투여 시작 후 3 일을 초과하여 특정 기간 동안 투여된 투여량은 대상체가 첫 번째 또는 앞선 투여 개시 후 3 일 기간 내 제 2 또는 후속 주사 또는 주입을 받았다면, 제 1 투여 개시 후 세포의 제 2 또는 후속 주사 또는 주입은 "연속" 투여로 간주된다.
- [0231] 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 최대 3일까지 기간에 걸쳐 동일한 세포의 다중 투여는 단일 투여로 간주되며, 최초 투여 3일 이내 세포의 투여는 제 2 투여가 제 1 투여에 "연속"인지를 결정하는 목적으로 개입 투여로 간주되지 않는다.
- [0232] 일부 구체예들에서, 다중 연속 투여가 제공되면, 일부 측면들에서 가령, 제 1 투여와 다중 연속 투여에 의해(주어진 제 1 투여와 제 1 연속 투여 간에 시기에 관한 것과 동일한 시기 지침을 이용하여 이때 억제성 면역 분자, 이를 테면, PD-1 및/또는 PD-L1은 투여된 첫 번째 투여로부터 대상체의 세포에서 상향조절되었다. 예를 들어, TCR-발현 세포와 같은 항원-발현 세포에서 PD-1 및/또는 PD-L1의 수준을 말초 혈액에서, 또는다른 체액으로부터 평가함으로써, 연속 투여를 제공할 시기를 경험적으로 결정하는 것은 숙련된 기술자의 수준 내에 있다.
- [0233] 일부 구체예들에서, 제 1 투여와 제 1 연속 투여, 또는 제 1 투여와 다수의 연속 투여 간에 시기는 각 연속 투여가 약 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일, 10 일, 11 일, 12 일, 13 일, 14 일, 15 일, 16 일, 17 일, 18 일, 19 일, 20 일, 21 일, 22 일, 23 일, 24 일, 25 일, 26 일, 27 일, 28 일 또는 그 이상의 기간 범위 안에서 제공된다. 일부 구체예들에서, 연속 투여는 제 1 투여 또는 바로 이전 투여 후, 약 28 일 미만의 기간 내에 제공된다. 추가적인 다중 추가 연속 투여 또는 투여들은 또한 후속 투여 또는 후속 연속 투여로 지칭된다.
- [0234] 세포의 첫 1 및/또는 하나 또는 그 이상의 연속 투여 규모는 일반적으로 개선된 효능 및/또는 감소된 독성 위험을 제공하도록 설계된다. 일부 측면들에서, 제 1 투여 또는 임의의 연속 투여의 용량 및 규모는 상기 기재된 바

와 같은 임의의 용량 또는 양이 된다. 일부 구체예들에서, 제 1 투여 또는 임의의 연속 투여에서 세포의 수는 대상체 체중 kg 당 약 0.5×10^6 세포 내지 5×10^6 세포/kg, 약 0.75×10^6 세포/kg 내지 3×10^6 세포/kg 또는 약 1×10^6 세포/kg 내지 2×10^6 세포/kg (각각 내포됨) 범위 사이에 있다.

[0235] 본원에서 사용된 바와 같이, "제 1 투여"는 연속 또는 후속 투여 이전에 주어진 투여의 시기를 설명하기 위해 사용된다. 이 용어는 대상체가 이전에 용량의 세포 치료요법을 받은 적이 없거나, 또는 심지어 대상체가 이전에 동일한 재조합 수용체를 발현하거나 또는 동일한 항원을 표적으로 하는 동일한 세포 또는 세포들의 투여를 받은 적이 없다는 것을 반드시 의미하지는 않는다.

[0236] 일부 구체예들에서, 상기 수용체, 가령, 연속 투여에서 세포에 의해 발현되는 TCR은 적어도 하나의 면역반응성 에피토프는 가령, 제 1 투여 세포에 의해 발현된 TCR의 수용체로써 함유된다. 일부 구체예들에서, 연속 투여로 투여된 세포에 의해 발현되는 수용체, 가령, TCR은 제 1 투여에 의해 발현된 수용체, 가령 TCR과 동일하거나, 또는 제 1 투여에서 투여된 세포에 의해 발현된 수용체 가령, TCR과 실질적으로 동일하다.

[0237] 상기 수용체, 이를 테면, 다양한 투여로 해당 대상체에게 투여된세포에 의해 발현되는 TCRs은 일반적으로 치료 될 질환 또는 병태와 연관된 및/또는 특이적인, 세포에서 발현된 분자를 일반적으로 인지하고, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 해당 분자, 가령, 항원에 특이적으로 결합할 때, 상기 수용체는 일반적으로 면역자극 신호, 이를 테면, ITAM-형질도입된 신호를 세포로 전달하고, 이로 인하여 질환 또는 병태를 표적으로 하는 면역 반응이 촉진된다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 제 1 투여에 세포는 발현된 항원에 특이적으로 결합하는 TCRs를 발현시킨다.

[0238] 실시예들

[0239] 다음의 실시예들은 본 발명에 대한 청구 범위의 범위를 제한하려는 것이 아니라, 특정 구체예들의 예시로 의도된 것이다 예시된 방법들이 당업자에 의한 임의의 변형은 본 발명의 범위 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0240] Epstein Barr 바이러스 (EBV) 및 인간 유두종바이러스 (HPV)을 비롯한 바이러스에 의한 감염과 통상적으로 연관된 암이 입양 면역치료요법에 대한 우수한 표적이다. 여기에서, 우리는 EBV의 잠복성 막 단백질 2 (LMP2) 항원에 반응하여 활성화되는 신규한 T 세포 수용체 (TCR) 서열을 확인하였다(TCR-L201; 도 10 및 도 11). 이들 인터페론 감마 ($IFN\gamma$) 활성화 결과, TCR-L201를 발현시키는 T 세포는 HLA-A2에 연계된 LMP2 펩티드를 발현시키도록 조작된 암 세포를 특이적으로 사멸시킬 수 있다 (도 13A). HLA-A2는 가장 흔한 인간 혈청형이기 때문에, L201 TCR은 EBV-연합된 NPC 뿐만 아니라 림프종(호지킨 및 버킷을 비롯한)에 대항하여 조작된 TCR-T 세포 치료요법에 대한 유용성을 갖는다.

[0241] 구조체 기획

[0242] LMP2 TCR-T 세포의 경우, 2개 코딩 영역을 함유하는 MP71 레트로바이러스 벡터 구조체는 표준 분자 생물학 기술을 이용하여 생성되었다. (1) 마우스 TCR 알파쇄의 불변 영역에 융합된 인간 항-LMP2 TCR의 알파쇄의 가변 영역; (2) 마우스 TCR 베타쇄의 불변 영역에 융합된 동일한 인간 항-LMP2 TCR의 베타쇄의 가변 영역. (도 1A)

[0243] TCR-ICI-TGF β 트랩 TCR-T 세포의 경우, 3개 코딩 영역을 함유하는 MP71 레트로바이러스 벡터 구조체는 표준 분자 생물학 기술을 이용하여 생성되었다: (1) 마우스 TCR 알파쇄의 불변 영역에 융합된 인간 특이적 TCR의 알파쇄의 가변 영역; (2) 마우스 TCR 베타쇄의 불변 영역에 융합된 동일한 인간 항-LMP2 TCR의 베타쇄의 가변 영역; (3) TCR β RII의 세포의 도메인의 리간드-결합 서열에서 가변 중쇄의 C 말단에서 유연성 링커 펩티드를 통하여 융합된 GS 링커에 연계된 면역 체크포인트 억제제 (ICI)의 중쇄와 경쇄의 가변 영역. 항-gp120-TCR β RII 항체는 비-특이적 scFv-TCR β RII 대조군으로 이용된다. (도 1B)

[0244] 세포주 및 배지

[0245] HEK-293T, Ca Ski, 그리고 K562 세포는 ATCC로부터 구입했다. 익명의 기증자의 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)는 Hemacare에서 구입했다. 인간 HLA-A2 단일쇄를 과다발현시키는 벡터로 K562 세포의 렌티바이러스 형질도입에 의해 K562-A2 세포가 생성되었다. 인간 E6 및 E7을 과다발현시키는 벡터로 Ca Ski 세포의 렌티바이러스 형질도입에 의해 Ca Ski E6/E7 세포가 생성되었다. LLW 에피토프-링커-HLA-A2 또는 CLG 에피토프-링커-HLA-A2를 과다발현시키는 벡터로 레트로바이러스 형질도입에 의해 A375-pHLA (LLW) 및 A375-pHLA (CLG) 세포가 생성되었다. 세포는 DMEM + 10% FBS, RPMI + 10% FBS, 또는 X-Vivo + 5% 인간 혈청 A/B에서 배양되었다.

[0246] 레트로바이러스 벡터 생산

- [0247] 레트로바이러스 벡터는 표준 인간 칼슘 침전 프로토콜을 사용하여, HEK-293T 세포의 일시적 형질 감염에 의해 제조되었다. 바이러스 상층액을 48 시간에 수확하고, T 세포를 형질 도입하는데 사용했다. T 세포 형질도입 및 확장. 레트로 바이러스 형질도입 전, PBMCs는 T 세포 활성화제 비드 및 인간 IL-2로 배양하여 2 일 동안 활성화되었다. 형질도입을 위해, 새로 수거된 레트로바이러스 상층액은 15 mg RetroNectin/웰 (Clontech Laboratories)이 피복된 비-조직 배양물-처리된 24-웰 플레이트 상에 2,000 g, 32°C에서 원심분리에 의해 스핀-로딩되었다. 활성화된 PBMCs는 플레이트에 로딩되고, 600 g, 32°C에서 30분간 스핀되었다. T 세포는 37°C, 5% CO2에서 항온처리되었다. 세포 배양물은 매 2 일 마다 보충되었다.
- [0248] **TCR 착색**
- [0249] 모든 항체는 Biolegend에서 구입했다. 재조합 TCR의 발현은 마우스 TCR 베타쇄에 대한 항체 착색에 이어 유동 세포측정에 의해 형질감염 72 시간 후에 검출되었다. CD3, CD4, 그리고 CD8 착색은 동시에 수행되었다. 생존가능한 CD3+ 림프구 게이팅 전략이 이용되었다. NT = 형질도입안된 대조군.
- [0250] 일차 인간 T 세포는 L201, L202 및 L203 TCR 구조체로 형질도입되었다. 결과: (도 9) 상기 항-LMP2 TCR은 인간 T 세포에서 강력하게 발현된다.
- [0251] 일차 인간 T 세포는 E6, E6-αPD1-TGFβRII, E6-αPDL1-TGFβRII, E6-HAC-TGFβRII 또는 E6-αgp120-TGFβRII TCR의 구조체로 형질도입되었다. 결과: (도
- [0252] 14) 상기 항-E6 TCR은 원래 항-E6 TCR, E6-αPD1-TGFβRII, E6-αPDL1-TGFβRII, E6-HAC-TGFβRII 및 E6-αgp120-TGFβRII TCR 구조체를 함유하는 T 세포에서 강력하게 발현된다.
- [0253] 일차 인간 T 세포는 LMP2-αPD1-TGFβRII, LMP2-αPDL1-TGFβRII, LMP2-HAC-TGFβRII 또는 LMP2-αgp120-TGFβRII TCR으로 형질도입되었다.
- [0254] 결과: (도 20) 상기 항-LMP2 TCR은 원래 항-LMP2 TCR, LMP2-αPD1-TGFβRII, LMP2-αPDL1-TGFβRII, LMP2-HAC-TGFβRII 및 LMP2-αgp120-TGFβRII TCR 구조체를 함유하는 T 세포에서 강력하게 발현된다.
- [0255] **시험관내 TCR-T IFNβ 생산.**
- [0256] TCR-T 세포는 표시된 바와 같이, 작동체-대-표적의 다양한 비율로 상이한 유형의 표적 세포들과 함께 공동-배양되었다. 세포내 또는 분비된 IFN-γ 발현은 유동 세포측정 또는 제조업자의 지침에 따라 인간 IFN-γ ELISA 키트에 의해 측정되었다.
- [0257] 항-LMP2 TCRs를 갖는 TCR-T 세포는 1:1의 작동체-대-표적 비율에서 EBV 펩티드-펄스된 APCs로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. 결과: (도 10 및 도 11A-11C) 항-LMP2 TCR을 함유하는 TCR-T 세포는 세포내 IFN-γ 발현으로 측정하였을 때, 표적 세포에 의해 특이적으로 활성화될 수 있다. 3가지 항-LMP2 TCRs은 모두 준-마이크로몰 EC50을 나타내었다.
- [0258] L201 TCR-T 세포는 EBV 펩티드-펄스된 APCs와 1:0, 1:1, 및 3:1의 작동체-대-표적 비율에서 48시간 동안 공동-배양되었다. 결과: (도 12) TCR-T 세포는 표적 세포에 의해 활성화될 수 있다. 더 높은 E:T 비율은 상기 TCR-T 세포가 더 많은 IFN-γ를 생산하도록 유도한다.
- [0259] 항원-특이적 자극 시 TCR-T 세포에 의한 IFNγ 생산에 있어서 분비된 ICI-TGFβRII 트랩의 효과. (a) TCR-T 세포는 펩티드-펄스된 K562-A2 세포와 1:1의 작동체-대-표적 비율로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. 그 다음, 이 세포들을 수집하고, 세포내 IFN-γ 발현은 유동 세포측정에 의해 측정되었다. (도 15A) (b) TCR-T 세포는 Ca Ski E6/E7 세포와 1:0, 1:2, 1:1, 및 3:1의 작동체-대-표적 비율로 72시간 동안 공동-배양되었다 (도 15B). 그 다음, 상층액을 수집하고, 제조업체의 지침에 따라 인간 IFN-γ ELISA 키트를 사용하여 IFN-γ 생산을 측정했다. 결과: (도 15B) E6 TCR을 함유하는 TCR-T 세포는 IFN-γ 발현으로 측정하였을 때, 표적 세포에 의해 특이적으로 활성화될 수 있다. 펩티드-펄스된 APCs 또는 E6+ 표적 세포 (Ca Ski E6/E7)에 의해 자극될 때, E6-αPD1-TGFβRII, E6-αPDL1-TGFβRII, E6-HAC-TGFβRII 또는 E6-αgp120-TGFβRII TCR-T 세포는 E6 단독의 경우보다 훨씬 더 높은 IFN-γ 발현을 가진다. 대조군과 비교할 때, E6-αgp120-TGFβRII TCR-T 세포, E6-αPD1-TGFβRII, E6-αPDL1-TGFβRII, E6-HAC-TGFβRII TCR-T 세포는 항원-특이적 자극 시, 훨씬 더 높은 IFN-γ 수준을 가진다.
- [0260] LMP2-αPD1-TGFβRII, LMP2-αPDL1-TGFβRII, LMP2-HAC-TGFβRII 또는 LMP2-αgp120-TGFβRII TCR-T 세포는 LMP2-LLW 펩티드-펄스된 APCs와 1:1의 작동체-대-표적 비율로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. 결과: (도 21)

