



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2021-0088559  
(43) 공개일자 2021년07월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C12Q 1/6886* (2018.01) *A61K 35/17* (2014.01)  
*A61K 39/00* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)  
*C07K 14/74* (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)  
*C07K 16/30* (2006.01) *C07K 16/32* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*C12Q 1/6886* (2018.05)  
*A61K 35/17* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7012816
- (22) 출원일자(국제) 2019년09월27일  
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년04월28일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2019/001108
- (87) 국제공개번호 WO 2020/065406  
 국제공개일자 2020년04월02일
- (30) 우선권주장  
 62/738,895 2018년09월28일 미국(US)  
 62/847,830 2019년05월14일 미국(US)

- (71) 출원인  
**임팩트-바이오 리미티드.**  
 이스라엘 7403635 네스-지오나 일란 라몬 스트리트 2
- (72) 발명자  
**그로스 기드온**  
 이스라엘 1292200 모샤브 알마고르 엠.피. 코라짐 III-1-5 어드레스  
**집슨 윌리엄 제이.**  
 이스라엘 7403635 네스-지오나 피.오. 박스 4044 일란 라몬 스트리트 2 임팩트-바이오 리미티드 내  
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
**유미특허법인**

전체 청구항 수 : 총 96 항

(54) 발명의 명칭 **암 요법에 사용하기 위한 활성화 항원 수용체 (aCAR)/저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 쌍의 식별 방법**

**(57) 요약**

본 발명은, i) iCAR 또는 pCAR 표적이 세포의 다형성 표적 에피토프를 겨냥하는, 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호성 키메라 항원 수용체 (pCAR), 및 ii) 단백질의 비-다형성 세포 표면 표적 에피토프를 겨냥하는, 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR)를 포함하는 표적 쌍을 식별하는 방법, 및 이들 쌍의 제조 방법과 암 치료에서의 이들 쌍의 용도를 제공한다.

(52) CPC특허분류

*A61K 39/0011* (2018.08)  
*A61P 35/00* (2018.01)  
*C07K 14/70539* (2013.01)  
*C07K 16/28* (2013.01)  
*C07K 16/2833* (2013.01)  
*C07K 16/2863* (2013.01)  
*C07K 16/3007* (2013.01)  
*C07K 16/32* (2013.01)  
*C12Q 2600/156* (2013.01)

(72) 발명자

**다하리 드비르**

이스라엘 7403635 네스-지오나 피.오. 박스 4044  
일란 라몬 스트리트 2 임팩트-바이오 리미티드 내

**베이만 메라브**

이스라엘 7403635 네스-지오나 피.오. 박스 4044  
일란 라몬 스트리트 2 임팩트-바이오 리미티드 내

**새기 야엘**

이스라엘 7403635 네스-지오나 피.오. 박스 4044  
일란 라몬 스트리트 2 임팩트-바이오 리미티드 내

**샤르비-윤게르 아디**

이스라엘 7403635 네스-지오나 피.오. 박스 4044  
일란 라몬 스트리트 2 임팩트-바이오 리미티드 내

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 단계를 포함하는, 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호성 키메라 항원 수용체 (pCAR)/활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR) 표적 쌍을 식별하는 방법:

i) 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 iCAR 또는 pCAR을 선택하는 단계로서, 상기 iCAR 또는 pCAR 표적이 도 22에 열거된 유전자 598종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 세포의 다형성 표적 에피토프 (target extracellular polymorphic epitope)에 대한 것인, 단계;

ii) 작동자 면역 세포의 활성화를 유도할 수 있는 aCAR을 선택하는 단계로서, 상기 aCAR이 도 23에 열거된 표적 단백질 49종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질의 비-다형성 세포 표면 표적 에피토프 (target non-polymorphic cell surface epitope)에 대한 것인, 단계;

iii) 단계 i)의 iCAR 또는 pCAR, 및 단계 ii)의 aCAR을 세포 집단에서 발현시키는 단계;

iv) 상기 세포 집단에 대해 하나 이상의 분석을 수행하는 단계로서, 상기 하나 이상의 분석이 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화를 검출하거나, 및/또는 작동자 면역 세포의 활성화 유도를 검출할 수 있는 것인, 단계; 및

v) 단계 iv)의 분석 결과를 토대로, CAR 또는 pCAR/aCAR 표적 쌍을 식별하는 단계.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화를 검출하거나 및/또는 작동자 면역 세포의 활성화 유도를 검출할 수 있는 하나 이상의 분석이 카스파제 분석 (카스파제-3 포함), 아넥신 v-PI 염색 분석, CD107 분석 및 세포측정 비드 어레이 (CBA) 분석 (IFN  $\gamma$ , IL-2 및/또는 TNF  $\alpha$  측정 포함)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 표적 유전자가 이형접합성 소실 (loss of heterozygosity, LOH)을 나타내는 염색체 영역에 위치하고, 상기 LOH 위치가 치환, 결손 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는

상기 표적 유전자가 발현의 완전 소실을 나타내는 염색체 영역에 위치하고, 상기 발현의 완전 소실이 치환, 결손 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되는 돌연변이로 인한 것인, 방법.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 LOH 위치가 SNP인, 방법.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA 유전자인, 방법.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 유전자인, 방법.

**청구항 7**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-A 유전자인, 방법.

**청구항 8**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-B 유전자인, 방법.

**청구항 9**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-C 유전자인, 방법.

**청구항 10**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-G 유전자인, 방법.

**청구항 11**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-E 유전자인, 방법.

**청구항 12**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-F 유전자인, 방법.

**청구항 13**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-DPA1 유전자인, 방법.

**청구항 14**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-DQA1 유전자인, 방법.

**청구항 15**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-DQB1 유전자인, 방법.

**청구항 16**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-DQB2 유전자인, 방법.

**청구항 17**

제6항에 있어서,  
상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-DRB1 유전자인, 방법.

**청구항 18**

제6항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 HLA-DRB5 유전자인, 방법.

**청구항 19**

제6항에 있어서,

제1항의 iCAR 또는 pCAR이 본 발명과 함께 제출된 긴 표에 제공된 세트로서 쌍을 형성하는, 방법.

**청구항 20**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAMP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 21**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO 및 TRABD2A로 이루어진 군 으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 22**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1 및 ZPLD1으로 이루어진 군 으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 23**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFR1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F,

UGT2A1 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 24**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLC06A1, SV2C, TENM2, TIMD4 및 UGT3A1으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 25**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 26**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 27**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLC05A1, TNFRSF10A 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 28**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 29**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23,

CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 30**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18 및 ZP1으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 31**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO1B7, SLCO1C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8 및 VSIG10으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 32**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGGC, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6 및 TNFRSF19으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 33**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 34**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRNB4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSDM4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 35**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 36**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRNB1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 37**

제5항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 38**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR111, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFB3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 39**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 40**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2 및 UMODL1으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 41**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 42**

제1항에 있어서,

상기 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자가 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 43**

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 종양이 유방 종양, 전립선 종양, 난소 종양, 자궁경부 종양, 피부 종양, 췌장 종양, 결장직장 종양, 신장 종양, 간 종양, 뇌 종양, 림프종, 백혈병, 폐 종양 및 신경교종으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 44**

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 종양이 부신 종양, 신장 종양, 흑색종, DLBC, 유방 종양, 육종, 난소 종양, 폐 종양, 방광 종양 및 간 종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 45**

제44항에 있어서,

상기 부신 종양이 부신피질 암종인, 방법.

**청구항 46**

제44항에 있어서,

상기 신장 종양이 혐색소성 신장 세포 암종 (chromophobe renal cell carcinoma)인, 방법.

**청구항 47**

제44항에 있어서,

상기 흑색종이 포도막 흑색종인, 방법.

**청구항 48**

(i) 제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 따른 iCAR 또는 pCAR; 및

(ii) 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR)를 발현하는,

안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 49**

제48항에 있어서,

상기 aCAR이 종양-관련 항원 또는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 50**

제48항에 있어서,

상기 aCAR이 종양 관련 단백질, 표 1에 열거된 CAR 표적, iCAR도 발현되는 종양 세포에서 발현되는 임의의 세포

표면 단백질을 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 51**

제50항에 있어서,

상기 비-다형성 세포 표면 에피토프가 CD19, CD20, CD22, CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Ig $\kappa$ , ROR1, ROR2, CD30, LewisY, CD33, CD34, CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2, GD3, hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR- $\alpha$ , L1-CAM, ErbB2,3,4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13R $\alpha$ 2, FAP, 메소텔린, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGE-A1, MUC1 MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80, CD89, CDH17, CLD18, GPC3, TEM8, TGFB1, NY-ESO-1, WT-1 및 EGFR로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 52**

제50항에 있어서,

상기 비-다형성 세포 표면 에피토프가 5T4, AFP, AXL, B7H6, CD133, CD19, CD20, CD22, CD30, CD44v6, CD5, CD7, CD70, CD80, CD89, CDH17, CEA, CLD18, CLEC14a, CLL-1, cMet, CS1, EGFR, EGFRvIII, EpCAM, NY-ESO-1, FAP, FHSR, GP100, GPC3, HER2, IL-13R $\alpha$ 1, IL-13R $\alpha$ 2, K-Ras, 메소텔린, MUC1, MUC-CD, NKG2D 리간드, NKG2D 리간드, PDL1, PSCA, PSMA, ROR1, ROR-2, 서비빈, TEM8, TGF, VEGFR2 및 ALK로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 53**

제48항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포가 자가 또는 유니버설 (동종이계) 작동자 세포인, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 54**

제48항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포가 T 세포, 자연 살상 세포 및 사이토카인-유도성 살상 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 55**

제48항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR의 발현 수준이 상기 aCAR의 발현 수준보다 높거나 또는 상기 aCAR의 발현 수준과 동등한, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 56**

제48항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR이 제1 벡터에 의해 발현되고, 상기 aCAR이 제2 벡터에 의해 발현되는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 57**

제48항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR과 상기 aCAR이 둘다 동일한 벡터에 의해 발현되는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 58**

제57항에 있어서,

상기 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 상기 iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 59**

제57항에 있어서,

상기 뉴클레오티드 서열이 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자기-절단 2A 펩타이드를 포함하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 60**

제59항에 있어서,

상기 바이러스성 자기-절단 2A 펩타이드가 토세아 아시그나 바이러스 (TaV) 유래 T2A, 구제역 바이러스 (FMDV) 유래 F2A, 에퀸 리니티스 A 바이러스 (ERAV) 유래 E2A 및 돼지 테스코바이러스-1 (PTV1) 유래 P2A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 61**

제57항에 있어서,

상기 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 유연한 링커를 경유하여 iCAR 또는 pCAR과 연결되는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 62**

제48항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 aCAR이 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 63**

제62항에 있어서,

상기 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자가 예를 들어 CD3 $\zeta$  또는 FcR $\gamma$  체계의 면역수용체 티로신-계 활성화 모티프 (ITAM)와 상동적인 것인, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 64**

제62항에 있어서,

상기 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자가 KIR2DS 및 KIR3DS와 같은 활성화 살상 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR)과 상동적인 것인, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 65**

제62항에서,

상기 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자가 DAP12과 같은 어댑터 분자와 상동적인 것인, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 66**

제62항에서,

상기 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자가 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40) 또는 GITR의 공동-자극성 신호 전이 인자와 상동적인 것인, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 67**

제48항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR이 세포의 다형성 표적 에피토프를 겨냥하고, 상기 세포의 다형성 표적 에피토프가 HLA인,

안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 68**

제48항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 aCAR이 종양-관련 항원 또는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하고, 상기 종양-관련 항원 또는 비-다형성 세포 표면 에피토프가 EGFR, HER2, 메소텔린 및 CEA로 이루어진 군으로부터 선택되는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 69**

제48항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고,

상기 aCAR은 EGFR, HER2, 메소텔린 및/또는 CEA를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 70**

제48항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고,

상기 aCAR은 EGFR을 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 71**

제48항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고,

상기 aCAR은 HER2를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 72**

제48항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고,

상기 aCAR은 메소텔린을 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 73**

제48항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고,

상기 aCAR은 CEA를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 74**

제67항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포에 의해 표적이 되는 종양/암이 췌장암 또는 폐암이거나, 또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포인, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 75**

제48항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포가 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호

34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 76**

제48항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포가 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 77**

제48항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하며,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 78**

제48항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하고,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하되 이 핵산 서열이 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 79**

제48항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하고,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열이 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 80**

제48항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하고,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열이 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 81**

제48항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 둘다 코딩하는, 안전한 작동자 면역 세포.

**청구항 82**

제1항 내지 제79항 중 어느 한 항에 따른 iCAR 및 aCAR을 발현하는 안전한 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자를 치료하는 방법.

**청구항 83**

제1항 내지 제79항 중 어느 한 항에 따른 안전한 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 유전자 또는 세포의 다형성 표적 에피토프 유전자의 발현의 완전 소실을 발생시키는 유전자 돌연변이를 특징으로 하는 종양을 가진 환자를 치료하는 방법.

**청구항 84**

iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하며,

서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는,

핵산 서열.

**청구항 85**

aCAR 또는 이의 일부를 코딩하며,

서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는,

핵산 서열.

**청구항 86**

하기 1) 및 2)를 코딩하는 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물:

1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부로서, 이의 핵산 서열이 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부; 및

2) aCAR 또는 이의 일부로서, 이의 핵산 서열이 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, aCAR 또는 이의 일부.

**청구항 87**

iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물로서,

상기 핵산 서열이 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는, 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물.

**청구항 88**

aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물로서,

상기 핵산 서열이 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는, 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물.

**청구항 89**

하기 1) 및 2)를 포함하는, 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물:

- 1) 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열이되, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열; 및
- 2) 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열이되, 이 핵산 서열이 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열.

**청구항 90**

하기 1) 및 2)를 포함하는, 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물:

- 1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열이되, 이의 핵산 서열이 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, 핵산 서열; 및
- 2) 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열이되, 이 핵산 서열이 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 것인, 핵산 서열.

**청구항 91**

하기 1) 및 2)를 포함하는, 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물:

- 1) 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열이되, 이 핵산 서열이 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는, 핵산 서열; 및
- 2) aCAR 또는 이의 일부로서, 이의 핵산 서열이 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, aCAR 또는 이의 일부.

**청구항 92**

iCAR 및 aCAR을 코딩하며,

서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, 핵산 서열.

**청구항 93**

제84항 내지 제92항 중 어느 한 항에 따른 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물을 포함하는, 벡터.

**청구항 94**

- 1) 제84항 또는 제87항에 따른 핵산을 포함하는 제1 발현 벡터, 및
  - 2) 제85항 또는 제88항에 따른 핵산을 포함하는 제2 발현 벡터
- 를 포함하는 벡터 조성물.

**청구항 95**

제84항 내지 제92항 중 어느 한 항에 따른 핵산 또는 핵산 서열 조성물을 포함하는 안전한 작동자 세포.

**청구항 96**

제93항 또는 제94항에 따른 벡터 또는 벡터 조성물을 포함하는 안전한 작동자 세포.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] **관련 출원에 대한 교차 참조**

[0002] 본 출원은 2018년 9월 28일자 미국 가출원번호 62/738,895, 2019년 5월 14일자 미국 가출원번호 62/847,830에 대해 우선권을 주장하며, 이들 각각은 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

[0003] **ASCII 표**

[0004] 본 특허 출원에는 긴 표가 수록되어 있다. 표의 카피는 2019년 9월 27일자 미국 특허 출원번호 16/586,730 및 우선권을 주장하는 가출원과 동시에 제출되었다. 2018년 9월 28일에 생성된 ASCII 표는 다음과 같다: (1) 120575-5004-PR aCAR\_iCAR\_pairs\_6\_27\_18 Part 1.txt, 66,627,779 bytes, (2) 120575-5004-PR aCAR\_iCAR\_pairs\_6\_27\_18 Part 2.txt, 99,298,408 bytes, (3) 120575-5004-PR candGenes598\_AF10\_LOH20.txt, 9,310 bytes, (4) 120575-5004-PR extCell1AFnLOH1306.txt, 94,814 bytes, (5) 120575-5004-PR onlyExtCell1167genes\_no filter.txt, 18,122 bytes, (6) 120575-5004-PR onlyExtCell13288\_no filter.txt, 388,102 bytes.

[0005] **발명의 기술 분야**

[0006] 본 발명은, 종양 세포의 표면 상에 발현된 항원을 인지하는 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR), 정상 세포에 의해 발현되지만 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양에 의해서는 발현되지 않는 동일하거나 또는 다른 세포 표면 항원들의 대립유전자 변이체를 겨냥하는, 저해성 CAR (iCAR) 및 보호성 CAR (pCAR)을 이용한, 입양 세포 전달에 의한 암 면역요법 분야에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0007] 종양 세포에 의해서만 발현되고 건강한 조직에 의해서는 발현되지 않는 표적가능한 항원을 식별하는 것은 오늘날 암 면역분야에서 의심의 여지가 없는 중대한 도전 과제이다. T 세포가 종양 세포를 제거할 수 있다는 임상적인 증거는 암을 치료하기 위해 T 세포를 이용하는 매우 다양한 방식들을 평가하는 수많은 연구들로부터 도출되었다 (Rosenberg and Restifo, 2015). 이러한 방식은 공여 림프구 주입을 이용한 골수 이식, 종양-침윤성 림프구 (TIL)의 입양 전달, CAR을 통한 사전-선택된 항원을 유전자적으로 다시 겨냥하는 T 세포 (Gross and Eshhar, 2016a) 또는 T 세포 수용체 (TCR)를 이용한 치료, 면역 체크포인트 저해제의 사용 또는 능동 백신 접종을 이용한다. 이중, 유전자 조작된 T 세포 및 여러가지 능동 면역화 전략의 사용은, 항구적인 임상 반응을 발휘하면서도 부작용을 최소화할 가능성이 있는 후보 항원에 대한 기존 정보들을 수반한다. 그러나, S. Rosenberg의 최근 리뷰 제목에 언급된 바와 같이, "적합한 표적을 찾는 것이 암 유전자 요법의 주요 장애물이다" (Rosenberg, 2014).