LMP2 TCR을 함유하는 TCR-T 세포는 IFN- γ 발현으로 측정하였을 때, 표적 세포에 의해 특이적으로 활성화될 수 있다. 펩티드-펄스된 APCs에 의한 자극 시, LMP2 단독, LMP2- α PD1-TGF β RII, LMP2- α PDL1-TGF β RII, LMP2-HAC-TGF β RII 및 LMP2- α gp120-TGF β RII TCR-T 세포는 높은 IFN- γ 발현을 가진다.

[0261] **특이적 세포 용해 (세포독성)**

[0262] LMP2 TCR-T 세포 사멸 검증, EBV 펩티드-펄스된 APCs (K562-A2)는 CFSE로 사전-착색되었고, 그 다음 형질도입 안된 T 세포 또는 TCR 형질도입된 T 세포와 함께 1:1, 및 3:1의 작동체-대-표적 비율로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. 표적 세포에 대한 T 세포의 세포 독성은 Annexin V/7-AAD 착색에 의해 측정되었다. A375 세포 사멸의 경우, 표적 (A375-pHLA(LLW)) 및 비-표적 (A375-pHLA(CLG)) 세포는 CFSE 및 Celltrace Violet로 각각 라벨되고, 1:1 비율로 혼합되었다. 혼합된 세포는 그 다음 L202 TCR-T 세포와 함께 작동체-대-표적 세포의 다양한 비율로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. 표적 세포에 대한 T 세포의 세포 독성은 표적 대 비-표적 세포의 비율로 측정되었다.

[0263] 표적 세포에 대한 L201 TCR-T 세포 또는 L202 TCR-T 세포의 세포독성. (a) EBV 펩티드 APCs는 CFSE로 사전-착색되었고, 그 다음 L201 TCR-T 세포와 함께 1:1 및 3:1의 작동체-대-표적 비율로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. 표적 세포에 대한 T 세포의 세포 독성은 Annexin V/7-AAD 착색에 의해 측정되었다. 결과: (도 13A) L201 항-LMP2 TCR-T 세포는 특이적 방식으로 표적 세포를 사멸시켰다. 더 높은 E:T 비율에서, 상기 TCR-T 세포는 더 높은 사멸 능력을 갖는다.

[0264] (b) 표적 (A375-pHLA(LLW)) 및 비-표적 (A375-pHLA(CLG)) 세포는 CFSE 및 Celltrace Violet로 각각 라벨되고, 1:1 비율로 혼합되었다. 혼합된 세포는 그 다음 L202 TCR-T 세포와 함께 작동체-대-표적 세포의 표시된 비율로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. 결과: (도 13B) L202 항-LMP2 TCR-T 세포는 특이적 방식으로 표적 세포를 사멸시켰다. 더 높은 E:T 비율에서, 상기 TCR-T 세포는 더 높은 사멸 능력을 갖는다.

[0265] 표적 세포를 향한 다양한 항-LMP2 TCR-T 세포의 특이적 사멸. LMP2-LLW 펩티드 펄스된 APCs는 CFSE로 사전-착색되었고, TCR-T 세포와 함께 다중 작동체-대-표적 비율로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. LMP2-LLW 펩티드 펄스된 APCs에 대한 T 세포의 세포 독성은 Annexin V/7-AAD 착색에 의해 측정되었다. 결과: (도 23) 모든 LMP2 TCR-T 세포는 특이적 방식으로 LMP2+ 표적 세포 (Ca Ski)를 사멸시켰다. 대조군 LMP2- α gp120-TGF β RII TCR-T 세포는 다른 LMP2 TCR-T 세포 보다 더 약하게 표적 세포를 사멸시켰다. 따라서, LMP2- α PD1-TGF β RII, LMP2- α PDL1-TGF β RII, LMP2-HAC-TGF β RII TCR-T 세포는 LMP2- α gp120-TGF β RII TCR-T 세포 보다 더 큰 사멸 능력을 가진다.

[0266] E6-ICI-TGF β 트랩 T 세포 사멸 검증의 경우, Ca Ski 종양 세포는 CFSE로 사전-착색되었고, 그 다음 E6, E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII TCR-T 세포와 함께 1:1의 작동체-대-표적 비율로 하룻밤 동안 공동-배양되었다. Ca Ski7 세포에 대한 T 세포의 세포 독성은 Annexin V/7-AAD 착색에 의해 측정되었다.

[0267] 결과: (도 16) 모든 E6 TCR-T 세포는 특이적 방식으로 E6+ 표적 세포 (Ca Ski)를 사멸시켰다. E6. α gp120-TGF β RII TCR-T는 E6 단독과 같은 효능으로 표적 세포를 사멸시켰고, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII TCR-T 세포는 E6. α gp120-TGF β RII TCR-T 보다 더 큰 사멸 능력을 가진다.

[0268] TGF β 에 대한 분비된 scFv-TGF β RII의 결합 활성. 재조합 인간 TGF β 1은 scFv-TGF β RII로 피복된 플레이트에 추가되었고, 이는 바이오티닐화된 항-TGF β 1 및 HRP-Avidin에 의해 탐지되었다.

[0269] 결과: (도 17) E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII TCR 형질 감염된 293T 세포에 의해 생성된 분비된 scFv-TGF β RII는 유사한 친화력으로 재조합 인간 TGF β 1에 결합한다.

[0270] TGF β 발현. E6+ 표적 세포 (Ca Ski)에서 분비된 TGF β 는 제조업체의 지침에 따라 인간 TGF β ELISA 키트를 사용하여 측정했다.

[0271] 결과: (도 18) E6+ 표적 세포 (Ca Ski)는 TGF β 를 생산하고, 이를 상층액으로 분비시킬 수 있다.

[0272] 시험관내 TCR-T 세포 증식. E6, E6. α PD1-TGF β RII, E6. α PDL1-TGF β RII, E6.HAC-TGF β RII 또는 E6. α gp120-TGF β RII TCR-T 세포는 CFSE로 사전-착색되었다. 그 다음 착색된 T 세포는 72 시간 동안 Ca Ski 세포와 함께 공동-배양되었고, CFSE의 강도는 유동 세포측정에 의해 측정되었다. 형질도입안된 (NT) T 세포는 대조군으로 이용되었다.

- [0273] 결과: (도 19) E6+ 표적 세포에 노출은 E6 TCR-T 세포 모두 증식하도록 자극하는데, 증식은 활성화의 또다른 척도다. E6. α PDL1-TGF β R11 TCR-T 세포는 테스트된 다른 TCR-T 세포보다 더 신속하게 증식되었다.
- [0274] **L202 TCR-T 세포의 생체내 항종양 효과.**
- [0275] 방법: 6-8 주령 암컷 NSG 마우스는 오른쪽 옆구리에 5.0×10^6 A375-pep-HLA-A2 흑색종 세포를 피하로 접종했다. 9 일 후, 연구 0 일차,에 동물을 종양 부피를 기준으로 한 그룹으로 분류했으며 각 그룹은 평균 종양 부피가 35mm^3 이다. 연구 0 일차에, 동물에게 10×10^6 TCR + L202 세포 또는 형질 도입되지 않은 세포를 정맥내 주사했다. 이러한 주사는 7 일 후, 연구 6 일차에 반복되었다.
- [0276] 종양 부피는 지시된 날에 측정되었고, 개별적으로 (도 24A) 또는 각 그룹에 대한 평균으로서 (도 24B) 플롯팅되었다. 종양 배수 변화 (도 24C)를 계산하고, (20 일차에 종양 부피) / (0 일차에 종양 부피)로 플롯팅했다. 동물 체중 변화는 0 일차 초기 동물 체중을 기준으로 백분율로 계산되었다(도 24D). 종합하면, 이러한 결과들은 명백한 독성의 증거없이, L202 TCR-T 세포의 강력한 항-종양 효능을 입증한다.
- [0277] 예언적 방법
- [0278] 6-8 주령 암컷 NSG 마우스는 오른쪽 옆구리에 5.0×10^6 A375-pep-HLA-A2 흑색종 세포를 피하로 접종할 것이다. 9 일 후, 연구 0 일차에 동물을 종양 부피를 기준으로 한 그룹으로 분류될 것이며 각 그룹은 평균 종양 부피가 35mm^3 일 것이다. 연구 0일차, 동물에서 $1e6$ 형질도입안된 세포 또는 다음 구조체로 형질도입된 TCR-T 세포를 정맥내 주사할 것이다: 1) L202; 2) L202-PD1; 3) L202-TGF β R11; 4) L202-PD1-TGF β R11. 이러한 주사는 7 일 후, 연구 6 일차에 반복될 것이다. 종양 부피 및 동물 체중은 실험이 종료되는 20 일까지 2 일마다 측정될 것이다.
- [0279] A375 종양을 완전히 제거한 10×10^6 L202 세포 (도 24B)와는 대조적으로, 1×10^6 L202 세포를 사용한 치료는 생체내에서 종양 성장을 적당히 억제할 것으로 예상된다. A375 흑색종의 성장을 이끄는 PD1의 알려진 능력을 기반으로 (cite PMID: 26359984), L202 단독과 비교하여 항-PD-1의 추가는 마우스 종양 부하에서 강력한 감소를 만드는 것으로 예상된다 (집단 2-대비-집단 1). 항-PD1와 함께, 또는 항-PD1 없을 때(차례로 그룹 4와 3-대비-그룹 1과 2), TGF β 길항 작용을 조사하여 추가 또는 시너지 효과를 결정한다.
- [0280] 종합하면, 이들 실험은 TCR-T 세포 치료요법과 면역 체크포인트 억제 및/또는 TGF β 차단이 복합적으로 정량적으로 더 큰 항종양 효과를 제공하고, 따라서 더 적은 투여 일정의 사용이 실행된다는 원리-증명을 제공할 것으로 기대한다.
- [0281] 본원에 인용된 모든 문헌은 마치 완전하게 제시된 것 처럼 그 전문이 본원 참고자료에 편입되어 있다. 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. Allen *et al.*, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy 22nd ed.*, Pharmaceutical Press (September 15, 2012); Hornyak *et al.*, *Introduction to Nanoscience and Nanotechnology*, CRC Press (2008); Singleton and Sainsbury, *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd ed., revised ed.*, J. Wiley & Sons (New York, NY 2006); Smith, *March's Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 7th ed.*, J. Wiley & Sons (New York, NY 2013); Singleton, *Dictionary of DNA and Genome Technology 3rd ed.*, Wiley- Blackwell (November 28, 2012); and Green and Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4th ed.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2012)은 본 출원에서 사용되는 많은 용어에 대한 일반적인 지침을 당업자에게 제공한다. 항체를 어떻게 만드는 지에 대해서, Greenfield, *Antibodies A Laboratory Manual 2nd ed.*, Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor NY, 2013); Köhler and Milstein, *Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion*, Eur. J. Immunol. 1976 Jul, 6(7):511-9; Queen and Selick, *Humanized immunoglobulins*, U. S. Patent No. 5,585,089 (1996 Dec); 및 Riechmann *et al.*, *Reshaping human antibodies for therapy*, Nature 1988 Mar 24, 332(6162):323-7를 참고한다.
- [0282] 당업자는 본 명세서에서 설명된 것들에 유사한 또는 대등한 많은 방법 및 재료를 인지할 것이며, 이는 본 발명의 실시예에 이용될 수 있다. 본 발명의 다른 특징 및 이점은 본 발명의 구체예들의 다양한 특징을 예로서 예시하

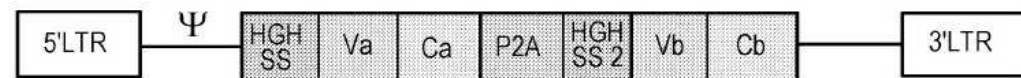
는 첨부 도면과 함께 취해진 다음의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 실제, 본 발명은 설명된 방법 및 재료에 어떤 식으로든 국한되지 않는다. 편의를 위해, 명세서, 실시예 및 첨부된 청구 범위에 사용된 특정 용어들이 여기에 집합된다. 본 발명의 조성물 및 방법에는 본원에 기재된 예시적인 서열의 변이체로 국한되지 않으며, 여기에는 본원에서 개시된 예시적인 서열에 대해 적어도 90%, 적어도 95% 및 적어도 99% 동일성을 갖는 것들이 내포된다.

[0283] 달리 명시되지 않거나 문맥에서 암시하지 않는 한, 다음 용어 및 구문에는 아래 제공된 의미들이 내포된다. 달리 명시적으로 언급되거나 또는 문맥에서 명백하지 않는 한, 아래의 용어 및 구문은 해당 용어 또는 구문이 관련된 기술에서 획득 한 의미를 배제하지 않는다. 정의는 특정 구체예들을 설명하는 것을 돕기 위해 제공되며, 본 발명의 범위가 청구 범위에 의해서만 제한되기 때문에, 청구된 발명을 제한하려는 것이 아니다. 다른 언급이 없는 한, 본 명세서에서 이용된 모든 기술적 그리고 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 분야의 통상적 숙련자에 의해 흔히 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

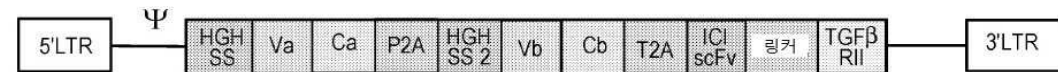
[0284] 본 명세서에 언급된 모든 공보들은 각각의 개별 공보 또는 특허 출원이 구체적이고 개별적으로 참조로 포함된 것으로 표시되는 것과 동일한 정도로 본원에 참고자료로 편입된다. 다음 설명은 본 발명을 이해하는데 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 본원에서 제공된 정보가 선행 기술이거나 또는 현재 청구된 발명과 관련성이 있음을 인정하는 것은 아니며, 또는 구체적으로 또는 묵시적으로 언급된 공고물이 선행 기술이라는 것을 인정하는 것은 아니다.

도면

도면1a



도면1b



도면2a

DQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDGR
FTVFLNKS AKHL SLHIVPSQPGDSAVYFCAAPPPSGNQFYFGTGTS LTVIP

{서열 식별 번호: 1}

도면2b

DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIYFSYDVKMKEKG
DIEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSTRLAGAQRDTQYFGPGTR LTVL

{서열 식별 번호: 2}

도면3a

gatcagcagggttaacaaaatagcccgctcactttcagttcaagaaggacgcatctccatactcaactgcgattacacgaactctatgttgattactttct
ttggtacaagaagtacccagcagagggtccgactttcttctccataagcagtatcaaagataagaacgaagacggtcggttcacagtgttccttaa
caaaagcgcaaagcacttgctctgcacattgtgcgtcccaaccggcgactcagcagtgacttctgcgcgcacccccaccctccgtaatacaatt
tacttcggtacggggacgtctctcactgttatcccc

{ 서열 식별 번호: 3 }

도면3b

gacgtgaaggctcactcagttcacgggtatctgttaagcgactggcgaagagttttctggagtgtgtccaggacatggatcacgaaaatagtgttg
gtatcgccaagaccctgggtcggtctcagactgatttacttttagctacgactgaaatgaaggaaagggtgatattctgaagggtatagtgttca
cgcgagaagaaagagcggttctcactgatcttgagtcagcctccactaaccaaacatccatgtacctttgcgcctagtacaaggctcgcgggcgct
caacgggatacccaatatttcggtccgggcacgcggttgaccgtcctg

{ 서열 식별 번호: 4 }

도면4a

EDVEQSLFLSVREGDSSVINCTYTDSSSTLYWYKQEPGAGLQLLYIFSNMDMKQDQRL
TVLLNKKDKHLSLRIADTQTGDSAIYFCAESIPSGYNKLIFGAGTRLAVHP

{ 서열 식별 번호: 5 }

도면4b

GVAQSPRYKIIKQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKLLIQFNNGVVDDSQLP
KDRFSAERLKGVDSTLKIQAILEDASVYLCASSLGLAGEDTQYFGPGTRLVTL

{ 서열 식별 번호: 6 }

도면5a

gaggacgtagaacaatctctttctctctgctccgagggagattcctctgtaalcaattgtacttacaccgatagcagctcaacgtacctctactggtat
aagcaggagcccggcgaggttgcaacttctgacttatataatttagcaatatggatatgaaacaagaccaacgattgacagtgtctctgaacaagaa
agacaagcacctttctcttcgcatcgagacaccagacaggggactcagcaattatttttcgctgaaagcattccctctggatacaataagttgatat
ttggacgggggaccaggctggcggtccatcca

{ 서열 식별 번호: 7 }

도면5b

ggtgtggcacaaatccccaggtacaagatcatcgagaaaaggcagtcctcgctgttttggtgtaatcaatatctggacatgccacatttactggtatc
aacagatactgggtcaggggccgaagctgcttatacagtttcaaaacaatggcgtggtcgatgacagtcagcttcccaagacagattttctgcagag
agactgaagggggtgtagtaccttgaaaatacaaccggcgaaactcgaagacagtgctgtctacctttgcgcttctcactcggattggctggaga
ggacacacaatactttggtccaggaaccagactcacggttctg

{ 서열 식별 번호: 8 }

도면6a

QQKNDDQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDK
NEDGRFTVFLNLSAKHLSLHIVPSQPGDSAVYFCAAKLPQAAGNKLTFGGGTRVLVKP

{ 서열 식별 번호: 9 }

도면6b

MVIQNPRYQVTQFGKPVTLSCSQTLNHNVMYWYQQKSSQAPKLLFHYYDKDFNNEAD
TPDNFQSRPNTSFCFLDIRSPGLGDAAMYLCATSSSIAGDTRNNEQFFGPGTRTLTVL

(서열 식별 번호: 10)

도면7a

caacagaagaatgacgatcaacaagtaagcaaaacagccctctcttcagtacaagaaggacgcatctctatacttaactgcgactatacaata
gcatgtttgactacttctgtgtacaaaaaatccagcagagggtccaccttcttatcagcataagtagcattaaagacaaaaatgaagacggta
ggttcacagtccttctcaataaaagcgtaaacatctctactccatattgtaccgtccaacctggtagacgtgcggtatattttgcgagccaaactt
ctcagggcggctgggaataaactgacgittggcggcgggacgagggtctgtgtaaaaccc

(서열 식별 번호: 11)

도면7b

atggttatccaaaaccaagataccaggttacgcagttcggcaagccagtaacactttcatgttctcaaaccttgaatcacatgtcatgtactggtatc
aacaagaagtcagccaggcccaaaacttctcttctactattacgataaagacttcaacaatgaggccgatacccccgaactttcagagtaggagg
cccaacacaagttttgttcttggaatccgctcaccggacttggcgatgcggcgatgtaicctgtgcgacatcaagtagtatagcgggggatacgc
ggaacaacgaacaatttttggctctggaaccaggcttacggtattg

(서열 식별 번호: 12)

도면8

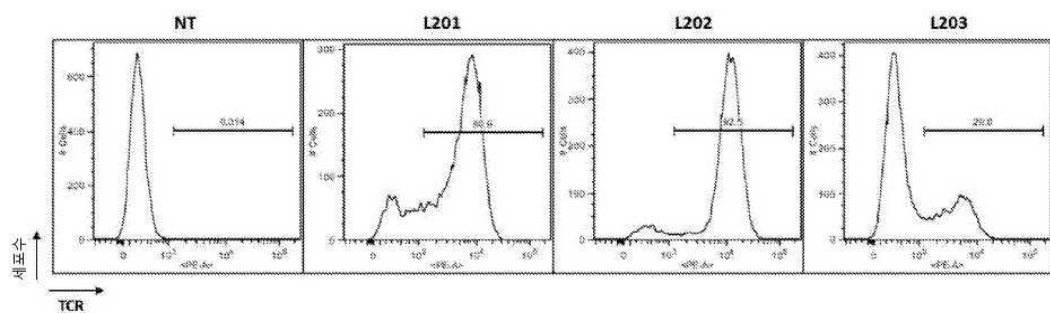
MATGSATSLLAFGLLCPWLQEASA

(서열 식별 번호: 14)

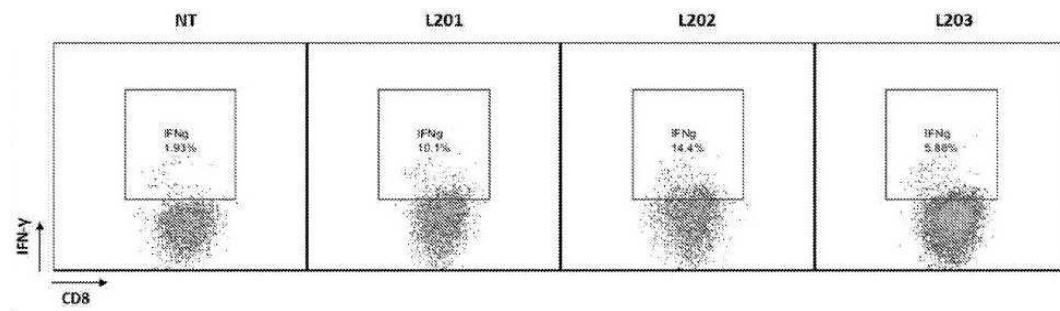
MATGSRTSLLAFGLLCPQLQEGSA

(서열 식별 번호: 15)