[0008] MHC-독립적인 방식으로 선택 항원에 대해 T 세포 (또는 자연 살상 (NK) 세포 및 사이토카인-유도된 살상 세포와 같은 면역 시스템의 기타 살상 세포)를 유전자적으로 다시 겨냥하도록 키메라 항원 수용체 (또는 CAR)를 이용하는 개념은 1980년대 후반에 Gross 및 Eshhar (Gross et al., 1989)에 의해 최초로 도입되었다. 이는, T 세포 활성화할 수 있는 CD3- $\zeta$  또는 FcR $\gamma$  외에 면역수용체 티로신-계 활성화 모티프를 포함하는 신호전달 요소에 유연한 힌지와 막관통 표준 모티프를 경유하여 융합된 세포의 단쇄 항체 가변성 단편 (scFv)을 코딩하는 키메라 유전자들로부터 합성에 의해 제조되었다. 현재, CAR은 수십 가지의 임상 실험에서 조사 중에 있으며, 지금까지 B 세포 악성에서 예외적으로 높은 효능이 입증되었다 (Dotti et al., 2014; Gill and June, 2015; Gross and Eshhar, 2016a). CAR-T 세포 요법의 안전성은 대체로 종양 조직과 건강한 조직을 식별하는 능력에 좌우된다. 임상 및 전임상 실험에서 보고된 유해한 자가면역 효과의 직접적인 요인과 주된 위험은 표적 항원의 종양외 발현으로 기인한 오프-종양, 온-표적 독성 (off-tumor, on-target toxicity)이다 (상세한 내용은 최근 리뷰에서 논의됨 (Gross and Eshhar, 2016b) 및 (Klebanoff et al., 2016)). 이러한 위험과 관련하여, 현재 CAR 요법에서 임상 또는 전임상 실험된 공유된 비-돌연변이 세포 표면 항원들은, 일반적으로 이의 조직 분포 및 발현 방식에 따라 여러가지 범주로 나눌 수 있다:

[0009] - 엄격하게 종양-특이적인 항원. 아마도, 이미 임상적으로 실험 중인 이 그룹에 속하는 유일한 구성원은 교모세포종에서 빈번하게 과다발현되고 또한 비-소 세포성 폐암, 전립선암, 유방암, 두경부암 및 난소암에서 발현되지

만 정상 조직에서는 발현되지 않는 상피 성장 인자 수용체 (EGFRvIII)의 변이체 III이다.

- [0010] - 종양 및 건강한 비-주요 조직 상에 발현되는 표면 항원. 이 그룹에 속하는 잠재적인 CAR 항원은 B 세포 계통으로 주로 한정된 분화-관련 분자이다. 이들 (및 다수의 임상 시험에서의 표적 항원) 중에서도, B 세포 분화시 매우 초기에 획득되는 범-B 세포 마커인 CD19가 두드러지며, 이것은 B 세포 수용체 (BCR)에 의한 신호 전이에 참여한다. 막 전립선 항원은 이 범주에서 다른 유형의 항원을 구성한다.
- [0011] - 비-악성 종양-촉진 세포에 의해 전형적으로 발현되는 항원. 이러한 항원 중 하나는 섬유모세포 활성화 단백질 (FAP)이며, 이것은 다양한 원발성 암 및 전이 암에서 종양-관련 섬유모세포에 의해 거의 항상 발현되는 세포 표면 세린 프로테아제이다. 또 다른 항원은, 다수의 주요 장기에서 혈관 및 림프 내피 세포 상에서 정상적으로 발현되고 종양 혈관신생시 고도로 발현되는, 혈관 내피 성장인자 (VEGF)이다.
- [0012] - 건강한 주요 조직들과 공유된 종양 관련 항원 (TAA).
- [0013] 현재 전임상 및 임상 실험에서 평가한 대부분의 기타 TAA들은 종양에 의해 과다 발현되지만, 또한 필수 정상 조직 상에서도 일반적으로 더 낮은 수준으로 존재한다.
- [0014] CAR T 세포 요법에서 자가면역을 다루기 위해 고안된 광범위한 전략들은 손상이 명확해지면 전달된 T 세포를 제거 또는 억제하고자 하는 전략 (반응적 조치)과, 먼저 잠재적인 손상을 방지하는 것을 목표로 한 전략 (사전 조치)으로 나눌 수 있다 (Gross and Eshhar, 2016a). 반응적 방식은 흔히 자살 유전자, 예를 들어, 헤르페스 심플렉스 바이러스 티미딘 키나제 (HSV-tk) 및 iC9, 즉 절단된 인간 카스파제 9 및 돌연변이된 FK506-결합 단백질을 포함하는 융합 폴리펩타이드를 이용한다. 그외 방식은 항체를 이용해 혼란을 야기하는 조작된 세포를 선택적으로 제거하거나, 또는 현재 입증된 바와 같이, CAR 인지 모이어티가 세포내 신호전달 도메인에 커플링하는 것을 통제하는 이중이량화 소분자 물질을 이용한다 (Wu et al., 2015). 일부 사전 조치는 CAR T 세포의 생체내 지속성 또는 기능을 제한하도록 설계되지만 (예, 유전자 전달시 mRNA 전기천공 이용), 그외 조치들은 비-종양 조직이 손상되는 것을 피하기 위해 치료학적 CAR의 항원 선택성을 높이는 중요한 과제를 직접적으로 다룬다. CAR T 세포에 의해 안전하게 표적화할 수 있는 종양 항원의 범위를 잠재적으로 넓일 수 있어, 이러한 2가지 조치가 특히 관심을 끈다:
- [0015] - 조합 (또는 '분할된') 항원 인지. 진정한 종양-특이적인 표면 항원은 드물지만, 소정의 종양에 의해 공동 발현되는 종양-관련 항원으로 반드시 분류되는 것은 아닌 항원 2종으로 구성된 조합은 새로운 종양-특이적인 시그니처를 정의할 수 있다. 이러한 항원 쌍으로 CAR T 세포의 활성을 제한해 중요한 안전 기준을 제공하고, 따라서 종양-특이적인 표적 범위를 연장하여, 실질적으로 치료학적으로 유용할 수 있다. 2세대 및 3세대 CAR은 CAR 엔도도메인에서 2 이상의 신호절단 부위들을 묶음으로써 단일 항원과 결합시 활성화 및 공동-자극 신호를 치료학적 T 세포에 제공하도록 설계되었다. 그러나, 활성화 및 공동-자극이 동일한 T 세포에서 서로 다른 항원에 대해 각각 특이적인 2개의 CAR들로 분할된다면, 완전한 촉발에는 2가지 항원이 모두 존재하는 경우에만 달성될 수 있는 2개의 상보적인 신호의 협력이 필요할 것이다. 이러한 원리는 몇가지 전임상 시험들에서 입증되었다 (Kloss et al., 2013; Lanitis et al., 2013; Wilkie et al., 2012; WO 2016/126608).
- [0016] 의심할 여지 없이 흥미롭지만, 이러한 방식은 오직 유효한 온-표적, 온-종양 T 세포 반응성만 허용하는 최적의 균형에 도달하기 위해 활성화 신호와 공동-자극 신호 둘 모두 강도를 세심하게 적정해야 할 필요성에 여전히 직면해있다. 이러한 균형을 임상 환경에서 일상적으로 달성할 수 있는지는 여전히 의문이다.
- [0017] T 세포 반응을 항원 2종으로 된 고유한 조합을 발현하는 표적 세포로만 제한하는 완전히 새로운 방식이 최근 발표되었다 (Roybal et al., 2016a). 이의 핵심 요소는 Notch 등의 수종의 세포 표면 수용체의 작동 방식을 이용하는 '유전자 스위치'로서 기능한다. 이들 수용체에 리간드가 결합한 후, 이중 절단이 진행되어, 세포내 도메인은 해리되고, 이로써 세포 핵으로 이동해 전사 인자로서 기능한다. 이러한 원리의 이행은 작동자 T 세포에 유전자 2종을 공동-도입하는 것을 수반한다. 제1 유전자는 구성적으로 발현되며, 제1 항원을 겨냥하는 인지 모이어티가 탑재된 절단가능한 키메라 수용체를 코딩한다. 이것이 표적 세포의 표면에서 항원에 결합되면, 제2 항원을 겨냥하는 통상적인 CAR을 코딩하는 제2 유전자의 발현이 진행되게 될 것이다. 표적 세포는 이 제2 항원을 물론 공동 발현하는 경우에만 사멸될 것이다.
- [0018] 저해성 CAR. CAR-재겨냥된 살상 세포의 표적 항원이 정상 조직과 공유하는 경우, 오프-종양 반응이 발생한다. 이러한 정상 조직이 종양 상에는 없는 다른 표면 항원을 발현한다면, 유전자-변형된 세포에서 저해성 신호전달 모이어티를 보유한 비-공유 항원을 표적으로 하는 부가적인 CAR을 공동 발현시킴으로써, 정상 조직에 의한 T 세포 활성화를 방지할 수 있다.

- [0019] 활성화 도메인 (예, FcRγ 또는 CD3-ζ) 대신, iCAR은 CTLA-4, PD-1 또는 NK 저해성 수용체와 같이, T 세포 활성화에 길항 작용을 수행할 수 있는 저해성 수용체로부터 유래된 신호전달 도메인을 가지고 있다. 종양과 후보 aCAR 항원을 공유한 정상 조직이 종양과 공유되지 않는 다른 표면 항원을 발현하는 경우, 동일한 T 세포에 의해 발현되는 이러한 비-공유 항원을 표적으로 하는 iCAR은 정상 조직을 보호할 수 있다 (도 1).
- [0020] NK 세포는, 체세포에서 재정렬된 유전자 세그먼트에 의해 코딩되는 독특한 2-쇄 TCR을 각각 발현하는 T 세포와는 다르게, 항원-특이적인 수용체를 발현하지 않는다. 대신, NK 세포는 감염 세포 및 건강한 세포의 세포 표면에서 활성화 및 저해성 리간드 수개를 각각 인지하는 다수의 생식 계열-코딩된 활성화 및 저해성 수용체들을 발현한다. KIR3DL1과 같은 NK 저해성 수용체에 기반한 iCAR의 보호 능력은 개시된 바 있다 (US 9,745,368). KIR3DL1 및 기타 NK 저해성 수용체는 신속하고 포괄적인 방식으로 면역 시냅스를 해체시킴으로써 작동한다. 단일 NK 세포가 저해 리간드 및 활성화 리간드 둘다를 발현하는 저항성 세포는 보존하면서 동시에 결합하여 활성화 리간드만 발현하는 감수성 세포를 사멸시킬 수 있다는 확실한 증거가 존재한다 (Abeyweera et al., 2011; Eriksson et al., 1999; Treanor et al., 2006; Vyas et al., 2001). 이러한 정교한 능력은 결과적으로 세포용해 과립의 세포의 배출에 영향을 미치는 각각의 면역 시냅스에서 형성되는 신호 전이 분자들의 다양한 공간적인 구성에 의해 좌우된다 (리뷰로 Huse et al., 2013을 참조함). 최근 들어, Fedorov 등 (Fedorov et al., 2013a; WO 2015/142314)은 이러한 목적으로 PD-1 및 CTLA-4의 세포내 도메인을 성공적으로 이용하였다. 이들 iCAR의 조절 효과는, NK 저해성 수용체와는 다르게, 전체 세포에 영향을 미친다. 그러나, 이러한 효과는 일시적이어서, 이후 aCAR 항원만 발현하는 표적 세포와 접촉하였을 때 T 세포의 완전한 활성화가 허용되었다.
- [0021] iCAR 및 aCAR의 표적 항원의 조직 분포는 임상 효능의 저하없이 최대 안전성을 부여하는데 필수적인 최적의 iCAR 작동 방식을 좌우한다. 예를 들어, 보호할 정상 조직(들)과 종양의 해부학적 부위가 교차하지 않는다면, 일시적인 저해 (CTLA-4-유사 또는 PD-1-유사)로도 충분할 것이다. 그러나, 이들 부위가 겹친다면, 시냅스-제한된 저해 (예, NK 작동 방식)만 치료학적 세포의 지속적인 마비를 방지하여, 효과적인 종양살상 활성을 허용할 것이다. 온-표적 오프-종양 반응성 (on-target off-tumor reactivity)을 줄이기 위해 iCAR을 이용하는 방식은 종양 세포에서는 하향 조절되지만 정상 조직 상에 존재하는 항원의 심각한 부족에 시달리고 있다.
- [0022] 차세대 서열분석 (NGS)으로 소정의 종양 생검에서 모든 단백질-코딩 유전자 (전체 게놈의 ~1%)의 DNA 서열을 결정할 수 있으며, 암 '진유전체'를 동일 환자의 건강한 조직 (통상적으로 백혈구 세포 유래 샘플)과 비교할 수 있다. 진유전체 서열분석은 생검 채취 후 수일 이내에 비교적 저렴한 비용으로 완료할 수 있다. 동시에, 트랜스크립톰 분석 (RNA-seq)은 동일한 세포 샘플에 의해 실제 발현되는 유전자들에 대한 보완적인 정보를 제공할 수 있다.
- [0023] 각각의 개별 종양의 돌연변이 방식이 독특하다는 사실이 점차 명백해지고 있다 (Lawrence et al., 2013; Vogelstein et al., 2013). 비-동의 돌연변이 (nonsynonymous mutation)의 결과로서, 종양 세포는 환자의 면역 시스템에 전용 네오펩타이드 세트를 하나 이상의 HLA 산물 상에 잠재적으로 제시할 수 있다. 실제, 최근 수년간, 환자 자신의 CD8 또는 CD4 T 세포 레퍼토리에 의해 인지될 수 있으며 면역요법의 표적으로 사용될 수 있는 종양-특이적인 네오에피토프를 동정하는데 막대한 노력이 투입되고 있다 (리뷰로서 Blankenstein et al., 2015; Van Buuren et al., 2014; Heemskerk et al., 2013; Overwijk et al., 2013; Schumacher and Schreiber, 2015를 참조함). 그러나, 누적된 발견 결과들은, 신생항원-기반의 T 세포 면역요법이 흑색종 및 폐암과 같이 돌연변이 부하가 높은 암에서 효과적일 가능성이 더 높긴 하지만, 돌연변이가 적은 대부분의 암에는 종종 효과적이지 않을 수 있음 시사해준다 (Savage, 2014; Schumacher and Schreiber, 2015). 아울러, 상당한 종양내 이질성 (intratumoral heterogeneity)(Burrell et al., 2013)으로, 돌연변이-소실 변이체 (mutation-loss variant)의 출현을 피하기 위해 수종의 항원에 대한 동시적인 공동-표적화가 필요하며, 이러한 과제는 유용한 면역원성 네오펩타이드의 부족으로 인해 이에 대한 요구가 점점 증가하고 있다.
- [0024] 대체적으로, 유전자 재겨냥된 살상 세포의 입양 전달을 통해 암 면역요법에 적합한 표적을 동정하고자 하는 시급한 요구는 여전히 대부분 충족되지 못하고 있다.

**발명의 내용**

- [0025] 본 발명은, 하기를 포함하는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호성 키메라 항원 수용체 (pCAR)/활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR) 표적 쌍을 식별하는 방법을 제공한다:
- [0026] i) 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 iCAR 또는 pCAR을 선택하는 단계로서, iCAR 또는 pCAR 표적이 도 22에 열거된 유전자 598종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는

세포의 다형성 표적 에피토프에 대한 것인, 단계;

- [0027] ii) 작동자 면역 세포의 활성화를 유도할 수 있는 aCAR을 선택하는 단계로서, aCAR이 도 23에 열거된 표적 단백질 49개로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질의 비-다형성 세포 표면 표적 에피토프에 대한 것인, 단계;
- [0028] iii) 단계 i)의 iCAR 또는 pCAR 및 단계 ii)의 aCAR을 세포 집단에서 발현시키는 단계;
- [0029] iv) 세포 집단에 대해, 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화의 방지 또는 약화를 검출하거나 및/또는 작동자 면역 세포의 활성화 유도를 검출할 수 있는, 하나 이상의 분석을 수행하는 단계; 및
- [0030] v) 단계 iv)의 분석 결과에 기반하여, iCAR 또는 pCAR/aCAR 표적 쌍을 식별하는 단계.
- [0031] 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화의 방지 또는 약화를 검출할 수 있거나 및/또는 작동자 면역 세포의 활성화 유도를 검출할 수 있는 하나 이상의 분석은, 카스파제 분석 (카스파제-3 포함), 아넥신-PI 염색 분석, CD107 분석 및 세포측정 비드 어레이 (Cytometric Bead Array, CBA) 분석 (IFN $\gamma$ , IL-2 및/또는 TNF $\alpha$  측정 포함)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0032] 일부 구현예에서, 표적 유전자는 이형접합성 소실 (LOH)이 나타난 염색체 영역에 위치하되 LOH 위치는 치환, 결손 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는 표적 유전자는 발현의 완전한 소실이 나타난 염색체 영역에 위치하되 발현의 완전한 소실은 치환, 결손 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택되는 돌연변이로 인한 것이다.
- [0033] 일부 구현예에서, LOH 위치는 SNP이다.
- [0034] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA 유전자이다.
- [0035] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 유전자이다.
- [0036] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-A 유전자이다.
- [0037] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-B 유전자이다.
- [0038] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-C 유전자이다.
- [0039] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-G 유전자이다.
- [0040] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-E 유전자이다.
- [0041] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-F 유전자이다.
- [0042] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-DPA1 유전자이다.
- [0043] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-DQA1 유전자이다.
- [0044] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-DQB1 유전자이다.
- [0045] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-DQB2 유전자이다.
- [0046] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-DRB1 유전자이다.
- [0047] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-DRB5 유전자이다.
- [0048] 일부 구현예에서, 청구항 제1항의 iCAR 또는 pCAR은 본원에 제출된 긴 표에 열거된 바와 같이 세트로서 쌍으로 구성된다.
- [0049] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, Clorf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRN2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4,

OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0050] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0051] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSP5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1 및 ZPLD1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0052] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSB8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0053] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLC06A1, SV2C, TENM2, TIMD4 및 UGT3A1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0054] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0055] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0056] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLC05A1, TNFRSF10A 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0057] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1,

OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0058] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0059] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLC02B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18 및 ZP1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0060] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLC01A2, SLC01B1, SLC01B7, SLC01C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8 및 VSIG10으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0061] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6 및 TNFRSF19으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0062] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4 및 SYNDIGIL로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0063] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRN4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0064] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0065] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRN1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0066] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0067] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR111, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFB3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0068] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0069] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2 및 UMODL1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0070] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0071] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0072] 일부 구현예에서, 종양은 유방 종양, 전립선 종양, 난소 종양, 자궁경부 종양, 피부 종양, 췌장 종양, 결장직장 종양, 신장 종양, 간 종양, 뇌 종양, 림프종, 백혈병, 폐 종양 및 신경교종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0073] 일부 구현예에서, 종양은 부신 종양, 신장 종양, 흑색종, DLBC, 유방 종양, 육종, 난소 종양, 폐 종양, 방광 종양 및 간 종양으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0074] 일부 구현예에서, 부신 종양은 부신피질 암종이다.
- [0075] 일부 구현예에서, 신장 종양은 헴색소성 신장 세포 암종 (비염색성 세포 renal cell carcinoma)이다.
- [0076] 일부 구현예에서, 흑색종은 포도막 흑색종이다.
- [0077] 또한, 본 발명은 (i) 본원에 기술된 바와 같은 iCAR 또는 pCAR, 및 (ii) 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR)를 발현하는 안전한 작동자 면역 세포 (safe effector immune cell)를 제공한다.
- [0078] 일부 구현예에서, aCAR은 종양-관련 항원 또는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0079] 일부 구현예에서, aCAR은 종양 관련 단백질, 표 1에 열거된 CAR 표적, iCAR이 또한 발현되는 종양 조직에서 발현되는 임의의 세포 표면 단백질을 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0080] 일부 구현예에서, 비-다형성 세포 표면 에피토프는 CD19, CD20, CD22, CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Ig  $\kappa$ , ROR1, ROR2, CD30, LewisY, CD33, CD34, CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2, GD3, hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR- $\alpha$ , L1-CAM, ErbB2,3,4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13R  $\alpha$ 2, FAP, 메소텔린, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGE-A1, MUC1 MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80, CD89, CDH17, CLD18, GPC3, TEM8, TGFB1, NY-ESO-1, WT-1 및 EGFR로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0081] 일부 구현예에서, 비-다형성 세포 표면 에피토프는 5T4, AFP, AXL, B7H6, CD133, CD19, CD20, CD22, CD30, CD44v6, CD5, CD7, CD70, CD80, CD89, CDH17, CEA, CLD18, CLEC14a, CLL-1, cMet, CS1, EGFR, EGFRvIII,

EpCAM, NY-ESO-1, FAP, FHSR, GP100, GPC3, HER2, IL-13R<sub>1</sub>, IL-13R<sub>2</sub>, K-Ras, 메소텔린, MUC1, MUC-CD, NKG2D 리간드, NKG2D<sub>2</sub> 리간드, PDL1, PSCA, PSMA, ROR1, ROR-2, 서비빈, TEM8, TGF, VEGFR2 및 ALK로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0082] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 자가 또는 유니버설 (동종이계) 작동자 세포이다.
- [0083] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 T 세포, 자연 살상 세포 및 사이토카인-유도성 살상 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0084] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR의 발현 수준은 aCAR의 발현 수준 보다 높거나 또는 동일하다.
- [0085] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 벡터에 의해 발현되고, aCAR은 제2 벡터에 의해 발현된다.
- [0086] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 둘다 동일한 벡터에 의해 발현된다.
- [0087] 일부 구현예에서, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치한다.
- [0088] 일부 구현예에서, 뉴클레오티드 서열은 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자기-절단 2A 펩타이드를 포함한다.
- [0089] 일부 구현예에서, 바이러스성 자기-절단 2A 펩타이드는 토세아 아시그나 (*Thosea asigna*) 바이러스 (TaV) 유래 T2A, 구제역 바이러스 (FMDV) 유래 F2A, 에퀴 리니티스 (*Equine rhinitis*) A 바이러스 (ERAV) 유래 E2A 및 돼지 테스코바이러스-1 (*Porcine teschovirus-1*, PTV1) 유래 P2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0090] 일부 구현예에서, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 유연한 링커를 통해 iCAR 또는 pCAR과 연결된다.
- [0091] 일부 구현예에서, aCAR은 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함한다.
- [0092] 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자는, 예를 들어, CD3 $\zeta$  또는 FcR $\gamma$  쇄의 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM)와 상동성을 가진다.
- [0093] 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자는 KIR2DS 및 KIR3DS와 같은 활성화 살상 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR)와 상동성을 가진다.
- [0094] 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자는 DAP12과 같은 어댑터 분자와 상동적이다.
- [0095] 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자는 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40) 또는 GITR과 같은 공동-자극성 신호 전이 인자와 상동성을 가진다.
- [0096] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 세포외 다형성 표적 에피토프를 겨냥하며, 세포외 다형성 표적 에피토프는 HLA이다.
- [0097] 일부 구현예에서, aCAR은 종양-관련 항원 또는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하며, 종양-관련 항원 또는 비-다형성 세포 표면 에피토프는 EGFR, HER2, 메소텔린 및 CEA로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0098] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고, aCAR은 EGFR, HER2, 메소텔린 및/또는 CEA를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0099] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고, aCAR은 EGFR을 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0100] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고, aCAR은 HER2를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0101] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고, aCAR은 메소텔린을 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0102] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 HLA를 겨냥하고, aCAR은 CEA를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0103] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포에 의해 표적이 되는 종양/암은 체장암 또는 폐암이거나, 또는 체장

암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포이다.

- [0104] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하며, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩한다.
- [0105] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩한다.
- [0106] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하며 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하며; 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하며 이 핵산 서열은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩한다.
- [0107] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하며 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하며; 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하며 이 핵산 서열은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩한다.
- [0108] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29 및 서열번호 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하며 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하며; 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하며 이 핵산 서열은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩한다.
- [0109] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함하며 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하며; 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하며 이 핵산 서열은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩한다.
- [0110] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하며, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 둘다를 코딩한다.
- [0111] 또한, 본 발명은 청구항 제1항 내지 제88항 중 어느 한 항에 따른 iCAR 및 aCAR을 발현하는 안전한 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0112] 또한, 본 발명은 청구항 제1항 내지 제88항 중 어느 한 항에 따른 안전한 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 유전자 또는 세포의 다형성 표적 에피토프 유전자의 완전한 발현 소실을 일으키는 유전자 돌연변이를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0113] 또한, 본 발명은 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하며, 이 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다.
- [0114] 또한, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하며, 이 핵산 서열은 서열번호 1, 서열번호

37 및 서열번호 38로 이루어진 균으로부터 선택되는 서열을 포함한다.

- [0115] 또한, 본 발명은, 1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하되, 핵산 서열이 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 균으로부터 선택되는 서열을 포함하는 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물; 및 2) aCAR 또는 이의 일부를 코딩하되, 핵산 서열이 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 균으로부터 선택되는 서열을 포함하는 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물을 제공한다.
- [0116] 또한, 본 발명은, iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하되, 핵산 서열이 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 균으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는, 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물을 제공한다.
- [0117] 또한, 본 발명은, aCAR 또는 이의 일부를 코딩하되, 핵산 서열이 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 균으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는, 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물을 제공한다.
- [0118] 또한, 본 발명은, 1) 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 균으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열로서, iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열, 및 2) 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 균으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열로서, aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물을 제공한다.
- [0119] 또한, 본 발명은, 하기를 코딩하는 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물을 제공한다: 1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부로서, 이의 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 균으로부터 선택되는 서열을 포함함; 및 2) 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 균으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열로서, 이의 핵산 서열은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩함.
- [0120] 또한, 본 발명은 하기를 포함하는 핵산 서열 또는 핵산 서열 조성물을 제공한다: 1) 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 균으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열로서, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩함, 및 2) aCAR 또는 이의 일부로서, 이 핵산 서열은 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 균으로부터 선택되는 서열을 포함함.
- [0121] 또한, 본 발명은 iCAR 및 aCAR을 코딩하고; 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 균으로부터 선택되는 서열을 포함하는, 핵산 서열을 제공한다.
- [0122] 또한, 본 발명은 본원에 기술된 핵산 또는 핵산 서열을 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0123] 일부 구현예에서, 벡터 조성물은 하기를 포함한다:
- [0124] 1) 청구항 제93항 또는 제94항 중 어느 하나에 따른 핵산을 포함하는 제1 발현 벡터, 및
- [0125] 2) 청구항 제96항 또는 제97항 중 어느 하나에 따른 핵산을 포함하는 제2 발현 벡터.
- [0126] 또한, 본 발명은 본원에 기술된 핵산 또는 핵산 서열 조성물을 포함하는 안전한 작동자 세포를 제공한다.
- [0127] 또한, 본 발명은 본원에 기술된 벡터 또는 벡터 조성물을 포함하는 작동자 세포를 제공한다.

**도면의 간단한 설명**

- [0128] 도 1은 iCAR 개념을 나타낸 것이다 (출처: Fedorov et al., 2013a).
- 도 2는 aCAR/pCAR 분자 설계 및 작동 방식을 도시한 것이다. aCAR 항원을 발현하거나 또는 발현하지 않은 간에, 정상 세포 상에서 항원예의 pCAR 결합은, 신속한 RIP를 야기하고 폴리펩타이드를 3개의 분리된 단편으로

절단할 것으로 예상된다.

**도 3a-c**는 HLA 클래스 I 유전자 좌를 코딩하는 염색체 영역에서 LOH가 이행된 종양 샘플의 %를 나타낸 것이다. TCGA 데이터베이스로부터 입수한 종양 타입들에서, **A.** HLA-G, **B.** HLA-A, **C.** ZNRD1. 신장 비염색성 세포 (Chromophobe) [KICH], 부신피질 암종 [ACC], 췌장 선암종 [PAAD], 육종[SARC], 신장 유두상 신세포 암종 [KIRP], 식도 암종 [ESCA], 폐 편평 세포암 [LUSC], 신장 투명 신세포 암종 [KIRC], 방광 요로상피 암종 [BLCA], 난소 장액성 낭성암종 [OV], 흉선종 [THYM], 자궁경부 편평 세포암 및 자궁경관 선암종 [CESC], 두경부 편평 세포암 [HNSC], 유방 침윤성 암종 [BRCA], 위 선암종 [STAD], 림프 신생물 미만성 거대 B 세포 림프종 [DLBC], 다형성 교모세포종 [GBM], 결장 선암종 [COAD], 직장 선암종 [READ], 폐 선암종 [LUAD], 고환 생식세포종 [TGCT], 중피종 [MESO], 담관암종 [CHOL], 자궁 암육종 [UCS], 피부 흑색종 (Skin Cutaneous Melanoma) [SKCM], 자궁 체부 자궁내막 암종 [UCEC], 뇌 저등급 신경교종 [LGG], 전립선 선암종 [PRAD], 간 간세포암 [LIHC], 갑상선 암종 [THCA], 갈색세포종 및 부신경절종 [PCPG], 급성 골수성 백혈병 [LAML], 포도막 흑색종 [UVM]

**도 4**는 게놈에서의 다른 모든 단백질 코딩 유전자들에 대한 상대적인 HLA-A 발현성을 나타낸 것이다. 각 유전자에 대한 값은 GTEX (gtexportal.org)에서 입수한 조직 중앙값의 평균 RPKM 값을 반영한다.

**도 5**는 실시예 5에서 암에 대한 HLA 단백질 이행접합성 소실을 분석하기 위해 제안된 작업흐름도를 나타낸 것이다.

**도 6**은 ABSOLUTE 처리된 카피수 데이터를 이용한 pancan12 데이터세트에서의 LOH 빈도를 나타낸 것이다. 선은 빈도에 대한 95% 이항 신뢰구간 (binomial confidence interval)을 표시한다.

**도 7**은 HLA-A에서 관찰된 LOH 유형을 나타낸 것이다. HLA-A LOH 사례 588건 중에서 HLA-A 유전자 내의 절단점은 관찰되지 않았다.

**도 8**은 HLA-A를 포함하는 결손의 길이 (bp) 분포를 나타낸 것이다. 이들 결손부 다수가 염색체 6p의 길이 보다 길다.

**도 9**는 상대 카피수 데이터 및 절대적인 ABSOLUTE 데이터에서 HLA-A LOH 환자의 비율 상관관계를 나타낸 것으로, 임계값은 -0.1이다.

**도 10a-10c**는 암 32종에서 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C의 LOH 비율을 비교한 것으로, 거의 동일한 LOH 패턴이 확인된다.

**도 11**은 염색체 6p의 결손에 대해 분류한 AML 카피수 프로파일의 IGV 스크린샷을 나타낸 것이다. 청색은 결손을, 적색은 증폭을 의미한다. HLA-A 결손은 존재하지 않는다.

**도 12**는 전체 SNP에서 LOH가 발생한 포도막 흑색종의 비율을 나타낸 것이다.

**도 13**은 TCGA 연구의 약어를 기술한 것이다 (<https://gdc.cancer.gov/resources-tcga-users/tcga-code-tables/tcga-study-abbreviations>에서 이용가능).

**도 14**는 염색체 17번에 코딩된 종양 억제자 단백질 TP53에 인접한 염색체 영역의 소실을 나타낸 것이다. iCAR 표적으로 동정된 염색체 17번에 코딩된 유전자는 환자 RC001을 치료하는데 이용할 수 있다.

**도 15**는 iCAR 및 aCAR 구조체의 개략도이다.

**도 16**은 ELISA에 의해 측정된 IL-2 분비 데이터를 나타낸 것이다. iCAR은 iCAR 표적을 발현하는 세포와의 상호작용시 IL-2 분비를 특이적으로 저해한다.

**도 17**은 CBA에 의해 측정된 바에 따라, iCAR이 iCAR 표적을 발현하는 표적 세포와의 상호작용시 IL-2 분비를 특이적으로 저해함을 보여주는 것이다.

**도 18**은 CD19를 발현하는 표적 세포에 의한 CD19 aCAR Jurkat-NFAT의 특이적인 활성화를 나타낸 것이다.

**도 19**는 CD19 aCAR/HLA-A2 iCAR Jurkat-NFAT에서 NFAT 활성화의 특이적인 저해를 나타낸 것이다.

**도 20**은 여러가지 E/T 비율에서 NFAT 활성화에 대한 특이적인 저해를 나타낸 것이다.

**도 21a-i**는 **도 15**의 iCAR 및 aCAR 구조체들의 서열을 나타낸 것이다. **도 21a**는 CD19 aCAR\_IRES\_RFP\_P2A\_Puro-DNA 서열 (서열번호 1)이다. **도 21b**는 CD19 aCAR- 단백질 서열 (서열번호 2)이다. **도 21c**는 RFP-단백질 서열

(서열번호 3)이다. **도 21d**는 푸로마이신 내성-단백질 서열 (서열번호 4)이다. **도 21e**는 CD20 iCAR\_IRES\_GFP\_P2A\_Hygro-DNA 서열 (서열번호 5). **도 21f**는 CD20 iCAR-단백질 서열 (서열번호 6)이다. **도 21g**는 히그로마이신 내성-단백질 서열 (서열번호 8)이다. **도 21h**는 HLA-A2 iCAR\_IRES\_GFP\_P2A\_Hygro-DNA 서열 (서열번호 9)이다. **도 21i**는 HLA-A2 iCAR --단백질 서열 (서열번호 10)이다. **도 21j**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; CTLA4 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829-1074 (서열번호 11)이다. **도 21k**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; LAG-3 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829-1,143 (서열번호 12)이다. **도 21l**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; 2B4 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829- 1,269 (서열번호 13)이다. **도 21m**은 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; BTLA (힌지+TM+세포내 도메인) - 829- 1,293 (서열번호 14)이다. **도 21n**은 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; KIR2DL2 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829- 1,185 (서열번호 15)이다. **도 21o**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; KIR2DL3 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829- 1,164 (서열번호 16)이다. **도 21p**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; KIR2DL2 (신호전달 도메인)- 970-1221 (서열번호 17)이다. **도 21q**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; BTLA (신호전달 도메인)- 970-1302 (서열번호 18)이다. **도 21r**은 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; CTLA4 (신호전달 도메인)- 970-1092 (서열번호 19)이다. **도 21s**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; CSK (신호전달 도메인)- 970-1734 (서열번호 20)이다. **도 21t**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; CTLA4 (신호전달 도메인)- 1306-1428 (서열번호 21)이다. **도 21u**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; LAG3 (신호전달 도메인)- 1306-1467 (서열번호 22)이다. **도 21v**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; 2B4 (신호전달 도메인)- 1306-1665 (서열번호 23)이다. **도 21x**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; CD300LF(신호전달 도메인)- 1306-1644 (서열번호 24)이다. **도 21y**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; BTLA(신호전달 도메인)- 1306-1428 (서열번호 25)이다. **도 21z**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; LAIR1(신호전달 도메인)- 1306-1608 (서열번호 26)이다. **도 21aa**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; TIGIT(신호전달 도메인)- 1306-1551 (서열번호 27)이다. **도 21ab**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; VISTA(신호전달 도메인)- 1306-1593 (서열번호 28)이다. **도 21ac**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; HLA-A2 scFV- 94-828; PD1 힌지- 829-906; PD1 TM- 907-969; PD1 신호전달 - 970-1260; GC 링커- 1261-1305; Ly9(신호전달 도메인)- 1306-1842 (서열번호 29)이다. **도 21ad**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP- 1-63; Myc tag - 64-93; PSMA scFV- 94-867; PD1 힌지- 868-944; PD1 TM- 945-1007; PD1 (신호전달)- 1008-1299 (서열번호 30)이다. **도 21ae**는 iCAR 및 aCAR DNA 서열 CD8 SP 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1 힌지 - 829-906; PD1 TM - 907-969; PD1 (신호전달)-970-1260; IRES-1264-1850; CD8 SP- 1857-1916; FLAG tag- 1917-1940; CD19 scFV-1941-2666; CD8 힌지- 2667-2801; CD8 TM-2802-2873; 41BB-2874-2999; CD3z -3000-3335 (서열번호 31)이다. **도 21af**는 iCAR 및 aCAR DNA 서열, iCAR DNA 서열 CD8 SP 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1 힌지 - 829-906; PD1 TM - 907-969; IRES-973-1559; CD8 SP- 1566-1625; FLAG tag-1626-1649; CD19 scFV-1650-2375; CD8 힌지-2376-2510; CD8 TM-2511-2582; 41BB-2583-2708; CD3z 2709-3044 (서열번호 32)이다. **도 21ag**는 iCAR 및 aCAR DNA 서열 CD8 SP 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1 힌지 - 829-906; PD1 TM - 907-969; PD1 (신호전달)-970-1260; P2A-1261-1326; CD8 SP-1327-1351; FLAG tag-1352-1410; CD19 scFV-1411-2136; CD8 힌지-2137-2271; CD8 TM-2272-2343; 41BB-2344-2469; CD3z 2470-2805 (서열번호 33)이다. **도 21ah**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1 힌지 - 829-906; PD1 TM - 907-969 (서열번호 34)이다. **도 21ai**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1 힌지 - 829-906; PD1 TM - 907-969; PD1 (신호전달)-970-1260 (서열번호 35)이다. **도 21aj**는 iCAR DNA 서열 CD8 SP 1-63; Myc tag- 64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1 힌지 - 829-