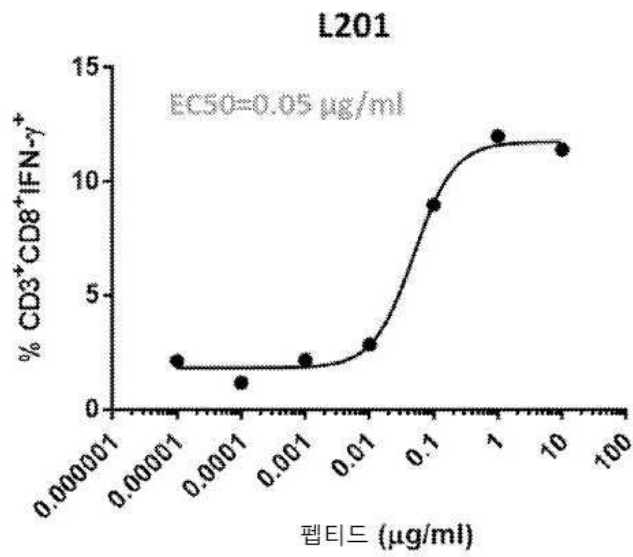
도면9



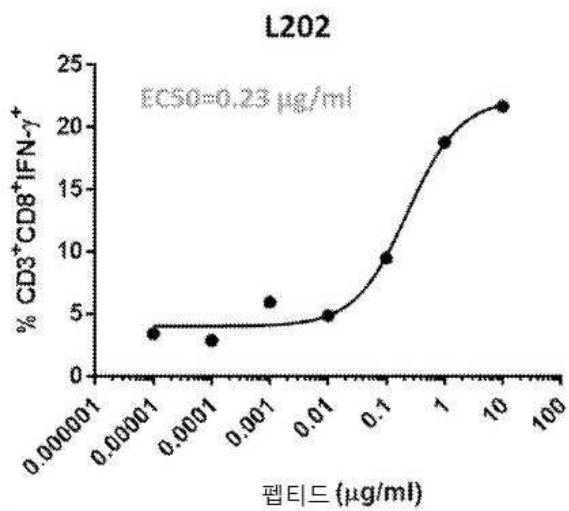
도면10



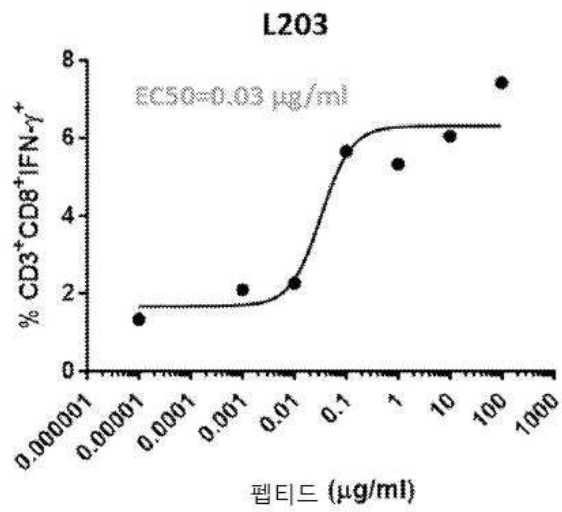
도면11a



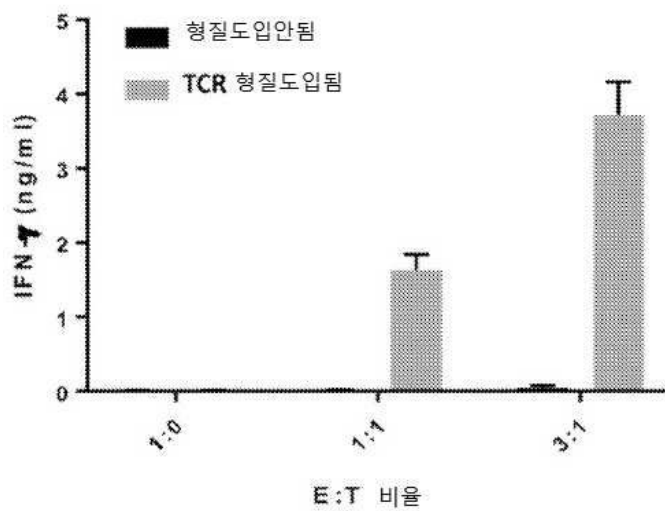
도면11b



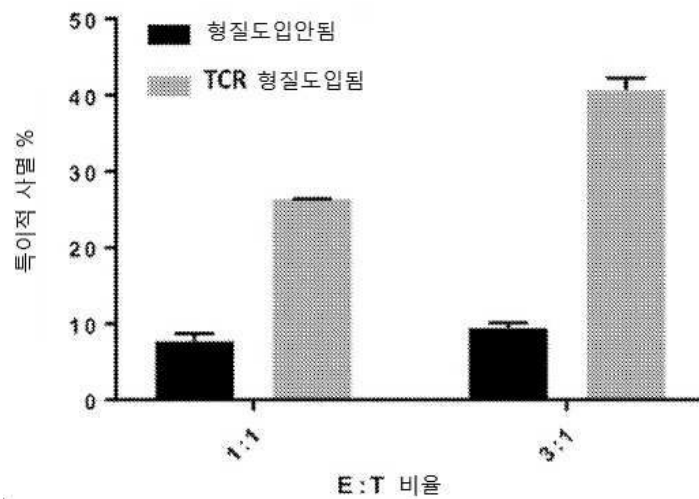
도면11c



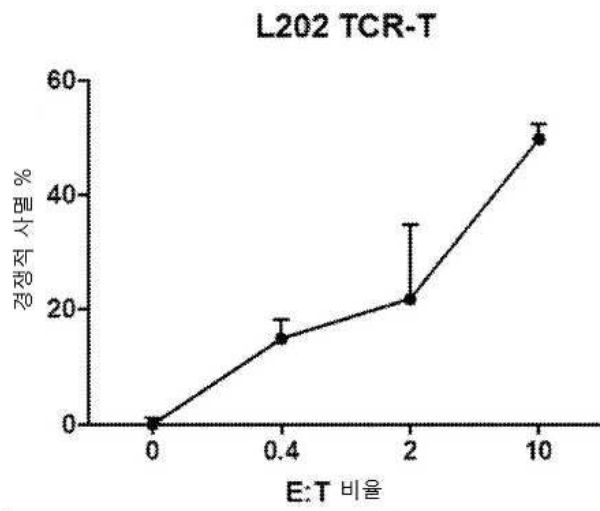
도면12



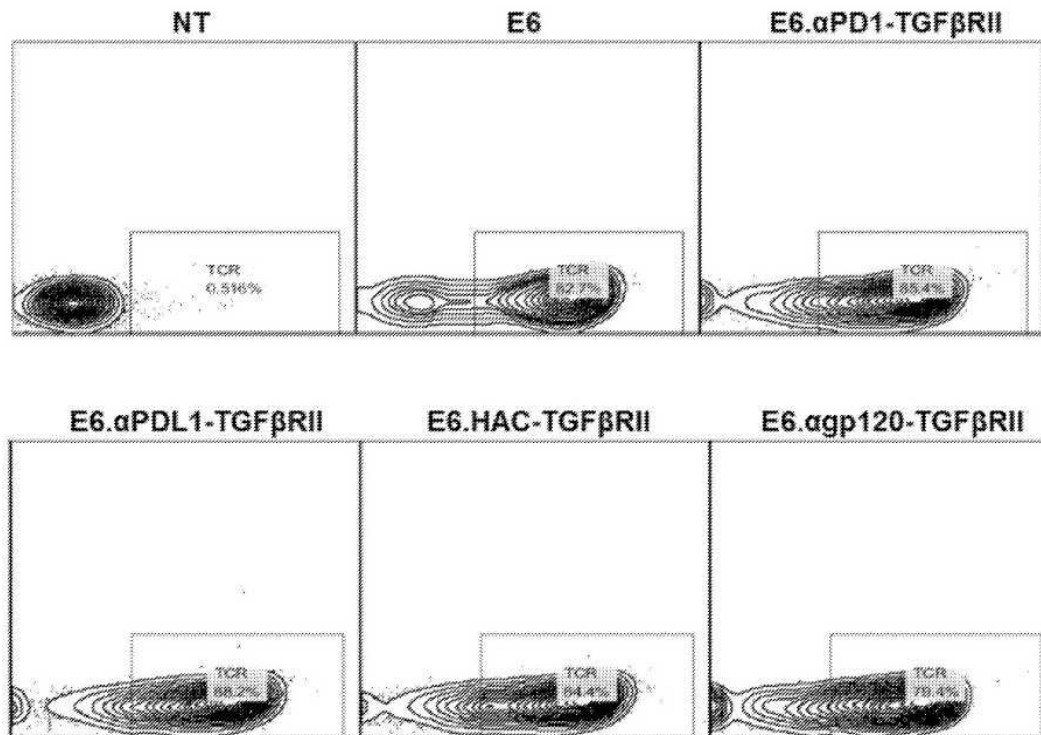
도면13a



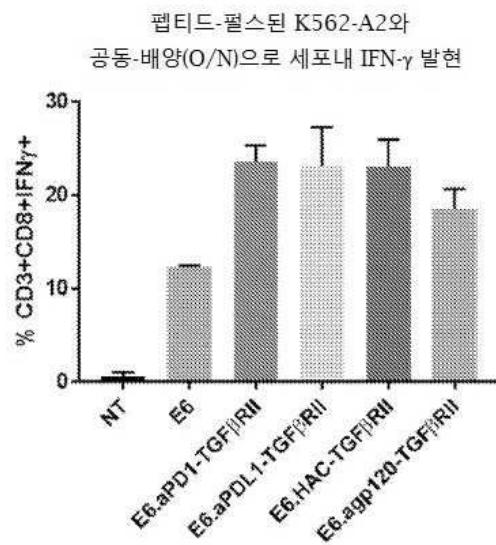
도면13b



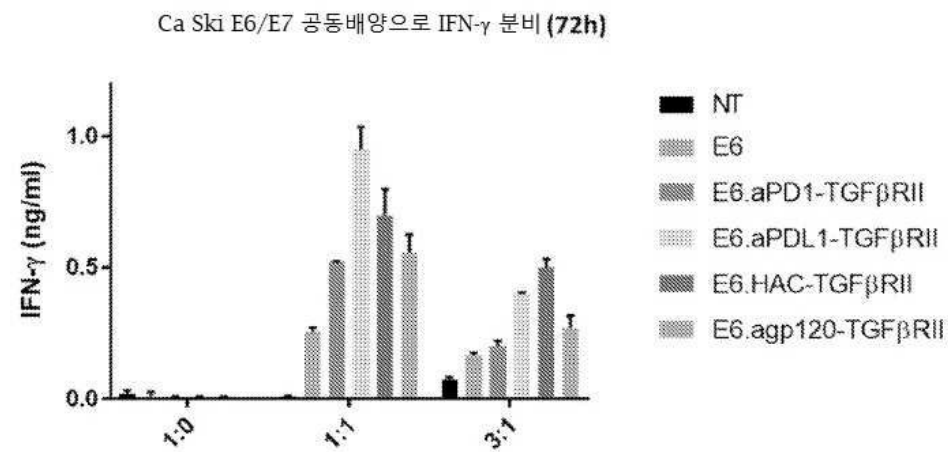
도면14



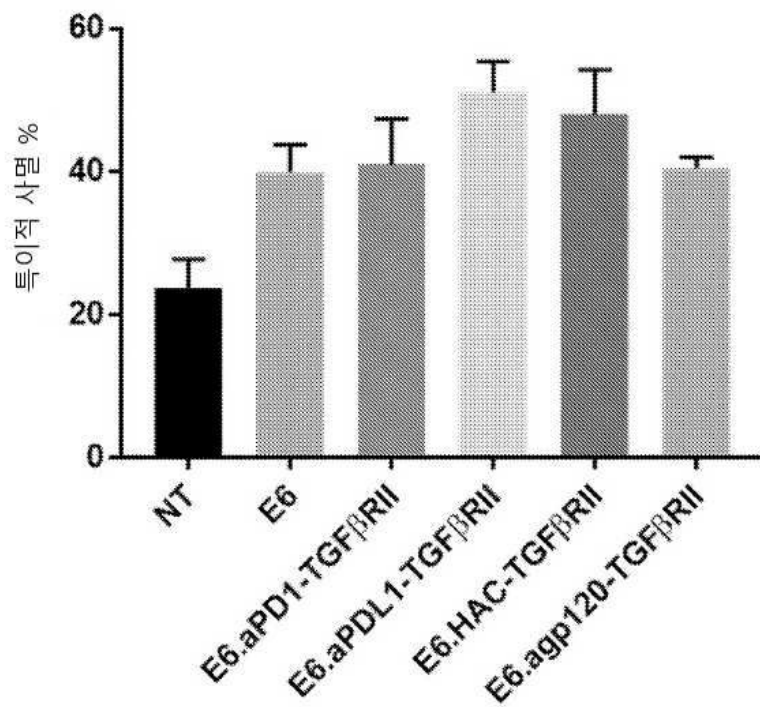
도면15a



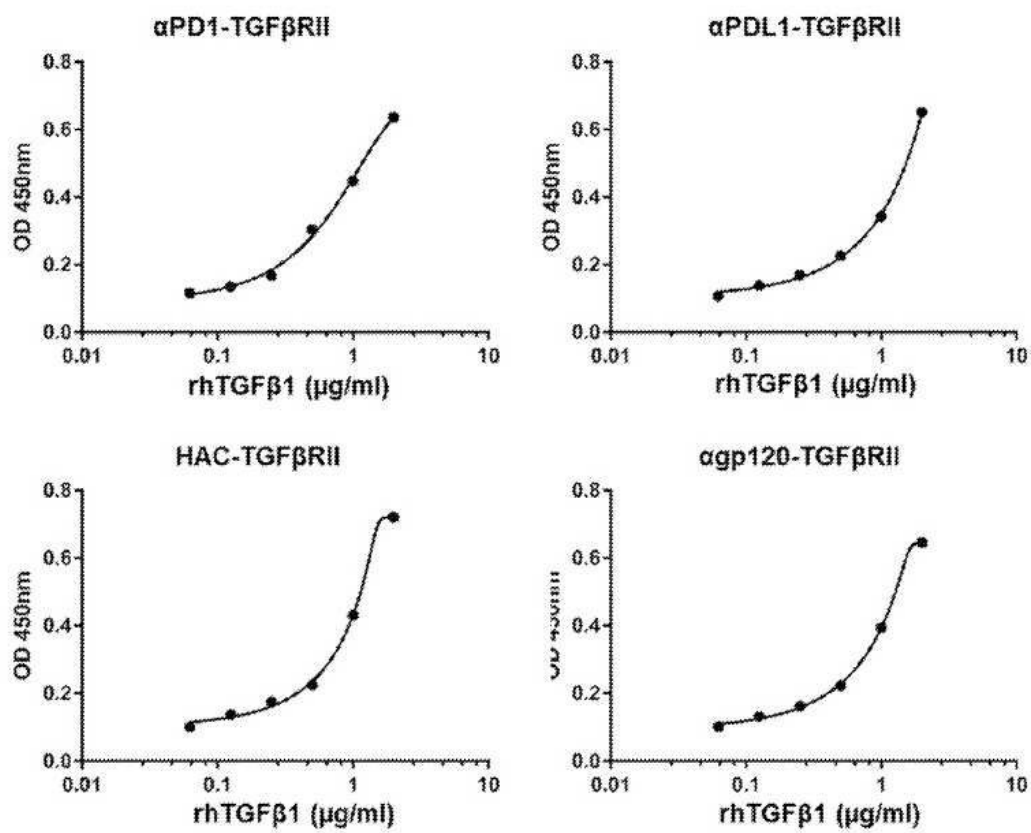
도면15b



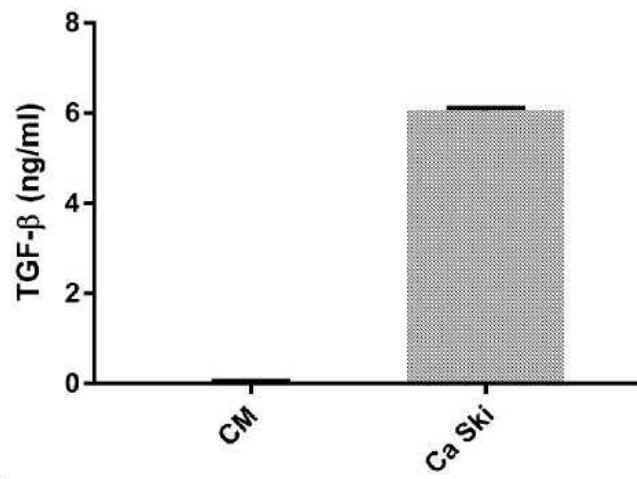
도면16



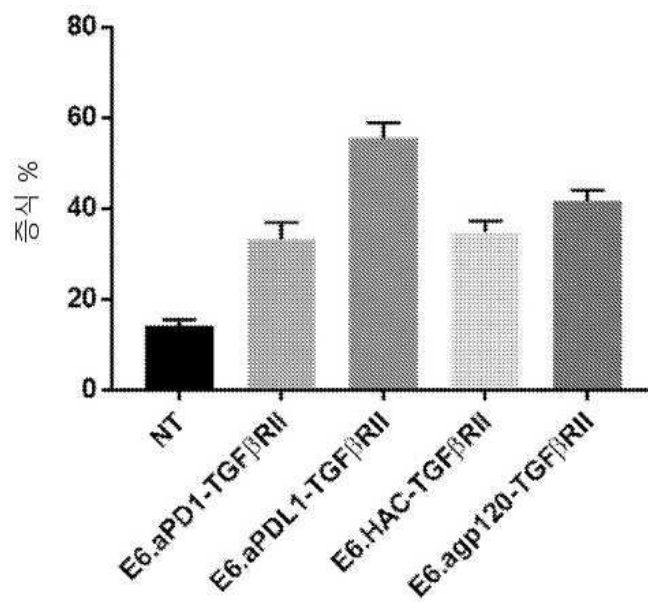
도면17



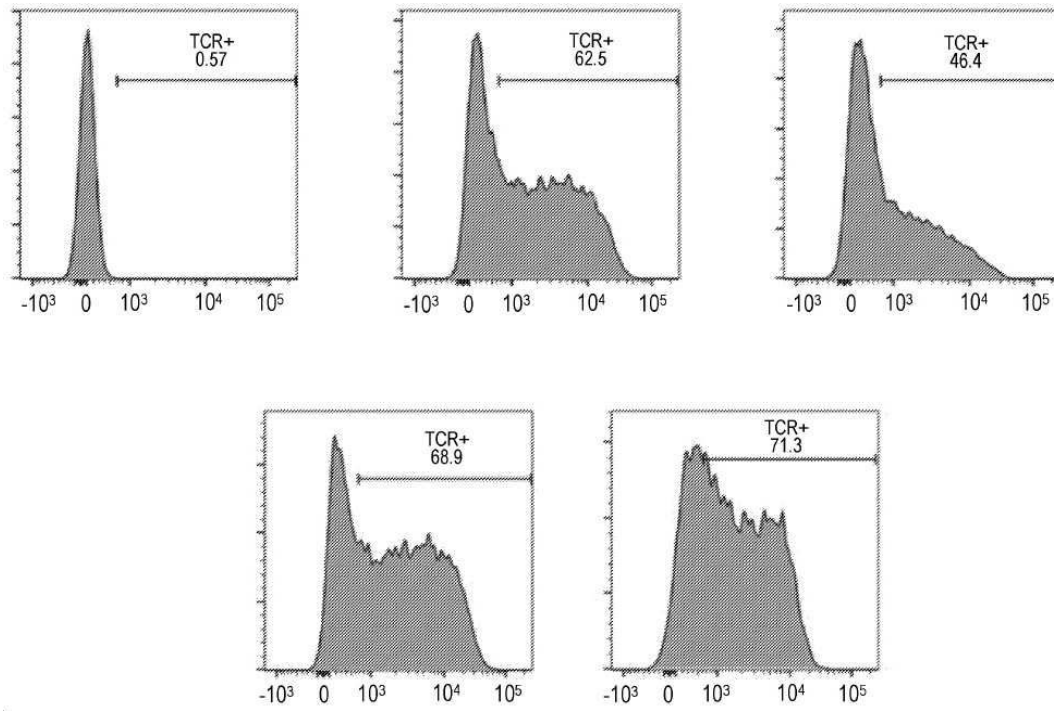
도면18



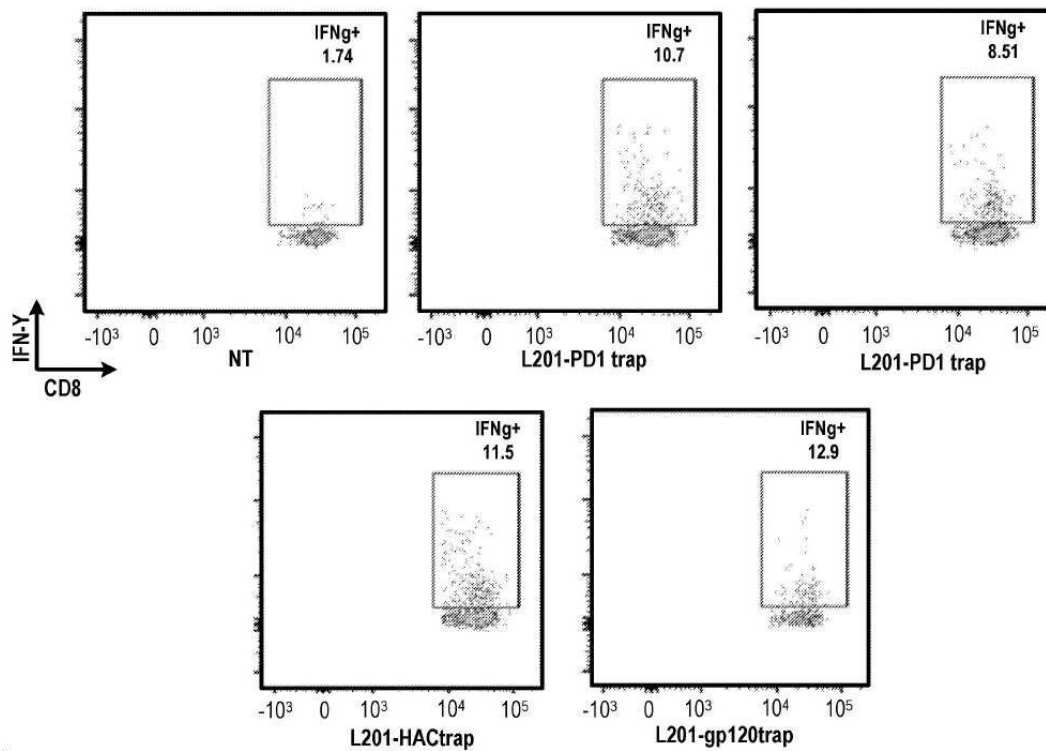
도면19



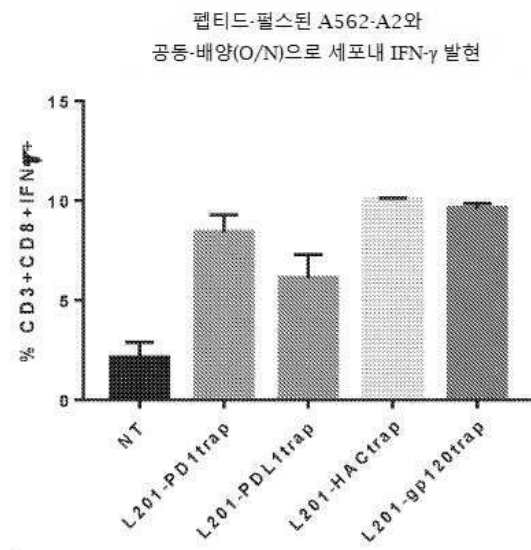
도면20



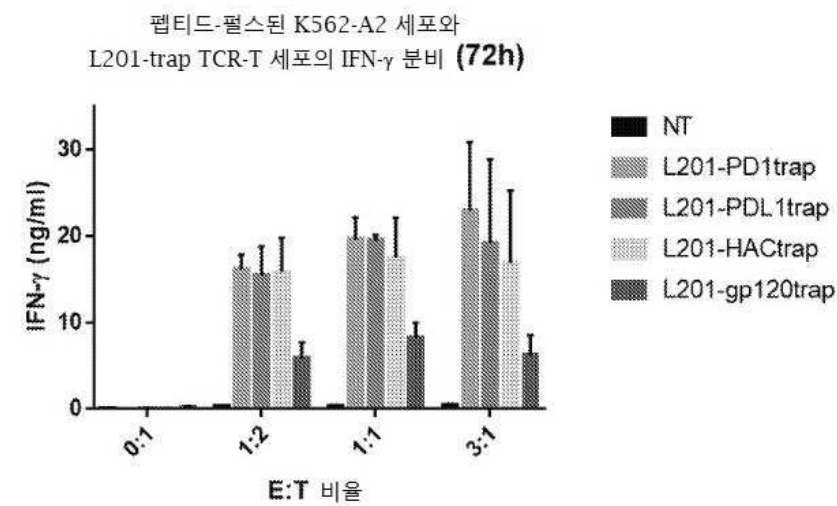
도면21



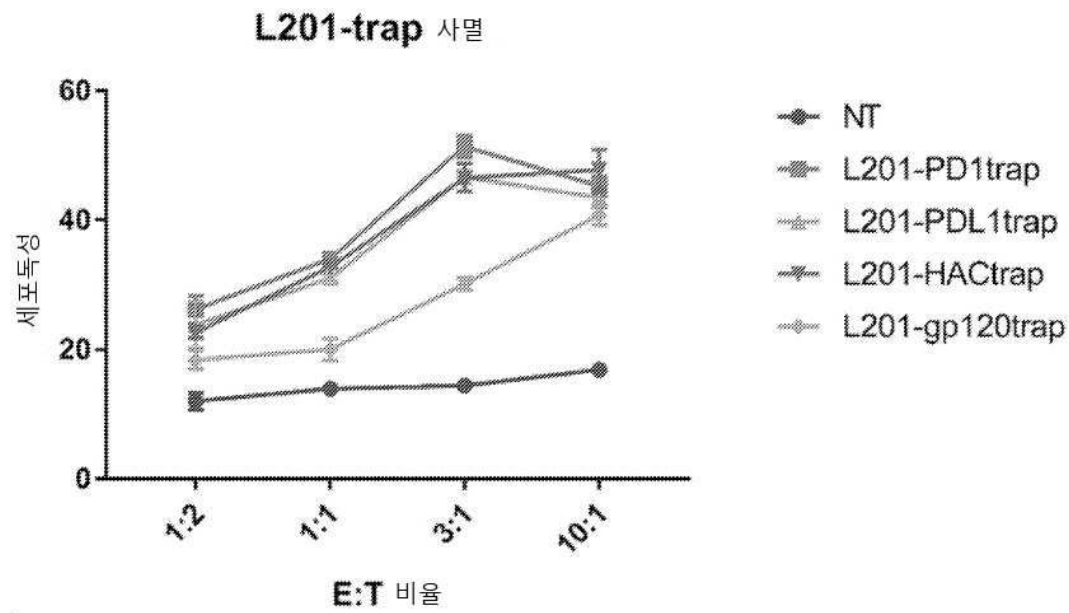
도면22a



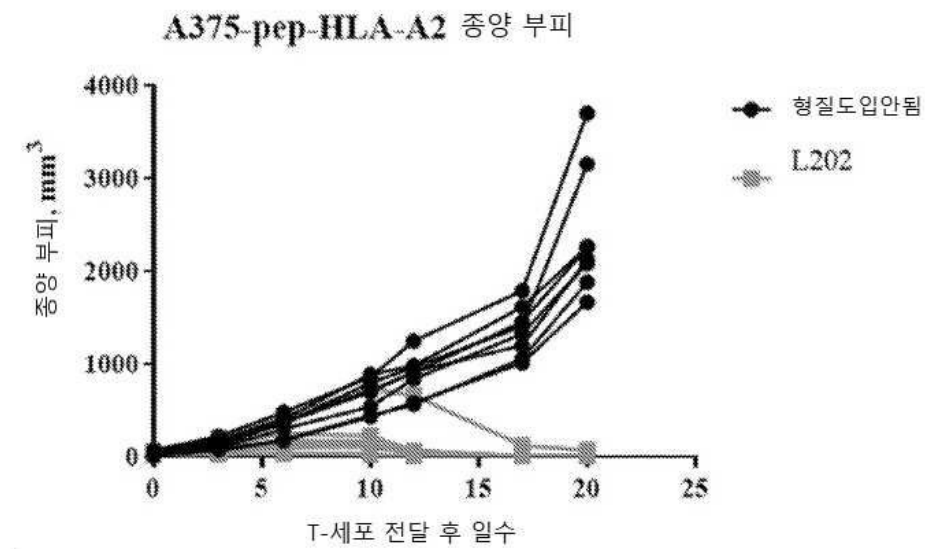
도면22b



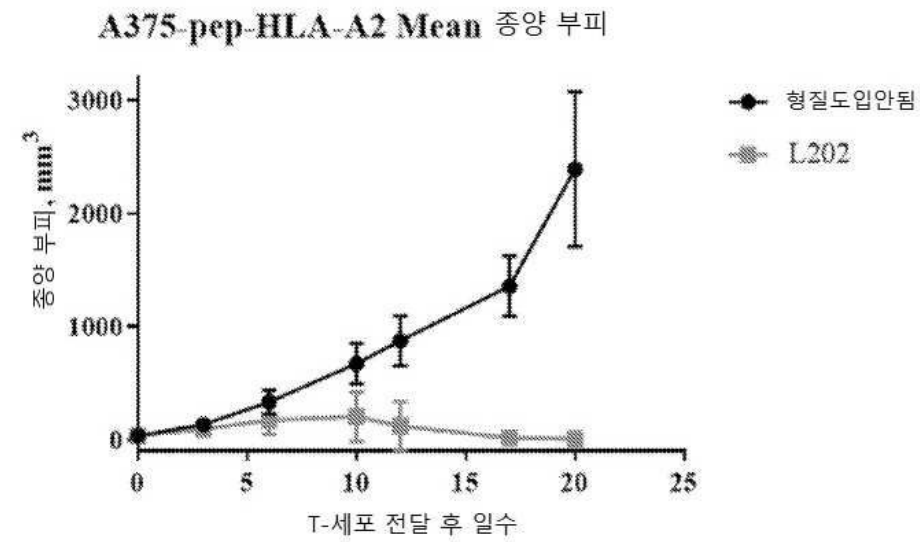
도면23



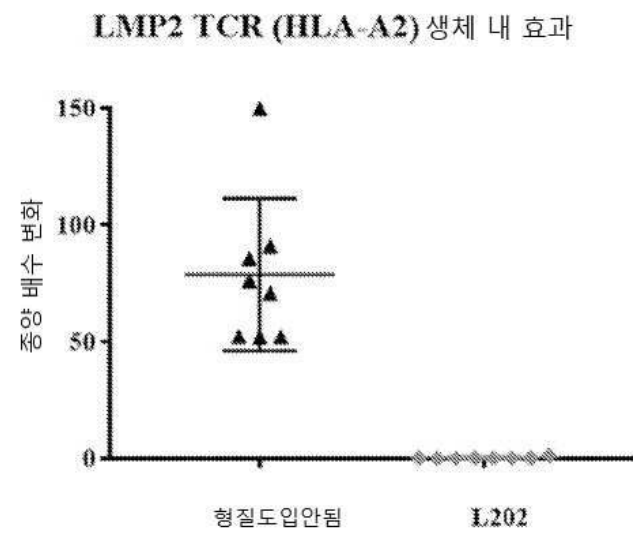
도면24a



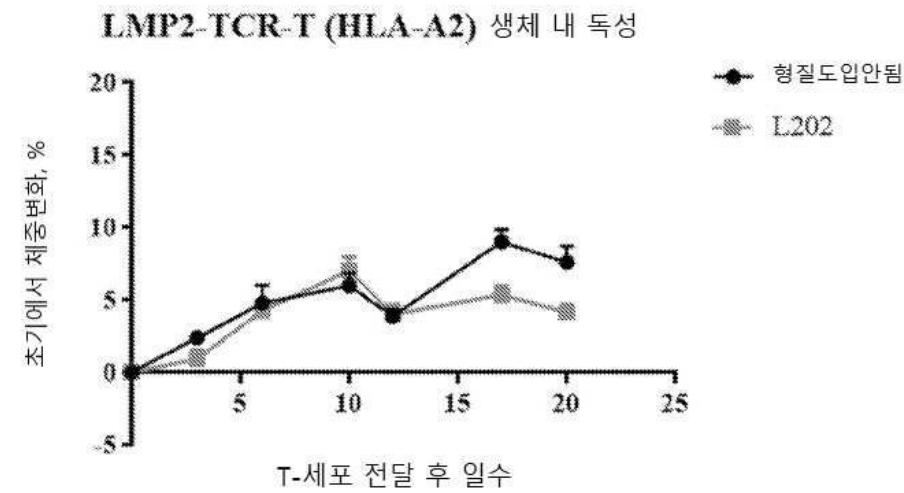
도면24b



도면24c



도면24d



도면25

	CDR1α	서열번호	CDR2α	서열번호	CDR3α	서열번호	CDR1β	서열번호	CDR2β	서열번호	CDR3β	서열번호
L201	NSMFDY	17	ISSIKDK	18	CAAPPSGNQFY	19	MDHEN	20	SYDVKM	21	ASSTRLAGAQRDTQY	22
L202	DSSSTY	23	IFSNMDM	24	AESIPSGYNKLI	25	SGHAT	26	FQNGV	27	ASSLGLAGEDTQY	28
L203	NSMFDY	29	ISSIKDK	30	AAKLQAAGNKLT	31	LNHNV	32	YYDKDF	33	ATSSSIAGDTRNNEQF	34

도면26a

DQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFLNKS AKHLSLHIVPSQP
GDSAVYFCAAPPPSGNQFYFGTGTSLTVIP

(서열 식별 번호: 1)

DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQMDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIYFSYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILE
SASTNQTSMYLCASSTRLAGAQRDTQYFGPGTRLTVL

(서열 식별 번호: 2)

gatcagcagggttaacaaaatagcccgctcactttcagttcaagaaggacgcactcctcactcaactgcgattacacgaactctatgtttgattactttc
tttggtacaagaagtacccagcagagggtcgcactttccttatctccataagcagtatcaaagataagaacgaagacgggtcgggtcacagtgttcctta
acaaaagcgcacaaagcacttgcctcgcacattgtgcccgtcccaacccggcgactcagcagtggtacttctgcggccacccccaccctcggtaataat
ttacttcggtaggggacgtctcactgttatccc

(서열 식별 번호: 3)

gacgtgaaggctcactcagctctcaggtatctgttaagcgcactggcgaaaaagttttctggagtgtgtccaggacatggatcacgaaaatatgttt
ggatcgccaagaccctgggtcgggtctcagactgattacttttagctacgcaggttaaaatgaaggaaaagggtgatatcttgaaagggtataggttt
cacgcgagaagaagagcgggtctcactgaccttgagtcagcctccactaaccaaacatccatgtacctttgcgcactctagtacaaggctcgcgggc
gtcaacgggatacccaataatttcgggtcgggcacgcgggtgaccgtcctg

(서열 식별 번호: 4)

EDVEQSLFLSVREGDSSVINCTYTDSSSTYLYWYKQEPGAGLQLTYIFSNDMDMKQDQRLTVLLNKKDKHLSLRIADTQT
GDSAIYFCAESIPSGYNKLIIFGAGTRLAVHP