906; PD1 TM - 907-969; PD1 (신호전달)-970-1260; GS 링커- 1261-1305; PD1 (신호전달) 1306-1596 (서열번호 36)이다. **도 21ak**는 aCAR DNA 서열 CD8 신호 펩타이드 1-63; Flag tag 64-87; CD19 scFv 88-813; CD8 힌지 814-948; CD8 TM 949-1020; CD28 1021-1677; CD3z 1678-2013 (서열번호 37)이다. **도 21al**은 aCAR DNA 서열 CD8 SP- 뉴클레오티드 1-63; Myc tag - 뉴클레오티드 64-93; scFv EGFR 94-816; CD8 힌지 817-951; CD8 TM 952-1023; 41BB 1024-1149; CD3z 1150-1485 (서열번호 38)이다. **도 21am**은 CAR 아미노산 서열 EGFR aCAR (세탁 시뮬 scFv에 기반함) (서열번호 39)이다. **도 21an**은 CAR 아미노산 서열 EGFR aCAR (파니투맵 scFv에 기반함) (서열번호 40)이다. **도 21ao**는 CAR 아미노산 서열 EGFR aCAR (니모투주맵 scFv에 기반함) (서열번호 41)이다. **도 21ap**는 CAR 아미노산 서열 EGFR aCAR (넥시투무맵 scFv에 기반함) (서열번호 42)이다. **도 21aq**는 aCAR 아미노산 서열 EGFR aCAR (C10 scFv에 기반함) (서열번호 43)이다. **도 21ar**은 aCAR 아미노산 서열 HER2 aCAR (트라스투주맵 scFv에 기반함) (서열번호 44)이다. **도 21as**는 aCAR 아미노산 서열 HER2 aCAR (퍼투주맵 scFv에 기반함) (서열번호 45)이다. **도 21at**는 iCAR 아미노산 서열 인간화된 HLA-A2scFv-IgG- VKA17/VH1-3 (서열번호 46)이다. **도 21au**는 iCAR 아미노산 서열 인간화된 HLA-A2scFv-IgG -VKA17/VH1-69 (서열번호 47)이다. **도 21av**는 iCAR 아미노산 서열 인간화된 HLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-3 (서열번호 48)이다. **도 21aw**는 iCAR 아미노산 서열 인간화된 HLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-69 (서열번호 49)이다.

**도 22**는 iCAR 표적 598개의 목록을 나타낸 것이다.

**도 23**은 aCAR 표적 49개의 목록을 나타낸 것이다.

**도 24**는 종양 타입 27종의 목록을 나타낸 것이다.

**도 25**는 면역학적 시험관내 개념 증명 (PoC)에 대한 도표이다. mRNA 전기천공에 의한 aCAR(CD19)/iCAR(HLA-A2) 구조체 발현 (PoC).

**도 26**은 CD107a 프로토콜을 나타낸 도식도이다.

**도 27**은 게이팅 전략-제어에 관한 데이터를 나타낸 것이다. 작동자/표적 (E/T).

**도 28**은 2종의 CAR을 1:1 비율로 발현하는 작동자 T 세포가 Raji-A2 존재 하에 50%까지 저해됨을 보여주는 데이터이다.

**도 29**는 CD107a의 저해 수준에 대한 여러가지 aCAR/iCAR 비율들의 효과를 조사한 데이터이다.

**도 30**은 작동자/표적 (E/T) 비율 2:1, aCAR (1  $\mu$ g) 및 iCAR (5  $\mu$ g): 1:5 비율 EP T 세포를 이용한 경우의 데이터를 도시하며; 아울러 CD107a의 저해 수준에 대한 aCAR/iCAR 비율과 관련한 추가적인 데이터를 도시한다.

**도 31**은 도 30과 동일한 실험으로부터 수득한 작동자/표적 (E/T) 비율 2:1, aCAR (2  $\mu$ g) 및 iCAR (2, 4, 10  $\mu$ g), EP T 세포를 이용한 경우를 보여주는 데이터를 도시하며; 아울러 CD107a의 저해 수준에 대한 aCAR/iCAR 비율과 관련한 추가적인 데이터를 도시한다.

**도 32**는 iCAR의 공동-발현시 CD19-CAR의 발현이 더 낮음을 보여주는 데이터이다.

**도 33**은 저해가 aCAR/iCAR 비율에 의존함을 보여주는 데이터이다. 저해% =  $100 * (1 - (\text{Raji-A2 T 세포에서 CD107a} / \text{Raji T 세포에서 CD107a}))$ .

**도 34**는 카스파제-3 프로토콜을 나타낸 도표이다.

**도 35**는 시간 코스 시험에서 E/T 비율에 대한 데이터이다 (표적=Raji; 작동자=aCAR EP T 세포).

**도 36**은 시간 코스 실험에서 E/T 비율에 대한 데이터이다 (표적=Raji; 작동자=블랭크 EP T 세포).

**도 37**은 카스파제-3 활성화 정도에 대한 E/T 비율 효과 및 시간을 나타낸 데이터이다.

**도 38**은 카스파제-3의 저해에 대한 aCAR/iCAR 비율, E/T 비율 및 타이밍 효과 검사에 대한 데이터이다.

**도 39**는 3시간 경과시 Raji 및 Raji-A2 세포에서 E/T 비율을 비교하여 나타낸 데이터이다. E/T=1; 3시간 공배양. T 세포 EP와, aCAR 1  $\mu$ g 및 iCAR 1  $\mu$ g, 또는 aCAR 1  $\mu$ g 및 iCAR 5  $\mu$ g.

**도 40**은 E/T=1의 경우 aCAR/iCAR 비율 5에서 유의한 살상 저해 효과를 보여주는 데이터이다.

**도 41**은 1시간 경과시 다양한 aCAR/iCAR 비율을 비교한 데이터이다. E/T=5, 1시간.

**도 42**는 1시간 경과시 다양한 aCAR/iCAR 비율을 비교한 데이터이다. E/T=2, 1시간.

- 도 43은 1시간 경과시 다양한 aCAR/iCAR 비율을 비교한 데이터이다. E/T=1, 1시간.
- 도 44는 여러가지 E/T 비율에서 HLA-A2 iCAR이 특이적인 보호를 제공함을 보여주는 데이터이다.
- 도 45는 iCAR. E/T 비율 2:1 또는 1:1, aCAR (1  $\mu$ g) 및 iCAR (5  $\mu$ g), EP T 세포에 의한 카스파제 저해에 대한 도너 효과를 나타낸 데이터이다.
- 도 46은 도너 3에서 다양한 aCAR/iCAR 비율을 비교하여 나타낸 데이터이다. E/T 비율 2:1 또는 1:1, aCAR (1  $\mu$ g) 및 iCAR (5  $\mu$ g), EP T 세포, 도너 3.
- 도 47은 도너 3의 세포가 백그라운드 수준으로 유의하게 저해됨을 보여주는 데이터이다.
- 도 48은 도너 5에서 다양한 aCAR/iCAR 비율을 비교하여 나타낸 데이터이다. E/T 비율 2:1 또는 1:1, aCAR (1  $\mu$ g) 및 iCAR (5  $\mu$ g), EP T 세포, 도너 5.
- 도 49는 도너 5의 세포가 도너 3과 유사하게 백그라운드 수준으로 유의한 저해됨을 보여주는 데이터이다.
- 도 50은 다음과 같은 인자들로 구성된, (CAR을 추가적으로 최적화하기 위한) 추가적인 구조체를 설계하기 위한 계획표를 나타낸 것이다: 신호 펩타이드, scFv, 힌지, 막관통 도메인 및 세포내 신호전달 도메인.
- 도 51은 iCAR와 aCAR 간의 비율 증가에 따른 Raji-A2의 보호 증가를 보여주는 데이터이다.
- 도 52는 광범위한 E/T 비율에서 iCAR가 보호를 제공함을 보여주는 데이터이다.
- 도 53은 aCAR 및 iCAR mRNA가 전기천공된 T 세포와 공동-배양한 표적 세포에서 카스파제 3의 발현을 나타낸 데이터이다. Raji-V는 바이올렛 CellTrace로 표지된 Raji 세포이다. Raji-A2 V는 바이올렛 CellTrace로 표지된 Raji-A2 세포이다.
- 도 54는 여러가지 aCAR:iCAR 비율들에서, aCAR 단독 또는 듀얼 CAR이 전기천공된 T 세포에서 IFN  $\gamma$  분비 및 계산된 저해%를 나타낸 데이터이다. T 세포를 여러가지 표적 세포와 공동-배양하였으며, IFN  $\gamma$  및 저해%를 계산하였다. T 세포의 최대 저해는 aCAR:iCAR 비율 1:5에서 관찰된다.
- 도 55는 종양 또는 '오프-종양'과 공동-배양한 전기천공된 T 세포에서 IFN  $\gamma$  및 TNF  $\alpha$  분비를 나타낸 데이터이다. 데이터는 '오프-종양'으로 자극한 후 aCAR 및 iCAR이 전기천공된 T 세포에서 IFN  $\gamma$  및 TNF  $\alpha$  분비가 특이적으로 감소함을 보여준다. 저해% (표 100)는 다음과 같은 식으로 계산하였다: 저해% = 100 x [1 - (Conc RAJI-A2 / Conc RAJI)].
- 도 56은 CD107a 발현의 저해%를 나타낸 데이터이다.
- 도 57은 분리하거나 또는 함께 혼합하여 공동-배양하였을 경우, 듀얼 CAR (aCAR 및 iCAR)을 발현하는 T 세포가 '오프-표적' 세포로부터 종양 세포를 구별함을 보여주는 데이터이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0129]

#### I.서론

[0130]

1971년에 A. G. Knudson (Knudson Jr., 1971)에 의해 제기된 종양 억제자 유전자 (TSG)에 대한 혁명적인 개념을 참조하여, Devilee, Cleton-Jansen 및 Cornelisse는 'Knudson 이후로'라는 제목의 짧은 논문 (Devilee et al., 2001)의 첫 단락에서 다음과 같이 기술하였다: "다수의 간행물들이 매우 다양한 종양들에서 많은 여러가지 염색체에서 LOH를 입증하였고, 이는 다수의 TSG의 존재를 암시한다. Knudson의 2-히트 가설 (two-hit hypothesis)은 이들 LOH 현상이 TSG의 양쪽 대립유전자의 비활성화의 2번째 단계인 것으로 예측한다". 인간 암에서 유전자 불안정성에 대한 주요 리뷰 (Lengauer et al., 1998)에서, Lengauer, Kinzler 및 Vogelstein은 "핵형 연구에서 대부분의 암이 염색체 소실 또는 획득을 가지고 있는 것으로 입증되었고, 분자 연구에서 핵형 데이터가 실제 이러한 변화의 실제 수준을 과소 평가된 것으로 보인다. 종양에서 이형접합성 소실, 즉 부계 또는 모계 대립유전자의 소실은 광범위하게 이루어지며, 종종 반대쪽 대립유전자의 획득을 동반한다. 종양은 예를 들어 부계 8번 염색체는 소실되고 모계 8번 염색체는 중복 (duplicating)되어, 세포는 8번 염색체 핵형은 정상이지만 8번 염색체의 "대립유전자형"은 비정상적이게 된다. 결장, 유방, 췌장 및 전립선의 '평균적인' 암은 자체 대립유전자의 25%를 소실할 수 있으며, 이의 대립유전자의 절반 이상의 소실은 종양에서 드문 일이 아니다"고 언급하였다. 이러한 관찰 결과는, 이후 다수의 보고들에서 보강되었으며, 실제 모든 암종을 비롯한 거의 모든 인간 암으로까지 확대되었다 (리뷰로서 McGranahan et al., 2012 참조). 이제, 거의 모든 개별 종양들이 전체

염색체, 전체 염색체 아암 (arm) 또는 다양한 크기의 염색체 하위 영역의 다중 소실을 가진 것으로, 명확하게 확립되었다. 진유전체 서열 데이터에 기반하여 임의의 소정의 세포 샘플에서 LOH 프로파일을 확인하기 위한 새로운 알고리즘들이 빠르게 개발되고 있다 (예, Sathirapongsasuti et al., 2011). 통계 편향은 현재 일부 해석의 타당성에 의문을 제기할 수 있지만 (Teo et al., 2012), 이러한 알고리즘은 NGS 이전 시대에 이러한 목적으로 사용되었던 LOH 프로파일을 확립하는 대부분의 다른 방법들을 개선하고 대체할 가능성이 있다.

[0131] 초기 LOH 현상은 동일한 조직의 전악성 세포에서 검출되지만 주변 정상 세포에서는 그렇지 않을 수 있다 (Barrett et al., 1999). LOH는 비가역적이며, 현상들이 단순 축적될 수 있으므로, 종양 이질성은 종양 진행 전반에 걸친 소실의 축적을 반영한다. 후기 LOH 현상에 차이가 있는 종양 서브클론들이 발생할 수 있지만, 소정의 환자에서 전악성 세포, 추정된 종양 줄기 세포 및 모든 종양 서브클론에서 공유되는 최소 LOH 시그니처의 존재가 일반적인 것으로 예상된다. 이러한 '몸통' LOH 패턴으로부터 뺀어나온 가지들은, 동일한 환자에서 모든 종양 세포를 아우르는, 부분적으로 겹치는 시그니처들로 구성된 제한된 세트를 여전히 생성할 것이다.

[0132] 총체적인 LOH 현상들의 불가피한 결과는 결손된 염색체 물질에 존재하는 다른 모든 유전자들의 동시적인 소실이며, 이러한 것으로는 자연적으로 막관통 단백질질을 코딩하는 다수의 유전자들을 포함한다. 이들의 정체와 관련하여, 인간 세포 표면 단백질 3,702종의 목록 ('서페이스오 (surfaceome)')이 작성되었다 (Da Cunha et al., 2009). 서페이스오 유전자들 중 ~42%은 발현 측면에서 넓은 조직 분포를 보이는 반면, 유전자 ~85종은 조사한 조직들 모두에서 발현되므로, 하우스키핑 유전자의 홀머카이다. 이들 유전자는, 본 발명의 iCAR 및 aCAR에 대한 표적으로 이용할 수 있는 여러가지 다형성 변이체 후보이다.

[0133] 최근, Bausch-Fluck 등 (Bausch-Fluck et al., 2015)은 케모프로테오믹 세포 표면 포착 기법을 적용하여 인간 세포 유형 41종에서 세포 표면 당단백질 1492개로 구성된 조합 세트를 식별하였다. 서페이스오의 상당 비율이 임의의 소정의 종양에 의해 각각 특징적인 프로파일로 발현될 것으로 예상된다. 세포 표면 단백질을 코딩하는 유전자는 다른 모든 유전자와 비교해 코딩 영역에 단일-뉴클레오티드 다형성 (SNP)이 다소 풍부한 것으로 밝혀졌다 (Da Cunha et al., 2009). 다형성 인-프레임 삽입 및 결손은, 드물긴 하지만, 다수의 변이에 기여하며, 펩타이드 서열-변형 (비동의) SNP보다 폴리펩타이드 산물에 보다 명확한 구조적인 영향을 발휘할 가능성이 있다. 대체로, 전형적인 게놈은 비동의 변이체와 190-210개의 인-프레임 삽입/결손을 가진 부위가 10,000-12,000곳이다 (Abecasis et al., 2010; Auton et al., 2015). 이들 변이체는 HLA 유전자 좌 (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>)와 같은 높은 수준의 다형성 유전자로서 게놈 전체에 균일하게 분포되어 있지 않거나, 또는 특정 G-단백질-커플링된 수용체 (GPCR) 유전자 (Lee et al., 2003; Rana et al., 2001)는 뚜렷한 변이체 '핫스팟'을 생성한다. LOH-관련 핫스팟의 또 다른 층은 여러가지 암들에서 특정 염색체 또는 염색체 아암의 빈번한 소실로부터 기원한다 (예, 소-세포 폐암의 경우 3p 및 17p (Lindblad-Toh et al., 2000), 결장직장암의 경우 17p 및 18q Vogelstein et al., 1989), 유방암의 경우 17q 및 19 (Li et al., 2014; Wang et al., 2004), 흑색종의 경우 9p (Stark and Hayward, 2007), 교모세포종의 경우 10q (Ohgaki et al., 2004) 등).

[0134] 표면 단백질에서 대립유전자 변형의 상당 비율이 각각의 유전자 산물의 세포의 부위에 영향을 미쳐, 원칙적으로 특이성 mAb에 의해 인지되어 다른 변이체와 구별될 수 있는, 별개의 대립유전자-제한된 에피토프를 잠재적으로 생성할 수 있다. 단일 아미노산 차이만 있는 동일 단백질에 대한 변이체 2종을 구분하는 mAb를 단리할 수 있다는 것은 잘 입증되어 있다 (예, Ras 온코진의 점 돌연변이 산물을 인지하는 정교한 특이성을 가진 mAb에 대한 초기 예 (Carney et al., 1986)). 흥미롭게도, 단백질 에피토프에서 단일 아미노산 교환에 특이적인 mAb 2종은 이들의 중쇄 및 경쇄 V 유전자 풀과는 구조적으로 구별되는 가변부를 이용할 수 있는 것으로 입증되었다 (Stark and Caton, 1991). 최근, Skora 등 (Skora et al., 2015)은, 아미노산 하나 차이만 있는 돌연변이된 KRAS 및 EGFR 단백질로부터 유래된 HLA-I-결합된 네오오프타이드를 이의 야생형 대응물과 구별할 수 있는 펩타이드-특이적인 scFv의 단리를 발표하였다.

[0135] 요컨대, 종양 세포의 고유한 항원 시그니처가 등장하였으며, 이것은 개별 환자의 전신에서 모든 다른 세포로부터 종양 세포를 명확하게 식별할 수 있게 해준다. LOH로 인해 종양 세포 표면에는 존재하지 않지만 이들 유전자를 발현하는 암 기원 조직 또는 기타 조직의 정상 세포에는 존재하는 대립유전자 변이체에 의해 코딩되는 모든 막관통 단백질들을 포괄한다. 물론, LOH에 의해 영향을 받는 각각의 유전자는 진짜 하우스키핑 유전자를 제외하고는, 구별되는 조직 분포 패턴 특징을 가질 것이다. 이들 유전자 대부분이 형질전환된 표현형의 종양형성 또는 유지에 직접 참여할 것으로 예상되진 않으며, 이런 의미에서 이의 소실은 '패신저 (passenger)' 성질을 갖는다.

[0136] 전술한 근거는, 독특한 분자 특징이 거의 모든 종양들에서 LOH에 의해 필연적으로 형성되고, 이는 정상 세포 상

에 다수의 다형성 표면 구조들이 존재하지 않는다는 점에 의해 확인된다고 주장한다. 이러한 개별 종양의 추정된 시그니처를 표적가능한 항원 에피토프 세트에 전환하는 것은, 특정한 '부제'의 인지를 표적 세포 사멸을 촉발할 수 있는 활성화 신호로 번역하는 실행가능한 면역학적 전략을 수반한다. 중요한 점은, 온-표적 오프-종양 반응성을 엄격하게 피할 수 있는 안전한 장치의 통합이 이러한 전략을 향후 임상적으로 실행하는데 매우 유익할 것이라는 것이다.

[0137] 본 발명은 각각의 치료학적 살상 세포에서 유전자 한쌍의 공동-발현을 통해 이러한 과제에 대처한다. 이러한 쌍에서 하나는 활성화 CAR (aCAR)을 코딩하고, 다른 하나는 보호성 CAR (pCAR) 또는 저해성 CAR (iCAR)을 코딩한다.

[0138] **II. 선택 정의**

[0139] 본원에서, 용어 "핵산 분자"는 DNA 또는 RNA 분자를 지칭한다.

[0140] 용어 "코딩하는"은, 지정된 뉴클레오티드 서열 (예, rRNA, tRNA 및 mRNA) 또는 지정된 아미노산 서열 및 이로부터 생기는 생물학적 특성을 가진 생물학적 과정에서 기타 폴리머 및 거대분자를 합성하기 위한 주형으로서 이용하기 위한, 유전자, cDNA 또는 mRNA와 같은 폴리뉴클레오티드에서 특이적인 뉴클레오티드 서열의 고유한 특성을 나타낸다. 따라서, 유전자에 대응되는 mRNA의 전사 및 번역으로 세포 또는 다른 생물 시스템에서 단백질이 생산된다면, 그 유전자는 단백질을 코딩하는 것이다. 코딩 가닥, 즉 mRNA 서열과 동일하고 일반적으로 서열목록에 기재된 뉴클레오티드 서열, 및 유전자 또는 cDNA의 전사 주형으로서 사용되는 비-코딩 가닥 둘다, 유전자 또는 cDNA의 단백질 또는 기타 산물을 코딩하는 것으로 지칭할 수 있다.

[0141] 달리 명시되지 않은 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열"은 상호 축중 버전 (degenerate version)이며 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열들을 모두 포함한다. 단백질 및 RNA를 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 인트론을 포함한다.

[0142] 용어 "내인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템으로부터 유래하거나 또는 그 안에서 만들어지는 모든 물질에 대해 사용된다.

[0143] 용어 "외인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템으로 도입되었거나 또는 이들의 외부에서 만들어지는 모든 물질에 대해 사용된다.

[0144] 본원에서, 용어 "발현"은 자체 프로모터에 의해 구동되는 특정 뉴클레오티드 서열의 전사 및/또는 번역으로서 정의된다.

[0145] "발현 벡터"는 발현시킬 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현 조절 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 의미한다. 발현 벡터는 충분한 cis-작동성 발현 인자를 포함하며; 기타 발현 인자는 숙주 세포에 의해 또는 시험관내 발현 시스템으로부터 제공받을 수 있다. 발현 벡터는 재조합 폴리뉴클레오티드가 병합된 코스미드, 플라스미드 (예, 네이키드 형 또는 리포솜에 포함된 형태) 및 바이러스 (예, 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-부속 바이러스)를 포함한다.

[0146] 본원에서, 용어 "게놈 변이체"는 동일한 게놈 위치에서 기준 또는 컨센서스 서열과 비교해, 서열분석 샘플에서 게놈 수준에서 하나 이상의 뉴클레오티드의 변이를 의미한다.

[0147] 본원에서, 변이체와 관련하여 용어 "대응되는 기준 대립유전자 (corresponding reference allele)"는 변이체와 동일한 게놈 위치에 존재하는 기준 또는 컨센서스 서열 또는 뉴클레오티드를 의미한다.

[0148] 본원에서, 단백질과 관련하여 용어 "세포외 도메인"은 세포막의 바깥쪽에 존재하는 단백질 영역을 의미한다.

[0149] 본원에서, 용어 "이형접합성 소실" 또는 "LOH"는 체세포에서 2개의 염색체의 한 카피에서 전체 염색체 또는 이의 일부 등의 염색체 물질의 소실을 의미한다.

[0150] 본원에서, 변이체 또는 기준 대립유전자와 관련하여 용어 "서열 영역"은 변이체의 위치의 상류에서 시작해 하류에서 끝나고, 항체에 의해 인지될 수 있는 "에피토프 펩타이드"로 번역될 수 있는 서열을 의미한다.

[0151] 본원에서, 용어 "CAR"은, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포로부터 유래되는, 세포 면역-기능 수용체 또는 어댑터 분자와 구조적 및 기능적 특성을 공유한 키메라 폴리펩타이드를 의미한다. CAR은 TCR 및 NKR-CAR을 포함한다. CAR은 동족 (cognate) 항원에 결합하면, 배정된 세포 독성을 활성화 또는 비-활성화할 수 있거나, 또는 세포의 항-종양 활성을 조절하거나, 또는 세포 면역 반응을 조절할 수 있다.

- [0152] 본원에서, 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는, scFv와 같은 세포의 도메인과 관련하여 사용되는 용어 "특이적인 결합"은, scFv가 하나의 대립유전자 변이체에는 상대적으로 결합하고 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 대응되는 다른 대립유전자 변이체에는 결합하지 않는 것을 의미한다. 이는 항원항체 결합성 (T 세포 상의 CAR 카피수, 표적 세포 (또는 보호할 세포)의 표면 상의 항원 분자의 개수 및 사용되는 특이적인 CAR의 친화성)에 의해 좌우되므로, 기능적인 정의는, 특정 scFv가 이에 대해 특이적인 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 대해 ELISA에서 현저한 신호를 제공하거나, scFv를 나타내는 CAR로 형질감염된 세포가 FACS 분석에서 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 의해 명확히 표시되는 반면, 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상응하는 상이한 대립유전자 변이체를 이용한 동일 분석에서는 검출가능한 신호가 발생하지 않는다는 것이다.
- [0153] 본원에서, 용어 "치료하는"은 요망하는 생리학적 효과를 달성하는 수단을 지칭한다. 효과는 질환 및/또는 질환에 기인한 증상을 부분적으로 또는 완전히 치유하는 관점에서 치료적일 수 있다. 이 용어는 질환 저해, 예를 들어 질환의 진행 정지; 또는 질환 개선, 예를 들어 질환의 퇴행 유발을 의미한다.
- [0154] 본원에서, 용어 "개체" 또는 "개인" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유류"는 진단, 예후 예측 또는 치료가 요망되는 임의의 개체, 특히 포유류 개체, 예를 들어 인간을 지칭한다.
- [0155] 표현 "안전한 작동자 면역 세포" 또는 "안전한 작동자 세포"는 본원에 기술된 적어도 하나의 iCAR 또는 pCAR을 발현하는 본 발명에 의해 기술된 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, "안전한 작동자 면역 세포" 또는 "안전한 작동자 세포"는 개체에 투여할 수 있다. 일부 구현예에서, "안전한 작동자 면역 세포" 또는 "안전한 작동자 세포"는 본원에 기술된 aCAR을 추가로 발현한다. 일부 구현예에서, "안전한 작동자 면역 세포" 또는 "안전한 작동자 세포"는 본원에 기술된 iCAR 또는 pCAR을 추가로 발현한다. 일부 구현예에서, "안전한 작동자 면역 세포" 또는 "안전한 작동자 세포"는 본원에 기술된 iCAR 또는 pCAR 및 본원에 기술된 aCAR을 추가로 발현한다.
- [0156] 본 발명에 따라 사용하기 위한 약학적 조성물은 하나 이상의 생리학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 사용하여 통상적인 방식으로 제형화할 수 있다. 담체(들)는 조성물의 다른 성분들과 혼용가능하고 수용자에게 유해하지 않다는 의미에서 "허용가능"하여야 한다.
- [0157] 표현 "유효량" 또는 "치료학적 유효량"은 본원에서 상호 호환적으로 사용되며, 특정한 생물학적 결과를 달성하는데 효과적인 본원에 기술된 화합물, 제형, 물질 또는 조성물의 양을 의미한다.
- [0158] 담체, 투여 방식, 투약 형태 등에 대한 후술한 예시는 담체, 투여 방식, 투약 형태 등이 본 발명에 사용되기 위해 선택될 수 있는 공지된 가능성으로서 열거된다. 그러나, 당해 기술 분야의 당업자라면 선택된 임의의 소정의 제형 및 투여 방식이 요망하는 결과를 달성하는지를 확인하기 위해서 먼저 이를 검사하여야 함을 이해할 것이다.
- [0159] 투여 방법은 비경구, 예를 들어 정맥내, 복강내, 근육내, 피하, 점막 (예, 경구, 비강내, 볼, 질, 직장, 안구내), 척추강내, 국소 및 진피내 경로를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 투여는 전신 또는 국소일 수 있다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 경구 투여에 적합하다.
- [0160] 용어 "담체"는 활성 물질과 함께 투여되는 희석제, 보강제, 부형제 또는 비히클을 지칭한다. 약학적 조성물에서 담체는 결합제, 예를 들어 미세결정 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈 (폴리비돈 또는 포비돈), 트라가칸트 검, 젤라틴, 전분, 락토스 또는 락토스 일수화물; 붕해제, 예를 들어 알긴산, 옥수수 전분 등; 윤활제 또는 계면활성제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트 또는 라우릴 황산나트륨; 및 활택제, 예를 들어 콜로이드형 이산화규소를 포함할 수 있다.
- [0161] 본원에서, 용어 "말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)"는 림프구, 단핵구 또는 대식세포와 같은 등근 핵을 가진 임의의 혈액 세포를 지칭한다. 혈액으로부터 PBMC를 분리하는 방법은 당해 기술 분야의 당업자들에게 자명하다. 비-제한적인 예는, 혈장 층 아래에 단핵구 및 림프구로 연층을 형성하여, 혈액 층을 분리하는 친수성 다당류인 피콜을 이용하거나, 또는 적혈구 및 백혈구-부족 혈장을 공여자에게 다시 주입하면서 백혈구 농축액을 제조하는 방법인 백혈구성분 채집술 (leukapheresis)에 의해, 전혈로부터 이들 세포를 추출하는 방법이다.
- [0162] 본원에서, 용어 "암"은 비정상적인 세포의 빠르고 비-통제된 증식을 특징으로 하는 질환으로 정의된다. 암 세포는 국소적으로 또는 혈류 및 림프계를 통해 신체의 다른 부분으로 퍼질 수 있다. 다양한 암의 예로는 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 췌장암, 결장직장암, 신장암, 간암, 뇌암, 림프종, 백혈병, 폐암, 신경교종 등이 있지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0163] III.CAR-T 시스템: iCAR, pCAR 및 aCAR

[0164] 본 발명은 정상 세포는 안전하게 보존하면서 종양 세포만 특이적 표적화할 수 있는 새로운 방안을 제공한다는 측면에서 부각되어야 한다. 본원에 제시된 개념은 iCAR (또는 pCAR 또는 보호 CAR)에 대한 새로운 표적의 식별을 제공하며, 이들 표적은, 정상 조직에서는 발현이 유지되지만 이것이 존재하는 염색체 영역의 LOH로 인해 종양 세포에서는 소실된, 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 포함하는 것으로 정의된다. 다형성 변이로 인해, 2가지 대립유전자를 구별하여 종양 세포에서 결손된 대립유전자만 표적화 가능하다. 또한, 표적 항원 자체가 반드시 종양 억제 유전자, 또는 암과 관련된 것으로 예측되는 유전자이어야 하는 것은 아니며, 그 이유는 LOH에 의해 소실된 영역에 존재하는 것으로 선택되므로, 따라서 이들 유전자와 단순히 연관시킬 수 있기 때문이다. 이는, 다형성과 무관하게 종양에서 하향 조절되는 항원 또는 종양 관련 항원을 표적화하는 암 요법에서 지금까지 사용되거나 또는 제안된 방법과는 개념적으로 다르다. 본 방법은 또한 본원에 기술된 iCAR 및/또는 pCAR의 공동 발현을 통해 정상 세포의 보호를 제공함으로써, 종양 관련 항원을 넘어선 aCAR 선택의 확장을 제공한다.

[0165] 게놈 현상인 LOH는 종양에서 특정 변이체의 완전한 소실을 야기하고 소실된 대립유전자는 다시 획득될 확률이 매우 드물기 때문에, 이의 구별이 매우 중요하다. LOH 현상이 종양 발달의 매우 초기에 발생한다면, 이는 전이성 종양을 비롯한 초기 전-악성 조직으로부터 유래하는 모든 종양 세포들에서 단일한 표적 시그니처를 형성한다. 또한, LOH는 거의 모든 유형의 암에서 발생하므로, 이 개념은 이러한 모든 암 유형과 관련된 마커를 개발하기 위한 보편적인 도구로 사용할 수 있다. LOH 현상은 어느 정도 무작위로 발생하므로, 본 발명은 환자에서 발생한 특정 LOH 현상에 기초하여 각각의 개별 암 환자에 대한 개인 맞춤형 종양 마커의 선택을 추가로 제공한다. 이러한 개념, 즉 aCAR 및 iCAR을 구현하기 위해 사용되는 도구들은 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 WO 2015/142314 및 US 9,745,368에 교시된 바와 같이 당해 기술 분야에 널리 공지된 방법으로 용이하게 제조할 수 있으며, 상기 문헌들은 본원에 완전히 개시된 바와 같이 원용에 의해 본원에 포함된다.

[0166] 한가지 전략에 따르면, 모든 주어진 쌍에서 2종의 CAR은 환자가 이형접합성인 동일한 표적 유전자에 대한 서로 다른 대립유전자 변이체 산물을 특이적으로 인지한다. 기본 원리는 다음과 같다: aCAR은, 소정의 종양 세포에 의해 발현되고 LOH에 의해 영향을 받지 않는 선택된 세포 표면 단백질의 대립유전자 변이체를 표적으로 하는데 반해, pCAR 또는 iCAR은 LOH로 인해 이 종양 세포에서 소실된 동일 유전자의 대립유전자 변이체에 의해 코딩되는 산물을 표적으로 한다. 이러한 유전자를 발현하는 개별 환자의 다른 정상 조직에서는, 2가지 대립유전자가 존재하고, 동등하게 기능하는 것으로 알려져 있으며, 즉, (무작위 단일대립유전자 발현을 나타낼 수 있는 다른 유전자와 달리) 발현이 모든 조직들에서 이중대립유전자성 (biallelic)이다 (Chess, 2012; Savova 등, 2016). 하나의 시나리오로, CAR 2종은 단백질 산물 상의 동일 위치에 존재하되, 하나 또는 오직 수개의 아미노산 차이만 있는, 2종의 관련 에피토프를 표적화 한다. 다른 시나리오로는, aCAR은 동일 단백질의 비-다형성 에피토프를 표적화하고, pCAR 또는 iCAR은 대립유전자-특이성을 가지는 것이다. 이 경우, 정상 세포 상의 aCAR 에피토프의 밀도는 일반적으로 iCAR 또는 pCAR 에피토프의 밀도보다 2배 높을 것이다. 일부 구현예에서, 단일 핵산 벡터는 aCAR 및 iCAR 또는 pCAR을 모두 코딩한다.

[0167] 다른 전략은 하우스키핑 유전자의 단백질 산물을 pCAR 또는 iCAR 표적으로서 이용하는 것이다. 정의상, 이들 유전자는 신체의 모든 세포에서 발현되므로, 이는 pCAR 또는 iCAR에 대한 안전한 표적이다. 즉, pCAR 또는 iCAR이 소정의 환자가 이형접합성인 하우스키핑 유전자의 막 산물을 표적화 한다면, LOH로 인해 이 대립유전자가 소실된 종양 세포를 제외한 신체의 모든 세포들은 보호될 것이다. 이 전략은 aCAR 표적 유전자 산물을 pCAR 또는 iCAR 표적 유전자 산물과 분리 (uncoupling)시킬 수 있다. 실제로, aCAR 표적은 종양에 의해 발현되는 임의의 비-다형성 에피토프일 수 있다. 이 전략의 변형은 비-다형성 종양-관련 항원, 예를 들어 임상적으로 사용 중이거나 또는 임상 시험에서 조사 중인 aCAR을 표적화하는 공지된 aCAR을, 소정의 환자가 이형접합성이고 적어도 종양 기원 조직에서, 바람직하게는 aCAR 표적 항원이 발현되는 추가적인 주요 정상 조직에서, 발현되는 유전자의 막 산물을 겨냥하는 iCAR 또는 pCAR와 조합하여, 사용하는 것이다.

[0168] iCAR/pCAR 표적 항원과 aCAR 표적 항원을 분리시킬 수 있는 동일한 이론적 근거에 따라, iCAR/pCAR 표적 항원이 반드시 하우스키핑 유전자의 산물이어야 하는 것은 아니다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR은, 종양 이외에, aCAR 표적 항원을 발현하는 주요 정상 조직을 보호할 만큼 충분히 넓은 발현 패턴을 가진 임의의 유전자 산물일 수 있다. 결론적으로, aCAR 항원은, 하우스키핑 유전자에 대해 논의된 바와 같이, 공지된 '종양-관련 항원'으로 국한되지 않는, 종양에 의해 발현되는 임의의 비-다형성 에피토프일 수 있으며, 이를 고려해 후보 aCAR 표적의 목록을 크게 확장시킬 수 있다. 일반적으로, 하우스키핑 유전자 및 비-하우스키핑 유전자 모두, 이러한 정상적인 주요 조직의 정체 및 발현 수준이 이러한 후보 aCAR 표적의 우선 순위 결정에 중요한 기준으로

작용할 것이다.