(서열 식별 번호: 5)

GVAQSPRYKHEKQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKLLIQFNNGVVDSDQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQP
AKLEDSAVYLCASSLGLAGEDTQYFGPGTRLTVL

(서열 식별 번호: 6)

gaggacgtagaacaatctctttttctctctgcgcgaggagattcctctgtaataatgtacttacaccgatagcagctcaacgtacctctactggta
taagcaggagcccgcgaggcttgcaactctgacttatatatttagcaatatggatatgaacaagaccaacgattgacagtctcttgacaaga

도면26b

aagacaagcacctttctcttcgcatcgaggacacccagacaggggactcagcaattttttgcgctgaaagcattccctctggatacaataagttgat
atttggagcggggaccaggtcgcggtccatcca

(서열 식별 번호: 7)

gggtggcacaatccccaggtacaagatcatcgagaaaaggcagtcgctcgcttttgggtgtaatccaatctggacatgccacactttactgggtat
caacagatactgggtcagggccgaagctgcttatacagtttcaaaacaatggcggtgctgatgacagtcagcttccaaagacagatttctgcaga
gagactgaagggggtgtagtagcttgaaaatacaaccggcgaaactcgaagacagtgctgtctaccttgcgcttctcactcggattggctggag
aggacacacaatactttgtccagggaaccagactcacggttctg

(서열 식별 번호: 8)

QQKNDQVQKQNSPSLSVQEGRISILNCDYTNSMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFLNKS AKHLSL
HIVPSQPGDSAVYFCAAKLPQAAGNKLTFGGGTRVLVKP

(서열 식별 번호: 9)

MVIQNPRYQVTQFGKPVTLSCSQTLNHNVMYWYQKSSQAPKLLFHYDDKDFNNEADTPDNFQSRPNTSFCFLDIR
SPGLGDAAMYLCATSSSIAGDTRNNEQFFGPGTRLTVL

(서열 식별 번호: 10)

caacagaagaatgacgatcaacaagtaaaagcaaaacagcccctctcttctcagtacaagaaggacgcatctctataactgcgactatacaata
gcatgtttgactacttctgtgtgtaaaaaatatccagcagaggggtccaccttcttatcagcataagtagcattaaagcaaaaatgaagacggt
aggttcacagtccttctcaataaaagcgctaaacatctctcactccatattgtaccgtcccaacctgggtacagtcggtatattttgcgcagccaaac
ttctcaggcggctgggaataaaactgacgtttggcgcgggacgaggggtcctgtaaaaccc

(서열 식별 번호: 11)

atggttatccaaaaccaagataccaggttacgcagttcggaagccagtaaacactttcatgttctcaaaccttgaatcacaatgtcatgtactgtgatac
aacaaaagtcaagccaggccccaaaacttcttctactattacgataaagacttcaacaatgaggccgatccccgacaactttagagtaggag
gcccaacacaagttttgtttcttgacatccgctcaccggacttggcgatgcgcgatgtatctctgtgcgacatcaagtagtatagcgggggatacg
cggacaacgaacaattttgtcctggaaccagggttacggtattg

(서열 식별 번호: 12)

ECD of TGFβRII amino acid sequence:

TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQE

VCVAVWRKNDENITLTVCHDPKLPYHDFILEDASPCKIMKEKKKPGETFFMCSCSSD

도면26c

ECNDNIIFSEYNTSNPD

(서열 식별 번호:13)

MATGSRTSLLAFGLLCLPWLQEASA

(서열 식별 번호: 14)

MATGSRTSLLAFGLLCLPCLQEGSA

(서열 식별 번호: 15)

LMP2 epitope

LLWTLVVLL (서열 식별 번호: 16)

L201 a쇄의 전장 아미노산 서열

DQQVKQNSPSSVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFLNKS AKHLSLHIVPSQP
GDSAVYFCAAPPSPGNQFYFGTGTSLTVIPDIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVL
DMKAMDSKSNGAIAWSNQTSTFCQDIFKETNACYPSSDVPCDATTLSKSFETDMNLNFQNL SVMGLRIILLKVAGFNL
LMTLRLLWSS

(서열 식별 번호: 35)

L201 b쇄의 전장 아미노산 서열

DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIYFSYDVKMKEKGDIEGYSVSREKKERFSLILE
SASTNQTSMYLCASSTRLAGAQRDTQYFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVEL
SWWVNGKEVHSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVCATFWHNPRNHFRCCVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVQTQNSA
EAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKKRNS

(서열 식별 번호: 36)

L202 a쇄의 전장 아미노산 서열

EDVEQSLFLSVREGDSSVINCTYTDSSSTLYWYKQEPGAGLQLLTYIFSNDMDKQDQRLTVLLNKKDKHLSLRIADTQT
GDSAIYFCAESIPSGYNKLIFGAGTRLAVHPDIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVL
DMKAMDSKSNGAIAWSNQTSTFCQDIFKETNACYPSSDVPCDATTLSKSFETDMNLNFQNL SVMGLRIILLKVAGFNL
LMTLRLLWSS

(서열 식별 번호: 37)

도면26d

L202 b 쇠의 전장 아미노산 서열

GVAQSPRYKIEKRQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKLIQFQNNGVVDDSQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQP
AKLEDSAVYLCASSLGLAGEDTQYFGPGTRTLVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWW
VNGKEVHSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVCATFWHNPNNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWG
RADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKKNS

(서열 식별 번호: 38)

L203 a 쇠의 전장 아미노산 서열

QQKNDDQVQKQNSPSLSVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDNEDGRFTVFLNKSARKHLSL
HIVPSQPGDSAVYFCAAKLPQAAGNKLTFGGGTRVLVKPDIONPEPAVYQLKDPKSODSTLCFTDFDSQINVPKTMES
GTFITDKTVLDMKAMDSSKNGAIAWSNQTSFTCODIFKETNACYSSSDVPCDALTKEKSFETDMNLNFQNLVSMGLRI
LLKLVAGFNLLMTLRLLWSS

(서열 식별 번호: 39)

L203 b 쇠의 전장 아미노산 서열

MVIQNPYQVTQFGKPVTLSCSQTNLNHNVMYWYQQKSSQAPKLLFHYDKDFNNEADTPDNFQSRPNTSFCFLDIR
SPGLGDAAMYLCATSSSIAGDTRNNEQFFGPGTRTLVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVE
LSWWWNGKEVHSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVCATFWHNPNNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONIS
AEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKKNS

(서열 식별 번호: 40)

L201 a 쇠의 전장 핵산 서열

GATCAGCAGGTTAAACAAAATAGCCCGTCACTTTCAGTTCAAGAAGGACGCATCTCCATACTCAACTGCGATTACA
CGAACTCTATGTTTGATTACTTTCTTGGTACAAGAAGTACCCAGCAGAGGGTCCGACTTTCCTTATCTCCATAAGC
AGTATCAAAGATAAGAACGAAGACGGTGGGTTACAGTGTTCCTTAACAAAAGCGCAAAGCACTTGTCTCTGCAC
ATTGTGCCGTCCCAACCCGGCGACTCAGCAGTGTACTTCTGCGCCGCACCCCCACCTCCGGTAATCAATTTACTT
CGGTACGGGGACGTCTCTCACTGTTATACCCgacatccagaatccagagccagccgtgtaccagctgaaggacccaggagccaggac
tciacctctgctgttcacgacttcgacagccagatcaacgtgcccagacaaaggagagcggcaccctcatcacgacaagaccgtgctggacat
gaaggctataggacagcaaggcaacggagccatcgcttggagcaaccagaccagcttcacttgcaggacatcttcaggagaccacgcttctac
ccctctagcgacgtgcttgcgacgcacactgacagagaagagcttcgagaccgacgaacctgaacttcagaaacctgagcgtgatggcctga
gaatccctgctgaaggtagccggattcaacctgctgatgacctgagcgtgtgtctcc

(서열 식별 번호: 41)