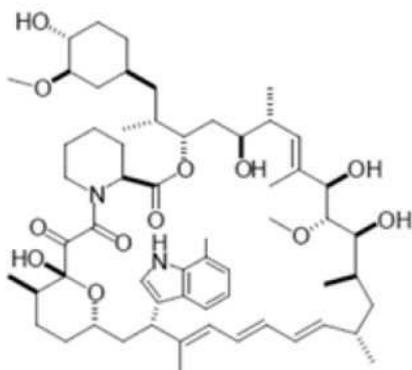
[0169] iCAR에 의해 전송된 저해 신호가 aCAR 신호에 비해 엄격하고 영구적으로 우세하도록 하고, iCAR과 aCAR 간에 교차 인지가 발생하지 않도록 주의하여야 한다. iCAR의 우세로, 2가지 대립유전자를 모두 발현하는 정상 세포와 접촉한 경우에는 살상 세포의 활성화가 방지되게, 보장된다. 그러나, 이러한 디폴트 브레이크는 종양 세포에 결합할 경우에는 작동하지 않을 것이다: 표적 항원의 부재시, iCAR은 저해 신호를 전달하지 않을 것이며, 이에 예상되는 aCAR-매개 세포 활성화 및 후속적인 종양 세포용해가 촉발될 것이다.

[0170] iCAR 기술은 면역 체크포인트를 기반으로 할 수 있다. 이와 관련하여, PD-1 및 CTLA-4의 조절 요소가 iCAR 신호 전달 성분으로서 포함되는 경우 강력한 T 세포 저해 능력을 가지다는 설명 (Fedorov et al., 2013b; WO 2015/142314)이 권장되지만, 이러한 관찰 결과에 대한 보편성 의문이 최근 제기되었다 (Chicaybam and Bonamino, 2014, 2015). 또한, 이들 체크포인트 단백질에 의해 촉발된 정확한 분자 경로가 완전히 파악된 것은 아니지만, 이의 관여는 근위 및 원위 기전 둘다를 통해 T-세포 활성화를 약화시켜, 수반되는 활성화 자극에 T 세포를 무반응성으로 만든다 (Nirschl and Drake, 2013). 그래서, PD-1 및 CTLA-4 iCAR에 의해 확보된 비활성화 상태는 실제 일시적이고 가역적이지만 (Fedorov et al., 2013b), iCAR 및 aCAR 표적 모두를 발현하는 조직에서 T 세포 활성화를 허용하지 않을 것이다. 대조적으로, 활성화 수용체 대비 NK 저해성 수용체의 우세는 건강한 세포가 일시적인 기전보다는 공간적 기전을 통해 NK 세포 공격으로부터 벗어나게 보장해 준다. (Long et al., 2013). 단일 NK 세포는 저해성 및 활성화 리간드 둘다 발현하는 저항성 세포는 보존하면서도, 이것이 동시에 결합하는 활성화 리간드만을 발현하는 감수성 세포를 사멸시킬 수 있다는 설득력 있는 증거가 존재한다. 이러한 정교한 능력은, 결과적으로 세포용해 과립의 세포의 배출에 영향을 미치는 각각의 면역 시냅스에서 형성된 신호 전이 분자의 상이한 공간적 조직화에 의해 좌우된다 (예, Abeyweera et al., 2011; Eriksson et al., 1999; Treanor et al., 2006; Vyas et al., 2001; US 9,745,368).

[0171] iCAR에 의해 확보되는 제어에 기초한 전략은 전술한 바와 같이 aCAR 활성화 대비 iCAR 활성화의 우세에 의존한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 이러한 유형의 iCAR을 제공하며, 이는 본원에서 pCAR (보호 CAR에 대해, 도 2 참조)로 지칭되며, 시냅스-선택적인 방식으로 CAR T 세포에서 작동하고 공동 발현된 aCAR에 비해 충분한 우세를 보장하도록 설계된다. 일부 구현예에서, 본 발명에 의해 제공되는 iCAR은 본원에서 보호 CAR (pCAR)로 지칭되는 이러한 특정 유형의 iCAR이다.

[0172] 일부 구현예에서, 본 발명의 pCAR은 기술적 특징 2가지를 통합한다. 첫째, 2종의 서로 다른 폴리펩티드 산물에 유전자 수준에서 배치함으로써, pCAR은 인지 유닛 및 공동-자극 요소 (예, CD28, 4-1BB, CD134 (OX40), GITR, IL2Rβ 및 STAT3 결합 모티프 (YXXQ))로부터 aCAR의 활성화 모이어티 (FcRγ/CD3-ζ)를 분리시킬 수 있다. aCAR 기능에 필수적인, 이들 요소들의 재결합은 각각의 폴리펩티드에 개별적으로 통합된 각각의 결합 부위를 연결할 수 있는 이중이량화 약물의 첨가에 의해서만 이루어진다 (도 2b). 유사하게 분할된 인지 및 활성화 모이어티를 이중이량화 약물에 의해 연결하는 것에 의한 완전한 기능적인 CAR의 재구성이 최근 Wu 등 (Wu et al., 2015)에 의해 보고되었다. 이를 위해, 저자는 라파마이신 유사체 AP21967 (하기 화학식 I)의 존재 하에 이중이량화되는 FKBP-라파마이신 결합 도메인 (FRB, 아미노산 89개)의 T2089L 돌연변이체 및 FK506 결합 단백질 도메인 (FKBP, 아미노산 104개)을 사용하였다. 이 약물은 라파마이신과 비교해 1000배 낮은 면역억제 활성을 가지며 (Bayle et al., 2006; Graef et al., 1997; Liberles et al., 1997), 상업적으로 입수가능하다 (ARGENTM, Regulated Heterodimerization Kit, ARIAD). 일부 구현예에서, 약물은 경구 투여한다.

[0173] 화학식 I. AP21967 구조



[0174]

- [0175] 두번째로, 2개의 막내 절단부를 함유한 RIP-제어된 수용체의 막관통 도메인의 표면 2곳에 pCAR 인지 유닛과 결손 활성화 도메인을 각각 이식한다 (도 2a). pCAR이 그 항원에 결합하면, 먼저 엑토도메인을 제거하는 세포외 디스인테그린 및 메탈로프로테이나제 (ADAM) 패밀리의 구성원에 의해, 이후 pCAR의 세포내 도메인을 분리시키는 세포내  $\gamma$ -세크레타제에 의해 코딩된 폴리펩티드의 이중 절단이 촉발될 것이다. 이러한 제1 절단 현상은, 절단된 aCAR이 이의 상실되는 활성화 요소의 기능적이고 막-고정된 구성에 접근하는 능력을 파괴해, 작동 모드를 획득할 것으로 예측된다 (도 2c). 이 원리는, 최근, RIP를 통해 기능하는 잘 연구된 수용체 2종, 즉 Notch 수용체 (Morsut et al., 2016; Roybal et al., 2016b) 또는 상피 세포 부착 분자 (EpCAM, Pizem, Y., M.Sc. 본 발명자가 지도한 논문)를 적용하여, CAR T 세포 활성을 종양 세포 상의 서로 다른 2종의 항원을 동시에 인지하는 것으로 제한하도록 설계된 새로운 유전자 스위치 개발에 이용된 바 있다. 이들 연구에서, 하나의 항원에 RIP-기반한 CAR이 결합하면 유전자-조작된 세포내 도메인이 분리되어, 세포 핵으로 이동하여, 핵에서 제2의 CAR 발현을 유발한다. 본 발명과는 달리, 이러한 과정은 보호 항원의 존재 하에 임의의 잠재적인 aCAR 활성을 해체하기 위한 목적으로만 이용된다. 일부 구현예에서, 제1 절단 현상은, 절단된 aCAR이 이의 상실되는 활성화 요소의 기능적인 막-고정된 구조에 접근하는 능력을 파괴하여, 작동 모드를 획득한다.
- [0176] 전술한 제안된 작용 방식은 동일한 시냅스에 존재하는 aCAR 만 영향을 받고 더 이상 이의 항원에 생산적으로 결합하여 면역학적 시냅스를 형성할 수 없도록 국소 효과를 발휘할 것으로 예상된다. 그 결과, 다수의 비-종양 세포와 aCAR의 다중적인 상호작용이 발생할 가능성이 있더라도, 이는 세포가 추가적인 상호작용을 완전히 수행할 수 있도록 단지 일시적이고 비-기능성일 것으로 예측된다.
- [0177] aCAR의 기능이 pCAR의 존재에 전적으로 의존하므로, pCAR이 aCAR 대응물에 비해 우세하다는 것이 본 시스템의 고유한 특징이다. 소정의 T 세포에서 상대적인 pCAR 부족은 활성화 도메인 결핍으로 인해 aCAR을 비-기능성으로 만들 것이다. 일부 구현예에서, 소정의 T 세포에서 pCAR 부족은 활성화 도메인의 결핍으로 인해 aCAR을 비-기능성으로 만든다.
- [0178] 인지 도메인 및 활성화 도메인 둘다 원형질 막에 국한된다는 점이 중요하다 (Wu et al., 2015). 따라서, 활성화 도메인을 원형질 막으로부터 해리시키는 제2 절단은 이 도메인을 비-기능성으로 만들고 원치않는 세포 활성화를 방지할 것이다. 일부 구현예에서, 인지 도메인 및 활성화 도메인은 원형질 막에 위치한다. 일부 구현예에서, 제 2 절단은 활성화 도메인을 원형질 막으로부터 해리시켜, 이 도메인을 비기능성으로 만들고, 원치않는 세포 활성화를 방지한다.
- [0179] aCAR 및 pCAR은 상호 배타적인 기전을 통해 기능하도록 설계된다. pCAR에서 절단이 이행되는 능력은 저해 신호 전달의 강도에 의존하지 않으므로, 신호전달 성과 완료는 발생하지 않을 것이다. pCAR이 절단되는 한, aCAR은 이들과 이들 각각의 항원의 상호작용의 상대적인 결합력과 무관하게 기능할 수 없으므로, 이는 또 다른 결정적인 수준의 안전성을 확보하는 시나리오가 된다.
- [0180] 일부 구현예에서, 포유류 조직은 인간 조직이고, 다른 구현예에서 관련 포유류 정상 조직은 종양이 생기는 정상 조직이다.
- [0181] 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포는 T 세포, 자연 살상 세포 또는 사이토카인-유도성 살상 세포이다.
- [0182] 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 저해할 수 있는 하나 이상의 신호 전이 인자는, PD1; CTLA4; BTLA; 2B4; CD160; CEACAM, such as CEACAM1; KIRs, such as KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, LIR1, LIR2, LIR3, LIR5, LIR8 및 CD94-NKG2A; LAG3; TIM3; T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제인자 (VISTA); 인터페론 유전자의 자극인자 (STING); 면역수용체 티로신-계 저해 모티프 (ITIM)-함유 단백질, T 세포 면역글로불린 및 ITIM 도메인 (TIGIT) 및 아데노신 수용체 (예, A2aR)로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 단백질 등의, 면역 체크포인트 단백질의 신호 전이 인자와 상동적이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 단백질은 음성 면역 조절인자이다. 일부 구현예에서, 음성 면역 조절인자는 2B4, LAG-3 및 BTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0183] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 단백질은 자연 살상 세포 저해성 수용체, 예를 들어, KIR, 예로 KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3; 또는 백혈구 Ig-유사 수용체, 예로 LIR1, LIR2, LIR3, LIR5, LIR8; 및 CD94와 이종이량체를 형성하고 ITIM 2개를 포함하는 C형 렉틴 수용체인 CD94-NKG2A이다.
- [0184] iCAR에서 살상 세포 수용체를 제조 및 사용하는 방법은 US 9,745,368에 기술되어 있으며, 이 문헌은 본원에 완전히 개시되어 있는 것과 같이 원용에 의해 본원에 포함된다.

- [0185] 일부 구현예에서, 전술한 구현예들 중 어느 하나에 따른 세포의 도메인은 유연한 힌지 및 막관통 표준 모티프 (transmembrane canonic motif)를 통해 세포내 도메인과 융합한다.
- [0186] i. 표적 식별: aCAR, iCAR 및 pCAR
- [0187] 본 발명은 세포의 다형성 에피토프를 가진 후보 유전자의 식별에 기반한, aCAR, iCAR 및/또는 pCAR 표적의 식별 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR은 종양 조직 상에 발현된 임의의 세포의 단백질을 겨냥할 수 있다. 일부 구현예에서, aCAR 표적은 또한 비-종양 조직 상에 발현되고, iCAR 표적은 비-종양 조직 상에 발현되지만 종양 조직 상에는 발현되지 않는다.
- [0188] 일부 구현예에서, 후보 유전자를 식별하는 방법은, 먼저, 유전자가 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 막관통 단백질을 코딩하는지를 확인하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 후보 유전자를 식별하는 방법은 유전자가 적어도 2종의 발현된 대립유전자를 가지는지를 확인하는 단계를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 이들 대립유전자는 하나 이상의 대립유전자 변이를 나타낸다. 일부 구현예에서, 대립유전자 변이는 예를 들어, 하나 이상의 SNP, 삽입 및/또는 결손의 존재를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자에서 발견되는 대립유전자 변이는 단백질의 세포의 영역에서 기준 서열과 비교해 아미노산 변화를 유발한다. 일부 구현예에서, 유전자는 이형접합성 소실 (LOH)이 발생된 염색체 영역에 위치한다. 일부 구현예에서, 유전자는 암에서 이형접합성 소실 (LOH)이 생긴 염색체 영역에 위치한다. 일부 구현예에서, 유전자는 발현의 완전 소실이 존재하도록 유전자 변이가 이행된 염색체 영역에 위치한다. 일부 구현예에서, 발현의 완전 소실은 돌연변이로 인한 제1 대립유전자의 소실 및 LOH로 인한 제2 대립유전자의 소실로부터 발생한다. 일부 구현예에서, 발현의 완전 소실은 돌연변이로 인한 양쪽 대립유전자의 소실로 발생한다. 일부 구현예에서, 발현의 완전 소실은 LOH로 인한 양쪽 대립유전자의 소실로 발생한다. 일부 구현예에서, 유전자는 해당 영역이 LOH된 것으로 확인된 종양 타입의 기원 조직에서 발현된다. 일부 구현예에서, 유전자는 aCAR이 발현되는 하나 이상의 조직에서 적어도 발현된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 표적은 aCAR이 발현되는 주요 장기 세포에서 발현된다.
- [0189] 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프를 가진 유전자의 식별을 토대로 선택하며, 이러한 유전자는 2 이상의 발현된 대립유전자를 가진다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 이형접합성 소실된 염색체 영역에 위치한 유전자의 식별을 토대로 선택한다. 일부 구현예에서, 이론적 SNP 점수를 계산하고, 임계 한계를 결정한다. 예를 들어, SNP들 중 32%만 염색체에 종양 억제자 유전자를 가진다면, 이를 가진 것의 백분위 (percentile rank)는 0.68일 것이다. 또한, 예를 들어, 대립유전자에서 마이너 대립유전자 분율 (minor allele fraction)이 0.49 (여기서 0.5가 가능한 최고 값임)이면, 백분위는 0.99일 것이다. LOH의 비율이 0.10이고 SNP들 중 75%가 LOH 비율이 더 높다면, 백분위는 0.25일 것이다. SNP를 가진 유전자들에서 중간값에 대한 조직 전체의 발현 값의 표준 편차의 비가 1.3이고, 그 비율이 다른 유전자들 90%보다 우수하다면, 백분위는 0.9이다. 이러한 SNP에 대한 총 점수는  $0.68 \times 0.99 \times 0.25 \times 0.9 = 0.15$ 일 것이다. 일부 구현예에서, 이 LOH 후보 점수는 후보 유전자가 적합한 iCAR 또는 pCAR 표적인지를 결정하는 하나의 방법으로 이용할 수 있다. 일부 구현예에서, 표적은 LOH 점수에 기초하여 선택할 수 있다. 일부 구현예에서, 후보 유전자는 LOH 후보 점수 0.4 초과를 기준으로 LOH 후보를 iCAR 또는 pCAR 표적으로 적합한 것으로 결정한다.
- [0190] 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프를 가진 유전자로부터 선택한다. 일부 구현예에서, 표적은 1번 염색체, 2번 염색체, 3번 염색체, 4번 염색체, 5번 염색체, 6번 염색체, 7번 염색체, 8번 염색체, 9번 염색체, 10번 염색체, 11번 염색체, 12번 염색체, 13번 염색체, 14번 염색체, 15번 염색체, 16번 염색체, 17번 염색체, 18번 염색체, 19번 염색체, 20번 염색체, 21번 염색체, 22번 염색체 또는 X 염색체 상에 위치한 유전자이다.
- [0191] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 1번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAPP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRRG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27,

OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0192] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 2번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0193] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 3번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRR15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1 및 ZPLD1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0194] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 4번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0195] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 5번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLC6A1, SV2C, TENM2, TIMD4 및 UGT3A1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0196] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 6번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 6번 염색체에 위치하며, HLA 표적을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G이다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 HLA-A2이다.