L201 b 쇠의 전장 핵산 서열

도면 26e

GACGTGAAGGTCACTCAGTCTTCACGGTATCTTGTTAAGCGCACTGGCGAAAAAGTTTTCTGGAGTGTGTCCAGG
ACATGGATCACGAAAATATGTTTTGGTATCGCCAAGACCTGGGCTGGGTCTCAGACTGATTTACTTTAGCTACGA
CGTTAAATGAAGGAAAAGGGTGATATTCCTGAAGGGTATAGTGTTTCACGCGAGAAGAAAGAGCGGTTCTCACT
GATCCTTGAGTCAGCCTCCACTAACCAACATCCATGTACCTTTGCGCATCTAGTACAAGGCTCGCGGGCGCTCAA
CGGGATACCAATATTTCTGGTCCGGGCACGCGGTTGACCGTCTTGaggagacctacgtaacgtgacctctccaagggtgtcctgt
tcgagccttagcaggccgagatcgtcaacaagcagaaggccacactcgtctgtcctgagaggcttctccagaccacgtggagctgtctgtggtg
gtgaacggcaaggagggtgactcaggaggtgtctaccgaacctcaggccctacaaggagagcaactacagctactgctgtctccagactcagggtct
ggcgccaccttttggcacaacctcggaaaccttcgctgtcagggtccagttccagggcctgtccagggaagacaagtggccagagggtctctctaag
ccagtgacacagaacatcagcgccgaggcttggggagagccgattcggaatcacagcgctctffaccagcaggaggtgtgtcagctaccatcc
tgtacgagatcctgtgggcaaggccacactgtacgaggtgtgtgtcactctggctgtgaggtatggtgaagggaagaaacagc

(서열 식별 번호: 42)

L202 a쇄의 전장 핵산 서열

GAGGACGTAGAACAATCTCTTTTCTCTGTCCGCGAGGGAGATTCTCTGTAATCAATTGACTTACACCGATAG
CAGCTCAACGTACCTTACTGGTATAAGCAGGAGCCCGCGCAGGCTTGCAACTTCTGACTTATATATTTAGCAAT
ATGGATGTAAACAAGACCAACGATTGACAGTGCTTCTGAACAAGAAAGACAAGCACCTTTCTCTTCGATTGCGG
ACACCCAGACAGGGGACTCAGCAATTTATTTTGCCTGAAAGCATTCCCTCTGGATACAATAAGTTGATATTTGG
AGCGGGGACCAGGCTGGCGGTCCATCCAagacatccagaatccagagccagccgtgtacagctgaaggacctaggagccaggaactt
acctctgctgttaccgactctgacagccagatcaacgtgcccaagacaatggagagccggcaccttcatccgacaagacctgtctggacatga
aggctatggacagcaagagcaacggagccatcgtctggagcaaccagaccagcttcacttggcagacatctcaggagagcaaacgttgcctccc
ctctagcgacgtgtcttggcagccacacagacagaggaaggtctcagagccacaigaacagcaacttcagaaacagagcgtgtgagggcctgaga
atcctgtgtgtgaagggtggccggattcaacagcagatgacctgaggctgtgtgtcttc

(서열 식별 번호: 43)

L202 b쇄의 전장 아미노산 서열

GGTGTGGCACAATCCCCAGGTACAAGATCATCGAGAAAAGGCAGTCCGTCGCGTTTTGGTGAATCCAATATCT
GGACATGCCACACTTTACTGGTATCAACAGATACTGGGTGAGGGGCCGAAGCTGCTTATACAGTTTCAAAACAATG
GCGTGGTCGATGACAGTCAGCTTCCCAAAGACAGATTTTCTGCAGAGAGACTGAAGGGGGTGGATAGTACCTTGA
AAATACAACCGGCGAAACTCGAAGACAGTGCTGTCTACCTTTGCGCTTCTCACTCGGATTGGCTGGAGAGGACA
CACAATACTTTGGTCCAGGAACCAGACTCACGGTTCTGaggagacctacgtaacgtgacctctccaagggtgtcctgttctgagcctag
caaggccgagatcgcacaagcagaaggccacactcgtctgctggctagaggcttcttccagaccacgtggagctgtcttgggtgggtgaacggc
aaggagggtgactcaggaggtgtctaccgaacctcaggccctacaaggagagcaactacagctactgctgtctccagacacagggtgtgcccacctt
ttggcacaacctcggaaaccttccgtgtcagggtccagttccagggcctgtccagggaagacaagtggccagagggtctctctaagccagtgacac
aggaacatcagcgccgaggcttggggagagccgattgggaatcacagcgctcttaccagcaggaggtgtgtcagctaacatcctgtacgagat
ctgtctgggcaaggccacactgtacgcagtgctgtgtctcactctgtgtgtatggtatggtgaagggggaagaaacagc

(서열 식별 번호: 44)

L203 a쇄의 전장 핵산 서열

<400> 1

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

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

65	70	75	80
Gln Pro Gly Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Pro Pro Pro Ser			
	85	90	95
Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu Thr Val Ile Pro			
	100	105	110

<210> 2

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 2

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

1	5	10	15
	20	25	30
Glu Lys Val Phe Leu Glu Cys Val Gln Asp Met Asp His Glu Asn Met			
Phe Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Leu Gly Leu Arg Leu Ile Tyr Phe			
	35	40	45
Ser Tyr Asp Val Lys Met Lys Glu Lys Gly Asp Ile Pro Glu Gly Tyr			
	50	55	60
Ser Val Ser Arg Glu Lys Lys Glu Arg Phe Ser Leu Ile Leu Glu Ser			
65	70	75	80

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

115

<210> 3

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human

<400> 3

gatcagcagg ttaaacaaaa tagcccgta cttcagttc aagaaggacg catctccata 60

ctcaactgag attacacgaa ctctatgttt gattactttc ttgtgtacaa gaagtaccca 120

gcagagggtc cgactttcct tatctccata agcagtatca aagataagaa cgaagacggt 180

cggttcacag tggtccttaa caaaagcgca aagcacttgt ctctgcacat tgtgccgtcc 240

caaccggcg actcagcagt gtactttctgc gccgcacccc caccctccgg taatcaattt 300

tacttcggta cggggacgtc tctcactgtt ataccc 336

<210> 4

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human

<400> 4

gacgtgaagg tcaactcagtc ttcacggtat cttgttaagc gcactggcga aaaagttttt 60

ctggagtgtg tccaggacat ggatcacgaa aatatgtttt ggtatcgcca agaccctggg 120

ctgggtctca gactgattta ctttagctac gacgttaaaa tgaaggaaaa gggatgatatt 180

cctgaagggt atagtgtttc acgcgagaag aaagagcggg tctcactgat ccttgagtca 240

gcctccacta accaaacatc catgtacctt tgcgcactca gtacaaggct cgcgggcgct 300

caacgggata cccaatatatt cgggtccgggc acgcgggtga ccgtcctg 348

<210> 5

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 5

Glu Asp Val Glu Gln Ser Leu Phe Leu Ser Val Arg Glu Gly Asp Ser

1 5 10 15

Ser Val Ile Asn Cys Thr Tyr Thr Asp Ser Ser Ser Thr Tyr Leu Tyr

20 25 30

Trp Tyr Lys Gln Glu Pro Gly Ala Gly Leu Gln Leu Leu Thr Tyr Ile

35 40 45

Phe Ser Asn Met Asp Met Lys Gln Asp Gln Arg Leu Thr Val Leu Leu

50 55 60

Asn Lys Lys Asp Lys His Leu Ser Leu Arg Ile Ala Asp Thr Gln Thr

65 70 75 80

Gly Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Glu Ser Ile Pro Ser Gly Tyr

85 90 95

Asn Lys Leu Ile Phe Gly Ala Gly Thr Arg Leu Ala Val His Pro

100 105 110

<210> 6

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 6

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

1 5 10 15

Val Ala Phe Trp Cys Asn Pro Ile Ser Gly His Ala Thr Leu Tyr Trp

20 25 30

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

35 40 45

Asn Asn Gly Val Val Asp Asp Ser Gln Leu Pro Lys Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

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

 85 90 95
Ala Gly Glu Asp Thr Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val

 100 105 110
Leu

<210> 7

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human

<400> 7

gaggacgtag aacaatctct tttctctct gtcgcgagg gagattcctc tgtaatcaat 60
tgtacttaca ccgatatgag ctcaacgtac ctctactggt ataagcagga gcccggcgca 120
ggcttgcaac tttgacttta tatatttagc aatatggata tgaacaaga ccaacgattg 180

acagtgttc tgaacaagaa agacaagcac cttctcttc gcattgcgga cacccagaca 240
ggggactcag caatttat tttgcgtgaa agcattccct ctggatacaa taagtgata 300
tttggagcgg ggaccaggct ggcggtccat cca 333

<210> 8

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human

<400> 8

ggtgtggcac aatccccag gtacaagatc atcgagaaa ggcagtccgt cgcgttttgg 60
tgtaatcaa tatctggaca tgccacactt tactggtatc aacagatact gggtcagggg 120
ccgaagctgc ttatacatt tcaaaacaat ggcttggtcg atgacagtca gtttccaaa 180

gacagat ttt ctgcagagag actgaagggg gtggatagta ccttgaaaat acaaccggcg 240
aaactcgaag acagtgtgt ctacctttgc gtttctcac tcggattggc tggagaggac 300
acacaatact ttgtccagg aaccagactc acggttctg 339

<210> 9

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 9

Gln Gln Lys Asn Asp Asp Gln Gln Val Lys Gln Asn Ser Pro Ser Leu

1 5 10 15

Ser Val Gln Glu Gly Arg Ile Ser Ile Leu Asn Cys Asp Tyr Thr Asn

20 25 30

Ser Met Phe Asp Tyr Phe Leu Trp Tyr Lys Lys Tyr Pro Ala Glu Gly

35 40 45

Pro Thr Phe Leu Ile Ser Ile Ser Ser Ile Lys Asp Lys Asn Glu Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

His Ile Val Pro Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Ala Lys Leu Pro Gln Ala Ala Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Gly Gly

100 105 110

Thr Arg Val Leu Val Lys Pro

115

<210> 10

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 10

Met Val Ile Gln Asn Pro Arg Tyr Gln Val Thr Gln Phe Gly Lys Pro

1 5 10 15

Val Thr Leu Ser Cys Ser Gln Thr Leu Asn His Asn Val Met Tyr Trp

20 25 30

Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Gln Ala Pro Lys Leu Leu Phe His Tyr Tyr

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

85 90 95
 Gly Asp Thr Arg Asn Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu
 100 105 110
 Thr Val Leu

115

<210> 11

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human

<400> 11

caacagaaga atgacgatca acaagtaaag caaaacagcc cctctctttc agtacaagaa 60
 ggacgcactc ctatacttaa ctgcgactat acaaatagca tgtttgacta cttcctgtgg 120
 tacaaaaaat atccagcaga ggggtcccacc ttcccttatca gcataagtag cattaaagac 180

aaaaatgaag acggtagggt cacagtcttc ctcaataaaa gcgctaaaca tctctcactc 240
 catattgtac cgtcccaacc tgggtgacagt gcggtatatt tttgcgcagc caaacttcct 300
 caggcggtg ggaataaact gacgtttggc ggcgggacga gggctcctggt aaaaccc 357

<210> 12

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human

<400> 12

atggttatcc aaaaccaag ataccaggtt acgcagttcg gcaagccagt aacactttca 60
 tgtttcctaaa ccttgaatca caatgtcatg tactggatc aacaaaagtc aagccaggcc 120
 ccaaaacttc tctttcacta ttacgataaa gacttcaaca atgaggccga taccctcgac 180

aactttcaga gtaggaggcc caacacaagt tttgttttct tggacatccg ctcacccgga 240
 cttggcgatg cggcgatgta tctctgtgcg acatcaagta gtatagcggg ggatacgcg 300
 aacaacgaac aattttttgg tcttgggaacc aggccttacgg tattg 345

<210> 13

<211> 137

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn Asn Asp Met Ile Val

1 5 10 15

Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys

20 25 30

Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser Asn

35 40 45

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

50 55 60

Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys His

65 70 75 80

Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu Asp Ala Ala Ser

85 90 95

Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe Phe

100 105 110

Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe Ser

115 120 125

Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp

130 135

<210> 14

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal peptide

<400> 14

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Ala Ser Ala

20 25

<210> 15

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal peptide

<400> 15

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1 5 10 15

Cys Leu Pro Cys Leu Gln Glu Gly Ser Ala

20 25

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide epitope

<400> 16

Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu

1 5

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 17

Asn Ser Met Phe Asp Tyr

1 5

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 18

Ile Ser Ser Ile Lys Asp Lys

1 5

<210> 19

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 19

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

1 5 10

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 20

Met Asp His Glu Asn

1 5

<210> 21

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 21

Ser Tyr Asp Val Lys Met

1 5

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 22

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

1 5 10 15

<210> 23

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 23

Asp Ser Ser Ser Thr Tyr

1 5

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 24

Ile Phe Ser Asn Met Asp Met

1 5

<210> 25

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 25

Ala Glu Ser Ile Pro Ser Gly Tyr Asn Lys Leu Ile

1 5 10

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 26

Ser Gly His Ala Thr

1 5

<210> 27

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 27

Phe Gln Asn Asn Gly Val

1 5

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 28

Ala Ser Ser Leu Gly Leu Ala Gly Glu Asp Thr Gln Tyr

1 5 10

<210> 29

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400> 29

Asn Ser Met Phe Asp Tyr

1 5

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human

<400>

30

Ile Ser Ser Ile Lys Asp Lys

1 5
 <210> 31
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Peptide from human
 <400> 31
 Ala Ala Lys Leu Pro Gln Ala Ala Gly Asn Lys Leu Thr

1 5 10
 <210> 32
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Peptide from human
 <400> 32
 Leu Asn His Asn Val

1 5
 <210> 33
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Peptide from human
 <400> 33

Tyr Tyr Asp Lys Asp Phe
 1 5
 <210> 34
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Peptide from human
 <400> 34

Ala Thr Ser Ser Ser Ile Ala Gly Asp Thr Arg Asn Asn Glu Gln Phe
 1 5 10 15
 <210> 35

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human/mouse

<400> 35

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

1 5 10 15
Arg Ile Ser Ile Leu Asn Cys Asp Tyr Thr Asn Ser Met Phe Asp Tyr

20 25 30
Phe Leu Trp Tyr Lys Lys Tyr Pro Ala Glu Gly Pro Thr Phe Leu Ile

35 40 45
Ser Ile Ser Ser Ile Lys Asp Lys Asn Glu Asp Gly Arg Phe Thr Val

50 55 60
Phe Leu Asn Lys Ser Ala Lys His Leu Ser Leu His Ile Val Pro Ser

65 70 75 80
Gln Pro Gly Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Pro Pro Pro Ser

85 90 95
Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu Thr Val Ile Pro

100 105 110
Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg

115 120 125
Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile

130 135 140
Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Thr

145 150 155 160
Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala

165 170 175
Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr

180 185 190
Asn Ala Cys Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr

195 200 205

Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser
210 215 220

Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu
225 230 235 240

Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
245

<210> 36

<211> 289

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human/mouse

<400> 36

Asp Val Lys Val Thr Gln Ser Ser Arg Tyr Leu Val Lys Arg Thr Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Phe Leu Glu Cys Val Gln Asp Met Asp His Glu Asn Met
20 25 30

Phe Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Leu Gly Leu Arg Leu Ile Tyr Phe
35 40 45

Ser Tyr Asp Val Lys Met Lys Glu Lys Gly Asp Ile Pro Glu Gly Tyr
50 55 60

Ser Val Ser Arg Glu Lys Lys Glu Arg Phe Ser Leu Ile Leu Glu Ser
65 70 75 80

Ala Ser Thr Asn Gln Thr Ser Met Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Thr Arg
85 90 95

Leu Ala Gly Ala Gln Arg Asp Thr Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg
100 105 110

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

Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr
130 135 140

Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser
145 150 155 160

Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro
165 170 175

Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
180 185 190

Arg Val Cys Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
195 200 205

Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly
210 215 220

Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
225 230 235 240

Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
245 250 255

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

Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn
275 280 285

Ser

<210> 37

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human/mouse

<400> 37

Glu Asp Val Glu Gln Ser Leu Phe Leu Ser Val Arg Glu Gly Asp Ser
1 5 10 15

Ser Val Ile Asn Cys Thr Tyr Thr Asp Ser Ser Ser Thr Tyr Leu Tyr
20 25 30

Trp Tyr Lys Gln Glu Pro Gly Ala Gly Leu Gln Leu Leu Thr Tyr Ile
35 40 45

Phe Ser Asn Met Asp Met Lys Gln Asp Gln Arg Leu Thr Val Leu Leu
50 55 60

Asn Lys Lys Asp Lys His Leu Ser Leu Arg Ile Ala Asp Thr Gln Thr
65 70 75 80

Gly Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Glu Ser Ile Pro Ser Gly Tyr
85 90 95

Asn Lys Leu Ile Phe Gly Ala Gly Thr Arg Leu Ala Val His Pro Asp
100 105 110

Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser
115 120 125

Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn
130 135 140

Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Thr Val
145 150 155 160

Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp
165 170 175

Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr Asn
180 185 190

Ala Cys Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu
195 200 205

Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val
210 215 220

Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu
225 230 235 240

Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
245

<210> 38

<211> 286

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human/mouse

<400> 38

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

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

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

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

 195 200 205
 Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys
 210 215 220
 Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys
 225 230 235 240
 Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile
 245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

<210> 39

<211> 256

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human/mouse

<400> 39

Gln Gln Lys Asn Asp Asp Gln Gln Val Lys Gln Asn Ser Pro Ser Leu

1 5 10 15

Ser Val Gln Glu Gly Arg Ile Ser Ile Leu Asn Cys Asp Tyr Thr Asn

20 25 30

Ser Met Phe Asp Tyr Phe Leu Trp Tyr Lys Lys Tyr Pro Ala Glu Gly

35 40 45

Pro Thr Phe Leu Ile Ser Ile Ser Ser Ile Lys Asp Lys Asn Glu Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

His Ile Val Pro Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Ala Lys Leu Pro Gln Ala Ala Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Gly Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Phe Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser

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

Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu
 225 230 235 240
 Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 245 250 255

<210> 40

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide from human/mouse

<400> 40

Met Val Ile Gln Asn Pro Arg Tyr Gln Val Thr Gln Phe Gly Lys Pro
 1 5 10 15

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

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

115 120 125
Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr Leu
130 135 140

Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp
145 150 155 160
Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln
165 170 175
Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg
180 185 190
Val Cys Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln
195 200 205

Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser
210 215 220
Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala
225 230 235 240
Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala
245 250 255
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val
260 265 270

Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn Ser
275 280 285

<210> 41

<211> 747

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human/mouse

<400> 41

gatcagcagg ttaacaaaa tagcccgta ctttcagttc aagaaggacg catctccata	60
ctcaactgcg attacacgaa ctctatgttt gattactttc tttggtacaa gaagtaccca	120
gcagagggtc cgactttcct tatctccata agcagtatca aagataagaa cgaagacggt	180
cggttcacag tggttcctta caaaagcgca aagcacttgt ctctgcacat tgtgccgtcc	240

caaccggcg actcagcagt gtacttctgc gccgcacccc caccctccgg taatcaattt 300
tacttcggta cggggacgtc tctcactgtt atacccgaca tccagaatcc agagccagcc 360
gtgtaccagc tgaaggaccc taggagccag gactctaccc tctgcctgtt caccgacttc 420
gacagccaga tcaacgtgcc caagacaatg gagagcggca ccttcacac cgacaagacc 480
gtgctggaca tgaaggctat ggacagcaag agcaacggag ccatcgcttg gagcaaccag 540
accagcttca cttgccagga catcttcaag gagaccaacg cttgtaccc ctctagcgac 600
gtgccttgcg acgccacact gacagagaag agcttcgaga ccgacatgaa cctgaacttc 660

cagaacctga gcgtgatggg cctgagaatc ctgctgtga aggtggccgg attcaacctg 720
ctgatgaccc tgaggctgtg gtcttcc 747

<210> 42

<211> 867

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human/mouse

<400> 42

gacgtgaagg tcaactcagtc ttcacggtat cttgttaagc gcactggcga aaaagttttt 60
ctggagtgtg tccaggacat ggatcacgaa aatatgtttt ggtatcgcca agacctggg 120
ctgggtctca gactgatitca ctttagctac gacgttaaaa tgaaggaaaa gggatgatatt 180
cctgaagggt atagtgtttc acgcgagaag aaagagcggg tctcactgat ccttgagtca 240

gcctccacta accaaacatc catgtacctt tgcgcactca gtacaaggct cgcgggcgct 300
caacgggata cccaatatct cggtcggggc acgcgggtga ccgtcctgga ggacctacgt 360
aacgtgaccc ctccaagggt gtccctgttc gagcctagca aggccgagat cgccaacaag 420
cagaaggcca cactcgtctg cctggctaga ggcttcttcc cagaccacgt ggagctgtct 480
tggtgggtga acggcaagga ggtgactca ggagtgtcta ccgacctca ggcctacaag 540
gagagcaact acagctactg cctgtcctcc agactcaggg tctgcgccac cttttggcac 600
aacctcggga accacttccg ctgtcaggtc cagttccacg gcctgtccga ggaagacaag 660

tggccagagg gctctcttaa gccagtga caagaacatca gcgccgaggc ttggggaaga 720
gccgattgag gaatcaccag cgcctcttac cagcagggag tgctgtcagc taccatcctg 780
tacgagatcc tgctgggcaa ggccacactg tacgcagtgc tggtgtccac tctggctgtg 840
atggctatgg tgaagcggaa gaacagc 867

<210> 43

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human/mouse

<400> 43

gaggacgtag aacaatctct tttctctct gtcgcgagg gagattcctc tgtaatcaat	60
tgtacttaca ccgatatgag ctcaacgtac ctctactggt ataagcagga gcccggcgca	120
ggcttgcaac ttctgactta tataatttagc aatatggata tgaacaaga ccaacgattg	180
acagtgttc tgaacaaga agacaagcac cttctcttc gcattgcgga caccagaca	240
ggggactcag caatttat tttgcgtgaa agcattccct ctggatacaa taagtgata	300
tttgagcgg ggaccaggct ggcgtccat ccagacatcc agaaccaga gccagccgtg	360
taccagtga aggaccctag gagccaggac tctaccctc gcctgttcac cgacttcgac	420
agccagatca acgtgccaa gacaatggag agcggcacct tcatcaccga caagaccgtg	480
ctggacatga aggtatgga cagcaagagc aacggagcca tcgcttgag caaccagacc	540
agcttcactt gccaggacat ctcaaggag accaacgctt gctaccctc tagcgacgtg	600
ccttgcgac ccacactgac agagaagagc ttcgagaccg acatgaacct gaacttcag	660
aacctgagcg tgatgggct gagaatctg ctgctgaagg tggccggatt caacctgctg	720
atgacctga ggctgtggtc ttcc	744

<210> 44

<211> 858

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human/mouse

<400> 44

ggtgtggcac aatccccag gtacaagatc atcgagaaaa ggcagtcgt cgcgttttg	60
tgtaatcaa tatctggaca tgccacactt tactggtatc aacagatact gggtcagggg	120
ccgaagctgc ttatacagtt tcaaaacaat ggcgtggtcg atgacagtca gttcccaaa	180
gacagatctt ctgcagagag actgaagggg gtggatagta ccttgaaaat acaaccggcg	240
aaactcgaag acagtgtgt ctacctttgc gcttcctcac tcggattggc tggagaggac	300
acacaatact ttggtccagg aaccagactc acggttctgg aggacctacg taacgtgacc	360
cctccaagg tgtccctgtt cgagcctagc aaggccgaga tcgccaacaa gcagaaggcc	420
acactcgtct gcctggctag aggtctcttc ccagaccacg tggagctgtc ttggtgggtg	480

aacggcaagg aggtgcactc aggagtgtct accgaccctc aggcctacaa ggagagcaac 540

tacagctact gcctgtcctc cagactcagg gtctgcgcca ccttttggca caaccctcgg 600

aaccacttcc gctgtcaggt ccagttccac ggcctgtccg aggaagacaa gtggccagag 660

ggctctccta agccagtac acagaacatc agcgccgagg cttggggaag agccgattgc 720

ggaatcacca gcgcctctta ccagcaggga gtgctgtcag ctaccatcct gtacgagatc 780

ctgctgggca aggccacact gtacgcagtg ctggtgtcca ctctggtcgt gatggctatg 840

gtgaagcgga agaacagc 858

<210> 45

<211> 768

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human/mouse

<400> 45

caacagaaga atgacgatca acaagtaaag caaacagcc cctctcttcc agtacaagaa 60

ggacgcatct ctatacttaa ctgcgactat acaaatagca tgtttgacta cttcctgtgg 120

tacaaaaaat atccagcaga ggggtcccacc ttccttatca gcataagtag cattaaagac 180

aaaaatgaag acggtaggtt cacagtcttc ctcaataaaa gcgctaaaca tctctcactc 240

catattgtac cgtcccaacc tgggtgacagt gcggtatatt tttgcgcagc caaacttcct 300

caggcggctg ggaataaact gacgtttggc ggcgggacga gggctcctgtt aaaacccgac 360

atccagaatc cagagccagc cgtgtaccag ctgaaggacc ctaggagcca ggactctacc 420

ctctgcctgt tcaccgactt cgacagccag atcaacgtgc ccaagacaat ggagagcggc 480

accttcatca ccgacaagac cgtgctggac atgaaggcta tggacagcaa gagcaacgga 540

gccatcgctt ggagcaacca gaccagcttc acttgccagg acatcttcaa ggagaccaac 600

gcttgcctacc cctctagcga cgtgccttgc gacgccacac tgacagagaa gagcttcgag 660

accgacatga acctgaactt ccagaacctg agcgtgatgg gcctgagaat cctgctgctg 720

aaggtggccg gattcaacct gctgatgacc ctgaggctgt ggtcttcc 768

<210> 46

<211> 864

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA from human/mouse

<400> 46

atggttatcc aaaaccaag ataccaggtt acgcagttcg gcaagccagt aacactttca	60
tgtttcctaaa ccttgaatca caatgtcatg tactggtatc aacaaaagtc aagccaggcc	120
ccaaaacttc tctttcacta ttacgataaa gacttcaaca atgaggccga taccctcgac	180
aactttcaga gtaggaggcc caacacaagt ttttgtttct tggacatccg ctcacccgga	240
cttggcgatg cgccgatgta tctctgtgcg acatcaagta gtatagcggg ggatacgcg	300
aacaacgaac aattttttgg tcttgaacc aggccttacgg tatiggagga cctacgtaac	360
gtgacccttc ccaaggtgtc cctgttcgag cctagcaagg ccgagatcgc caacaagcag	420
aaggccacac tcgtctgcct ggctagaggc ttcttcccag accacgtgga gctgtcttgg	480
tgggtgaacg gcaaggaggt gcactcagga gtgtctaccg accctcaggc ctacaaggag	540
agcaactaca gctactgcct gtcttccaga ctcagggtct gcgccacctt ttggcacaac	600
cctcggaacc acttccgctg tcaggtccag ttccacggcc tgtccgagga agacaagtgg	660
ccagagggct ctctaagcc agtgacacag aacatcagcg ccgaggcttg gggaagagcc	720
gattgcggaa tcaccagcgc ctcttaccag caggagtgct tgtcagctac catcctgtac	780
gagatcctgc tgggcaaggc cacactgtac gcagtgtctgg tgtccactct ggtcgtgatg	840
gctatggtga agcggaagaa cagc	864