[0197] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 7번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1,

OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0198] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 8번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLC05A1, TNFRSF10A 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0199] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 9번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0200] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 10번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0201] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 11번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GPPD4, GPPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLC02B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18 및 ZP1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0202] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 12번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLC01A2, SLC01B1, SLC01B7, SLC01C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8 및 VSIG10으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0203] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 13번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGGC, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6 및 TNFRSF19으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0204] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 14번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0205] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 15번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRN4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0206] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 16번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0207] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 17번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRN1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0208] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 18번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0209] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 19번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFR3, FPR1, FXDY5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR111, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFB3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0210] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 20번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SELIL2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0211] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 21번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2 및 UMODL1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0212] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 22번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0213] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 X 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR에 사용하기 위한 표적은 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0214] 일부 구현예에서, 암을 치료하기 위해 사용되는 aCAR은, 표적 단백질이 발현되는 모든 정상 조직 상에 iCAR이 발현되는 한, 종양 조직 상에 발현되는 임의의 막 단백질을 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부

구현예에서, aCAR은 임상 시험에서 종양 관련 단백질, 종양 부속 항원 및/또는 항원, 표 1에 열거된 CAR 표적뿐 아니라 표적 결합과 관련하여 iCAR이 매칭되거나 또는 쌍을 이룰 수 있는 종양 조직에서 발현되는 임의의 세포 표면 단백질에 특이적으로 결합하거나 또는 이를 겨냥할 수 있다. 일부 구현예에서, aCAR은, iCAR이 aCAR과 동일한 조직에서 또는 임의의 주요 조직에서 발현되지만 종양 세포에서는 소실되는 한, 세포의 도메인을 가진 임의의 발현된 단백질일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기에 언급된 암 유형들 중 어느 하나의 암과 같은 암을 치료하기 위해 사용되는 aCAR은, CD19과 같이, 표 1에 열거된 항원들로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, aCAR, iCAR, 및/또는 pCAR 표적은 세포의 도메인을 가진 임의의 표적이다. 일부 구현예에서, 암을 치료하기 위해 사용되는 aCAR은, 비-제한적으로, 다음과 같은 항원 목록으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다: CD19, CD20, CD22, CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Igκ, ROR1, ROR2, CD30, Lewis<sup>Y</sup>, CD33, CD34, CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2, GD3, hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR-α, L1-CAM, ErbB2, 3, 4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13Rα2, FAP, 메소틴린, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGE-A1, MUC1MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80 CD89, CDH17, CLD18, GPC3, TEM8, TGFβ1, NY-ESO-1 WT-1 및 EGFR. 일부 구현예에서, aCAR, iCAR, 및/또는 pCAR 표적은 표 1에 열거된 항원이다.

[0215] 표 1. *ClinicalTrials.gov*에 등록된 시험에서 평가한 일부를 포함한 CAR 표적 항원.

표 1

[0216]

항원	주요 구조/기능적 특징	악성	잠재적인 종양 외 표적	
혈액 악성	CD19	BCR에 의한 신호 전이에 참여하는 범-B 세포 마커	ALL, CLL, NHL, HL, PLL	정상 B 세포
	CD20	테트라-막관통, Ca 수송 및 B 세포 활성화 조절	CLL, NHL	정상 B 세포
	CD22	B-계통 특이적인 부착 수용체, 시알산-결합성 Ig형 렉틴 패밀리	ALL, NHL	정상 B 세포
	Ig κ	정상적인 인간 B 세포들 중 약 65%에서 발현되는 Ig 경쇄 이소형	CLL, NHL, MM	정상 B 세포
	ROR1	I형 오르판-수용체 티로신-키나제-유사, 종양에서 생존-신호전달 수용체	CLL, NHL	척장; 지방세포
	CD30	TNFR 구성원, NF-κB가 참여하는 세포 증식 및 생존에 대한 다면발현 효과	NHL, TCL, HL	휴지 CD8 T 세포; 활성화된 B 세포 및 Th2 세포
	Lewis <sup>Y</sup>	(CD174) 2개의 푸코스 기를 가진 약 올리고당	AML, MM	초기 골수 전구 세포
	CD33	골수단핵구 계통의 부착 분자로서 작용하는 시알산-결합성 Ig형 렉틴	AML	조혈 전구세포; 골수-단핵구 구성 전구 세포; 단핵구
	CD123	IL-3 수용체의 α 쇄	AML	BM 골수성 전구 세포; DC, B 세포; 비만 세포, 단핵구; 대식세포; 거핵구; 내피세포
	NKG2D-L	MHC-I 분자와 유사성을 공유한, NK 및 T 세포 활성화 수용체 NKG2D에 대한 리간드; 염증시 상향 조절됨	AML, MM	위장 상피, 내피 세포 및 섬유모세포;
	CD139	신데칸-1, 세포 표면 헤파란 설페이트 프로테오글리칸, ECM 수용체	MM	전구 세포 & 혈장 B 세포; 상피
BCMA	TNFR 구성원, BAFF 및 APRIL에 결합, 증식 신호 전달에 참여	MM	B 세포	
TACI		MM	단핵 세포, 심장	

고형종양	GD2	다이시알로강글리오시드	NB; 육종; 고형 종양	피부; 뉴런
	FR-α	GPI-연결된 플레이트 수용체, 감소된 플레이트 조인자를 흡수하는 기능	난소암	신장, 폐, 갑상선, 신장 & 유방 상피의 선단 표면
	L1-CAM	CD171, Ig 슈퍼패밀리의 뉴런 세포 부착 분자	NB	CNS; 교감성 신경절; 부신 수질
	ErbB2	HER2, 수용체 티로신-단백질 키나제의 EGFR 패밀리의 구성원	뇌, CNS, 신경교종, GBM, H&N, 고형 종양	위장, 호흡, 생식 & 요로 상피, 피부, 유방 & 태반; 조혈 세포
	EGFRvIII	스플라이스 변이체, 생존 촉진 신호를 지속적으로 전달하는 절단된 세포외 도메인을 코딩하는 증폭된 EGFR 유전자에서 인-프레임 결손	뇌, CNS, 신경교종, GBM	없음
	VEGFR-2	Ig 슈퍼패밀리의 III형 막관통 키나제 수용체, 혈관 내피 기능 조절	고형 종양	혈관 및 림프 내피
	IL-13R α2	IL-13 수용체 2종 중 하나의 α 체	뇌, CNS, 신경교종, GBM	정상 세포; 뇌; H&N 조직
	FAP	세포 표면 세린 프로테아제	중피종	만성 염증, 상처 치유, 조직 리모델링에서 섬유모세포
	메소텔린	기능이 미정된 40-kDa 세포 표면 당단백질	중피종, 췌장, 난소	복막, 흉막 및 심장막 중피 표면
	c-MET	간세포 성장인자 수용체 (HGFR), 이황화 연결된 α-β 헤테로다이머 수용체 티로신 키나제	TNBC	간, 위장관, 갑상선, 신장, 뇌
	PSMA	N-아세틸화된 α-연결된 산성 다이펩티다제 및 플레이트 하이드롤라제 활성을 가진, II형 막 당단백질	전립선	정상 전립선 및 장 상피 및 신장 근위 관 세포의 선단 표면
	CEA	표면 당단백질, 세포 부착 분자의 CEA-관련 패밀리와 Ig 슈퍼패밀리의 구성원	결장직장, 유방, 고형 종양	선단 상피 표면: 결장, 위, 식도 & 혀
	EGFR	ErbB1, Her1, 리간드 결합시 수용체 티로신 키나제 신호전달 세포 분화 및 증식	고형 종양	상피, 간엽 & 신경 기원의 조직
5T4	m의 세포 표면 상에 발현되는 종양-관련 항원	고형 종양	상피 기원의 조직	
GPC3	헤파란 설페이트 프로테오글리칸	고형 종양	비뇨기 조직	
ROR1	수용체 티로신 키나제 유사 오르판 수용체	고형 종양 및 CLL	비뇨기, 췌장, 결장, 난소, 뇌, 단핵구	
MUC 유전자 (MUC-1, MUC-16)	상피 표면 상에 보호성 점막 장벽을 형성하는데 필수적인 역할을 수행하는 O-당화된 단백질	고형 종양	결장, 신장, 폐, 유방, 췌장 비뇨기	
PDL1	조절 및 비-조혈 세포에 의해 발현되는 면역저해성 수용체 리간드	폐	비장, 유방	

[0217] 표 2: 기타 CAR 표적 항원

표 2

[0218]

	항원	주요 구조/기능적 특징	악성
혈액 악성	CD38	막관통 신호전달 및 세포 부착에 참여하는 표면 사이클릭 ADP 리보스 하이드롤라제	CLL, NHL, MM
	CS1	세포 표면 신호전달 림프구 활성화 분자 (SLAM)	MM
고형 종양	PSCA	Thy-1/Ly-6 패밀리의 GPI-고정된 막 당단백질	전립선, 방광, 췌장
	CD44v6	히알루로네이트 수용체 CD44의 대안적인 스플라이싱 변이체 6	H&N, 간, 췌장, 위, 유방, 결장; AML, NHL, MM
	CD44v7/8	히알루로네이트 수용체 CD44의 대안적인 스플라이싱 변이체 7/8	유방, 자궁경부
	MUC1	당단백질의 뮤신 패밀리의 밀집 당화된 구성원	결장, 폐, 췌장, 유방, 난소, 전립선, 신장, 위, H&N
	L-11r α	IL-11 수용체의 α 서브유닛	결장, 위, 유방, 전립선; 골육종
	EphA2	에리트르포이에틴-생산성 간세포암 A2 (EphA2) 수용체, 수용체 티로신 키나제의 Eph 패밀리의 구성원	신경교종; 유방, 결장, 난소, 전립선, 췌장
	CAIX	막관통 아연 금속효소	RCC; 저산소증 상태의 종양
	CSPG4	고 분자량 흑색종-관련 항원, 세포 표면 프로테오글리칸	RCC; 저산소증 상태의 종양

- [0219] ii. 인지 모이어티: aCAR, iCAR 및 pCAR
- [0220] 또한, 본 발명은 표적에 대한 특이적인 결합을 제공하도록 설계된 인지 모이어티를 제공한다. 인지 모이어티는 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR의 특이적이고 표적화된 결합을 지시할 수 있게 한다. 일부 구현예에서, 표적에 대한 특이적인 결합을 제공하도록 설계된 인지 모이어티는 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이적인 결합을 제공한다. 일부 구현예에서, 인지 모이어티는 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR의 세포외 도메인의 일부이다. 일부 구현예에서, 세포외 도메인은 항체, 그의 유도체 또는 단편, 예를 들어 인간화 항체; 인간 항체; 항체의 기능적 단편; 나노바디 (nanobody)와 같은 단일-도메인 항체; 재조합 항체; 및 단쇄 가변 단편 (ScFv)을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포외 도메인은 항체 모방체, 예를 들어 어피바디 (affibody) 분자; 아필린 (affilin); 아피머 (affimer); 아피틴 (affitin); 알파바디 (alphabody); 안티칼린 (anticalin); 아비머 (avimer); 다르핀 (DARPin); 피노머 (fynomer); 쿠니츠 (Kunitz) 도메인 펩타이드; 및 모노바디 (monobody)를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포외 도메인은 앵타머를 포함한다.
- [0221] 일반적으로, 임의의 관련 기술을 이용해, aCAR 및 pCAR 또는 iCAR의 이들의 표적에 대한 특이적인 결합을 부여하는 인지 모이어티를 조작할 수 있다. 예를 들어, iCAR-aCAR 라이브러리를 포함하는 인지 모이어티는 조합 디스플레이 라이브러리로부터 이상적으로 선택되는 마스터 인지 모이어티 풀 (master recognition moiety pool)로부터 유래할 수 있으며, 그래서:
- [0222] - 총체적으로, 선택된 인지 모이어티는 모든 인간 상염색체 22개의 양쪽 아암 각각에 존재하는 유전자 어레이의 세포-표면 산물을 표적화한다. 이웃 유전자와의 거리가 짧을수록 커버되는 범위는 넓어지고, 따라서 사용 보편성이 증가한다.
- [0223] - 선택된 유전자 각각에 대해, 각각이 인간 집단에서 우세한 여러가지 대립유전자 변이체들을 엄격하게 구별할 수 있는, 대립유전자-특이적 인지 모이어티들의 세트를 단리한다. 표적화되는 변이체의 개수가 많을수록 환자에 제공할 수 있는 치료 유전자 쌍의 개수가 많아진다.
- [0224] 소정의 대립유전자 산물은, 각 경우에서의 특정한 LOH 패턴에 따라, 한 환자에서는 잠재적인 pCAR 또는 iCAR 표적이 될 수 있고, 동일한 대립유전자를 가진 다른 환자에서는 유용한 aCAR 표적이 될 수 있다. 따라서, 적절한 인지 모이어티 유전자가 식별되면, 각각을 pCAR 또는 iCAR 및 aCAR 유전자 스캐폴드 둘다에 이식한다. 이에, 동일한 유전자에 대한 대립유전자 변이체를 겨냥하는 모든 인지 모이어티는 유사한 범위의 결합 친화성을 가지는 것이 바람직하다. 이러한 소정의 인지 모이어티 세트에서, 전체 집단에서 해당 유전자의 잠재적 대립유전자 구성들을 가장 잘 망라하도록, 모든 가능한 pCAR-aCAR 또는 iCAR-aCAR 쌍 조합들을 사전-조립할 수 있다.
- [0225] 일부 구현예에서, 환자는, 산물에 비동의 SNP 또는 덜 빈번하게는 삽입-결손의 결과로서 코딩된 폴리펩티드에서 단일 위치 차이를 가지는, 메이저 대립유전자 및 마이너 대립유전자에 대해 이형접합성이다. 일부 다른 구현예에서, 환자는 2개의 분리된 위치에서 하나의 메이저와는 다른 마이너 대립유전자 2개에 대해 이형접합성이다. 개별 환자에서의 이 유전자에 발생한 구체적인 LOH 현상에 따라, 소정의 변이체 에피토프는 한 환자에서는 iCAR 표적으로 작용하고 다른 환자에서는 aCAR 표적으로 작용할 수 있다. 일부 구현예에서, iCAR 표적으로 작용할 수 있는 변이체 에피토프는 메이저 대립유전자 변이체가 아니다. 일부 구현예에서, iCAR 표적으로 작용할 수 있는 변이체 에피토프는 마이너 대립유전자이다.
- [0226] 변이체-특이적인 mAb의 식별 (즉, 마이너 대립유전자 'a'에 의해 코딩되는 에피토프에 특이적인 mAb)은 당해 기술 분야에 널리 공지되어 있으며, 원칙적으로, 임의의 통상적인 항원 결정기에 대한 mAb의 식별과 유사하며, 일반적으로, 예를 들어 파지 (Barbas et al., 2004), 리보솜 (Hanes et al., 1997) 또는 효모 (Chao et al., 2006) 디스플레이 기술을 이용하여, 재조합 항체 scFv 라이브러리의 고성능 스크리닝을 통해 가장 잘 달성할 수 있다. 라이브러리 스크리닝에 사용되는 항원은, 2개의 대립유전자 간의 변이 위치를 아우르는 합성 펩타이드 (전형적으로 아미노산 15-20개 이상 길이), 상업적으로 입수가가능하거나 또는 당해 분야에서 활동 중인 다수 사업체들 중 어느 한 곳에서 맞춤 합성할 수 있는 재조합 전장 폴리펩티드, 또는 심지어, 대립유전자를 발현하지 않는 동일 세포에서 수행된 추출 단계 후에 수행된 유전자 형질감염 (예, pGEM4Z/A64 벡터에서 시험관내 mRNA 전사를 위한 주형으로서 클로닝된 전장 cDNA를 코딩하는 mRNA의 전기전공 (Boczkowski et al., 2000))에 의해 높은 수준으로 대립유전자 변이체를 발현하는 전체 세포일 수 있다. 이들 방법은 널리 공지되어 있으며, 예를 들어, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) Green and Sambrook, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Antibodies: A Laboratory Manual (Second Edition), Edited by Edward A. Greenfield, 2012 CSH laboratory press; Using Antibodies, A laboratory manual by Ed Harlow and David Lane, 1999 CSH

laboratory press에 기술되어 있다.

- [0227] 정의상, 메이저 대립유전자 ('A')에 의해 코딩되는 상응하는 에피토프 (동일한 위치)는 단일 아미노산 (SNP)의 정체 또는 길이 (삽입-결손; 예를 들어 삽입 또는 결손)에 있어 'a'에 의해 생성된 것과 상이한 고유한 항원 결정기를 생성한다. 이 결정기는, 원칙적으로, 동일한 또는 기타 항체 디스플레이 스크리닝 기술에 의해 식별된 여러가지 mAb 세트에 의해 인지될 수 있다. 식별된 mAb 2 세트 각각에서 개별 구성원이 2종의 에피토프 또는 변이체를 구별하는 능력, 예를 들어, 제1 세트의 항체는 대립유전자 'a'의 산물에 결합하지만 'A'의 산물에는 결합하지 않고, 제2 세트의 Ab는 'A'에 똑같이 결합하지만 'a'에 결합하지 않는 것은, ELISA 또는 유세포 측정 (Skora et al., 2015) 또는 기타 세포 염색 기술과 같은 통상적인 결합 분석을 사용해, 측정할 수 있다. 대안적으로, 'A'에 결합하지 않는 'a'-결합성 Ab를 식별하고, 이의 단백질 서열을 결정한 다음, 잠재적으로 전산 방법을 사용해 'A'에 결합하지만 'a'에는 결합하지 않는 '상보적인' 항체 scFv의 서열을 예측할 수 있다. 이러한 전산 방법은 예를 들어 (Sela-Culang et al., 2015a, b)를 참조한다.
- [0228] 일부 구현예에서, 예를 들어 표적 유전자로서 HLA-클래스 I 유전자좌 유전자 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C와 관련하여, 다수의 대립유전자-특이적인 단일클론 항체들을 이용할 수 있으며, 예를 들어 비-제한적으로 실시예 3에서 열거된 항체 등이 있다.
- [0229] 일부 구현예에서, 인지 모이어티를 구축하는데 사용하기 위한 표적은 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프를 포함한다. 일부 구현예에서, 표적은 1번 염색체, 2번 염색체, 3번 염색체, 4번 염색체, 5번 염색체, 6번 염색체, 7번 염색체, 8번 염색체, 9번 염색체, 10번 염색체, 11번 염색체, 12번 염색체, 13번 염색체, 14번 염색체, 15번 염색체, 16번 염색체, 17번 염색체, 18번 염색체, 19번 염색체, 20번 염색체, 21번 염색체, 22번 염색체 또는 X 염색체에 위치한 유전자의 산물이다.
- [0230] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 1번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.
- [0231] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 1번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유

전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0232] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 2번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0233] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 2번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO 및 TRABD2A로 이루어진 군 으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0234] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 3번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1 및 ZPLD1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0235] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 3번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1 및 ZPLD1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0236] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 4번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFR1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0237] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 4번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFR1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8,

PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0238] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 5번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLC06A1, SV2C, TENM2, TIMD4 및 UGT3A1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0239] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 5번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLC06A1, SV2C, TENM2, TIMD4 및 UGT3A1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0240] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 6번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL2ORA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0241] 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 6번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL2ORA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0242] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 7번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN 및 ZP3로 이루

어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0243] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 7번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0244] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 8번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLC05A1, TNFRSF10A 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0245] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 8번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLC05A1, TNFRSF10A 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0246] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 9번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0247] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 9번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0248] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 10번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0249] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 10번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1,

NRG3, NPFFR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0250] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 11번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18 및 ZP1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0251] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 11번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GDPD4, GDPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLCO2B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18 및 ZP1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0252] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 12번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLC01A2, SLC01B1, SLC01B7, SLC01C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8 및 VSIG10으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0253] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 12번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1,

KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLC01A2, SLC01B1, SLC01B7, SLC01C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8 및 VSIG10으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0254] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 13번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6 및 TNFRSF19으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0255] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 13번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6 및 TNFRSF19으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0256] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 14번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0257] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 14번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0258] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 15번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRN4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0259] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 15번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRN4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0260] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 16번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

- [0261] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 16번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GPPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.
- [0262] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 17번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRN1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, ORIG1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.
- [0263] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 17번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRN1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, ORIG1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.
- [0264] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 18번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.
- [0265] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 18번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.
- [0266] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 19번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR111, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFB3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.
- [0267] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에서 사용하기 위한 인지 모이어티는 19번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터

터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에서 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR111, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0268] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 20번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0269] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 20번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0270] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 21번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2 및 UMODL1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0271] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 21번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2 및 UMODL1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0272] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 22번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0273] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 22번 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0274] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 X 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4,

PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0275] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 X 염색체로부터 선택되는 유전자로부터 유래되는 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0276] 이들 항체의 가변 영역을 코딩하는 서열은 적절한 하이브리도마로부터 용이하게 클로닝할 수 있으며, 예를 들어, 특정 HLA 클래스-I 대립유전자 에피토프 변이체에 대한 scFv를 비롯한 임의의 목적한 표적에 대한 scFv를 코딩하고, 예를 들어, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) Green and Sambrook, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Antibodies: A Laboratory Manual (Second Edition), Edited by Edward A. Greenfield, 2012 CSH laboratory press; Using Antibodies, A laboratory manual by Ed Harlow and David Lane, 1999 CSH laboratory press에 개시된 널리 이용가능한 도구를 이용해 CAR 구조체에 병합하는데 적합한 유전자를 구축하는데 이용할 수 있다.

[0277] 본 발명은 LOH로 인해 종양 세포에서 소실되고 세포-표면 산물을 코딩하는 다형성 변이체의 DNA 서열을 포함하는 데이터베이스를 제공하며, 여기서 DNA 서열에서의 변이는 코딩된 단백질의 세포외 도메인의 아미노산 서열에서 변이를 생성한다. 이 정보는, 특히 다양한 종양 유형들에서 유전자의 상대적인 카피 수를 추정하는데 사용할 수 있는 데이터를 제공하는 일반 대중에게 공개된 여러 데이터베이스, 예를 들어 공공 미국 국립 보건원 (National Institute of Health) TCGA 데이터 포털 (<https://gdc.cancer.gov/>)에서 입수가능한 TCGA 및 TCGA에 대한 cBio 포털 (<http://www.cbioportal.org>) (Cerami et al., 2012, Gao et al., 2013); 특히 다양한 집단에서 SNP 변이체의 대립유전자 빈도를 제공하는 진유전체 통합 컨소시엄 (Exome Aggregation Consortium, ExAC) 데이터베이스 ([exac.broadinstitute.org](http://exac.broadinstitute.org), Lek et al., 2016); 유전자에 대한 조직 발현 데이터를 포함하는 유전자형-조직 발현 (GTEx) 데이터베이스 v6p (dbGaP Accession phs000424.v6.p1) (<https://gtexportal.org/home>, Consortium GT. Human genomics, 2015); 및 단백질의 구조 정보를 제공하는 데이터베이스, 예를 들어 인간 단백질 아틀라스 (Uhlen et al., 2015); N-당화된 세포-표면 단백질의 질량-분광측정에 기반한 데이터베이스, 세포 표면 단백질 아틀라스 (Bausch-Fluck et al., 2015), 및 UniProt 데이터베이스 ([www.uniprot.org/downloads](http://www.uniprot.org/downloads))에서, 검색한다.

[0278] 본 발명은 LOH가 이행된 발현된 세포-표면 단백질을 코딩하는 유전자의 전체 게놈 (genome-wide) 식별 방법을 추가로 제공한다. 식별된 유전자는 다음과 같은 기준을 충족해야 한다: 1) 유전자는 막관통 단백질을 코딩하고, 따라서 세포 표면에 일부가 발현되어 iCAR 또는 pCAR 결합이 허용된다; 2) 유전자는 (적어도 하나의 확인된 인종 집단에서) 적어도 2개의 발현된 대립유전자를 가진다; 3) 유전자에서 발견된 대립유전자 변이는 단백질의 세포외 영역에서 기준 서열을 기준으로 아미노산 변화를 유발한다; 4) 유전자는 암에서 LOH 이행된 염색체 영역에 위치한다; 5) 유전자는 상응하는 영역이 LOH를 겪는 것으로 밝혀진 종양 유형의 기원 조직에서 발현된다.

[0279] 원칙적으로, iCAR 또는 pCAR가 결합하는 표적을 코딩하기에 적합한 전술한 유전자들은 데이터베이스 마이닝 (database mining)뿐만 아니라 당업계 공지된 임의의 방법에 의해 식별할 수 있다. 예를 들어, LOH 개념은 새로운 것이 아니며, 특정 종양에서 특정 유전자, 염색체 또는 게놈/염색체 영역에 대한 LOH 정보가 이미 문헌에 공개되어 있으므로, 후보 유전자는 이용가능한 간행물로부터 유추할 수 있다. 대안적으로, 이러한 정보는 마이크로세탈라이트 프로브와 같은 염색체 마커를 이용한 전장 게놈 혼성화 (Medintz et al., 2000, *Genome Res.* 2000 Aug; 10(8): 1211-1218) 또는 다른 적절한 방법 (Ramos and Amorim, 2015, *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 51(3):198-196)으로 확인할 수 있다.

[0280] 마찬가지로, 대립유전자 변이체에 관한 정보는 다양한 데이터베이스에서 공개적으로 이용가능하며, 또한 개인맞춤 사례에서 의심되는 영역의 게놈을 서열분석함으로써 쉽게 입수할 수 있다. 또한, 단백질 구조 및 발현 패턴에 대한 정보는 전술한 바와 같이 공개적으로 이용가능하며, 쉽게 접근가능하다.

[0281] 즉, 다수 유전자 및 SNP에 대한 다양한 기준에 관한 정보는 공개적으로 이용가능하며, 이를 검색하는 기술이 일반적으로 공지되어 있어, 본 발명의 주요 신규성은 iCAR 또는 pCAR 인지용 표적을 선택하기 위한 기준으로서 LOH를 이용하고, 특정 환자에서 소실된 특정 대립유전자에 기반한 개인맞춤화된 치료 개념이라는 점에 있다.

[0282] 비-제한적인 예로, 본 발명에 따르면, 비-고전적인 HLA-I 및 HLA-II 유전자 (예, HLA-A, HLA-B HLA-C, HLA-E,

HLA-F, HLA-G, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR HLA-K 및/또는 HLA-L) 등의 HLA 유전자 LOH는, 다양한 빈도로, 다수의 중앙 유형들에서 비교적 빈번한 현상으로 (도 10a 내지 도 10c 참조), 이는 이들 유전자를 본 발명의 목적으로 iCAR/pCAR 인지 표적으로서 사용하기 적합한 후보가 되는 것으로, 확인되었다.

[0283] 임의의 건강한 필수 조직에서 정상 세포 상에 pCAR 또는 iCAR 표적 없이 aCAR 표적을 인지하는 것은 좋지 않으며, 엄격히 금지된다. 이와 관련하여, 본원에서 제안된 pCAR-aCAR 또는 iCAR-aCAR 쌍의 개념은, i) 선택 유전자를 발현하지 않는 세포 (aCAR 및 pCAR 또는 iCAR이 동일한 유전자의 서로 다른 산물을 표적화하는 경우)는 aCAR 표적 항원의 부재로 인해 표적화되지 않고; ii) 이 동일한 유전자를 발현하는 정상 세포는 양쪽 대립유전자 공동 발현하지만 pCAR 또는 iCAR의 우세로 인해 표적화되지 않고; iii) pCAR 또는 iCAR이 다형성 하우스키핑 유전자의 산물을 표적화하는 경우, 신체 모든 세포가 보호될 것이며; iv) aCAR 표적을 발현하지만 pCAR 또는 iCAR 표적은 발현하지 않는 중앙 세포만 공격받게 될 것이므로, 페일 세이프 작동 스위치 (fail-safe activation switch)가 형성된다. 일부 구현예에서, 임의의 건강한 필수 조직의 정상 세포 상에 pCAR 또는 iCAR 표적 없이 aCAR 표적을 인지하는 것은 유해할 것이다. 일부 구현예에서, 선택 유전자를 발현하지 않는 세포 (aCAR 및 pCAR 또는 iCAR 표적이 동일한 유전자의 서로 다른 산물을 표적화하는 경우)는 aCAR 표적 항원의 부재로 인해 표적이 되지 않을 것이다. 일부 구현예에서, 이 동일한 유전자를 발현하는 정상 세포는 양쪽 대립유전자 공동 발현할 것이며, pCAR 또는 iCAR의 우세로 인해 표적이 되지 않을 것이다. 일부 구현예에서, pCAR 또는 iCAR이 다형성 하우스키핑 유전자의 산물을 표적화 한다면, 신체의 모든 세포들이 보호될 것이다. 일부 구현예에서, aCAR 표적을 발현하지만 pCAR 또는 iCAR 표적은 발현하지 않는 중앙 세포만 공격받게 될 것이다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍 표적 모두 또는 aCAR/pCAR 쌍 표적 모두를 발현하는 세포는 보호될 것이다.

[0284] 상기에서 강조한 바와 같이, 본 발명에 따르면, 저해 신호가 활성화 신호에 비해 영구적으로 우세를 차지하여야 한다. 따라서, aCAR 유전자는 이의 iCAR 파트너 없이는 소정의 살상 세포에서 항상 발현되지 않도록 보장되어야 한다. 이는, 단쇄 산물로서, 또는 예를 들어, 내부 리보솜 도입 부위 또는 수종의 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드들 중 하나에 기반한 적절한 바이시스트론 방식을 통해, 이들 iCAR-aCAR 유전자 쌍들의 탠덤 어셈블리 (tandem assembly)를 통해 구현할 수 있다. 바이시스트론 발현에 대해 보고된 방대한 양의 데이터에서 시사된 바와 같이, iCAR 유전자는 화학량론적으로 유리하기 위해 항상 aCAR 파트너의 상류에 위치한다. 다른 옵션은 살상 세포가 aCAR 및 iCAR 또는 pCAR 모두를 발현하도록 조작하는 것이다. 물론, pCAR-aCAR 유전자 쌍을 사용하는 경우 이는 문제가 되지 않는다. 일부 구현예에서, 저해 신호는 활성화 신호에 비해 우세하다. 일부 구현예에서, aCAR 및 iCAR 또는 pCAR은 동일한 세포에서 동시에 발현된다.

[0285] iCAR 우세를 보장하기 위한 또 다른 매력적인 옵션은, 이중이량화 소분자의 존재시에만 2개가 하나의 기능성 수용체로 조립될 수 있도록, aCAR 인지 모이어티를 이의 활성화/공동-자극 부분과 분리시키는 것이다. 정확한 타이밍, 함량 및 위치에 의해 이러한 분할된 수용체의 작동 상태를 엄격하게 제어하는 능력이 최근 항종양 CAR의 맥락에서 입증되어 있다 (Wu et al., 2015).

[0286] 또한, 예상된 우세는 선택한 aCAR 플랫폼의 신호전달 강도와 '경쟁'해야 하는 선택한 iCAR 설계에서 세포내 영역에 병합되는 iCAR 신호전달 요소들의 개별 구성에서 기인할 가능성이 있다. 이 능력은 또한 (상기에서 다룬) 각각의 표적 에피토프에 대한 2개의 인지모이어티의 상대적인 친화성 및 이들 상호작용의 전체적인 결합력에 의해 영향을 받게 될 것이다. 후자와 관련하여, 제안된 전략은 유리한 iCAR/aCAR 화학량론과 정상 세포에서 이들 각각의 표적 에피토프의 균형잡힌 분포를 보장한다. 다시 말해, pCAR-aCAR 유전자 쌍을 사용하는 경우 이는 문제가 되지 않는다.

[0287] 안전성을 추가로 확보하기 위해, CAR 및 TCR 면역요법 분야에서 현재 실행되는 다른 통상적인 수단, 예를 들어 자살 유전자 사용 또는 일시적 발현에서 mRNA 전기천공의 사용을 채택할 수 있다.

[0288] LOH는 종종 세포가 소정의 유전자의 단 하나의 대립유전자만 가지게 만들지만, 종종 나머지 염색체 또는 염색체 부분의 중복이 동반되어, '카피 수 중성'-LOH가 형성된다 (Lo et al., 2008; O'Keefe et al., 2010; Sathirapongsasuti et al., 2011). 이러한 상황에서, 에피토프-소실 변이체의 출현에는 2가지 독립적인 현상이 필요하므로, 따라서 가능성이 낮다. 유전자-변형된 세포에서 여러가지 비율로 발현되는 pCAR-aCAR 또는 iCAR-aCAR 쌍 수종은, 표적 대립유전자의 단일 카피만 유지된 '카피 수 상실' LOH 경우에서도 돌연변이 탈출 사례 발생을 방지할 것이다. 하지만, 단일-카피 유전자가 본질적이 될 수 있어, 이의 기능 소실 가능성은 훨씬 낮을 것이다.

[0289] 전술한 내용에 비추어, 일 측면에서, 본 발명은 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수

있는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공하며, 이때 iCAR은 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 포유류 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 관련있는 포유류 정상 조직의 모든 세포 상에 또는 aCAR이 발현되는 주요 장기 상에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인; 및 작동자 면역 세포를 저해하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 포함한다.

[0290] 일부 구현예에서, 종양 억제자 유전자는 종양에서 LOH로 인해 소실될 가능성이 있으므로, 다형성 세포 표면 에피토프는 종양 억제자 유전자 또는 종양 억제자 유전자에 유전자적으로 연결된 유전자에 의해 코딩되는 항원의 일부이다. 또한, 다형성 세포 표면 에피토프는 암 세포에서 종종 LOH를 겪는 염색체 또는 염색체 아암, 예를 들어 비-제한적으로, 염색체 아암 3p, 6p, 9p, 10q, 17p, 17q 또는 18q, 또는 19번 염색체에 일반적으로 존재하는 유전자에 의해 코딩되는 항원의 일부일 수 있다. 이들 에피토프는 본원에 기술된 관련 데이터베이스에서 쉽게 동정할 수 있다.

[0291] 일부 구현예에서, 다형성 세포 표면 에피토프는 하우스키핑 유전자 산물, 예를 들어 미분류된 AP2S1, CD81, GPAA1, LGALS9, MGAT2, MGAT4B, VAMP3; 세포 부착 단백질 CTNNA1 NM\_001903, CTNNB1, CTNNBIP1 NM\_020248, CTNNB1 NM\_030877, CTNND1 NM\_001085458 텔타 카테닌; 채널 또는 수송체 ABCB10 NM\_012089, ABCB7 NM\_004299, ABCD3 NM\_002857, ABCE1 NM\_002939, ABCF1 NM\_001090, ABCF2 NM\_005692, ABCF3 NM\_018358, CALM1[1][7] 칼슘 이온을 포획하는 칼모듈린 (calmodulin), TETRAIN 또는 테트라사이클린 수송체-유사 단백질로도 지칭되는 MFS10 과 유사한 MFS11 NM\_024311[1], MFS12 NM\_174983, MFS13 NM\_138431, MFS15 NM\_032889, SLC15A4 NM\_145648, SLC20A1 NM\_005415, SLC25A11[1] 미토콘드리아 옥소글루타레이트/말레이트 운반체, SLC25A26 NM\_173471, SLC25A28 NM\_031212, SLC25A3 NM\_002635, SLC25A32 NM\_030780, SLC25A38 NM\_017875, SLC25A39 NM\_016016, SLC25A44 NM\_014655, SLC25A46 NM\_138773, SLC25A5 NM\_001152, SLC27A4 NM\_005094, SLC30A1 NM\_021194, SLC30A5 NM\_022902, SLC30A9 NM\_006345, SLC35A2 NM\_005660, SLC35A4 NM\_080670, SLC35B1 NM\_005827, SLC35B2 NM\_178148, SLC35C2 NM\_015945, SLC35E1 NM\_024881, SLC35E3 NM\_018656, SLC35F5 NM\_025181, SLC38A2 NM\_018976, SLC39A1 NM\_014437, SLC39A3 NM\_144564, SLC39A7 NM\_006979, SLC41A3 NM\_017836, SLC46A3 NM\_181785, SLC48A1 NM\_017842, ACVRL1 TGF 베타 수용체 패밀리의 렌두-오슬러-웨버 증후군과 유사한 수용체 ACVR1 NM\_001105, ACVR1B NM\_004302, CD23[1] FCER2 저 친화성 IgE 수용체 (렉틴); 및 RNA 스플라이싱에 관여하는 DDX39B로도 지칭되는 HLA/면역글로불린/세포 인지군 BAT1, BSG 바시긴 면역글로불린 슈퍼패밀리, 세포외 메탈로프로테이나제, MIF 대식세포 이동 저해 인자 및/또는 TAPBP [위키피디아]이다. 일부 구현예에서, 하우스키핑 유전자는 HLA I형, G-단백질-커플링된 수용체 (GPCR), 이온 채널 또는 수용체 티로신 키나제, 바람직하게는 HLA-A, HLA-B, HLA-C이다. 일부 구현예에서, 하우스키핑 유전자는 HLA-A이다. 일부 구현예에서, 하우스키핑 유전자는 HLA-B이다. 일부 구현예에서, 하우스키핑 유전자는 HLA-C이다.

[0292] aCARs 및 pCAR 또는 iCAR에 이의 표적에 대한 특이적인 결합을 부여하는 인지 모이어터를 조작하기 위해 임의의 관련 기술을 이용할 수 있다. 일부 구현예에서, 세포의 도메인은 (i) 항체, 그의 유도체 또는 단편, 예를 들어 인간화 항체; 인간 항체; 항체의 기능성 단편; 나노바디 (nanobody)와 같은 단일-도메인 항체; 재조합 항체; 및 단쇄 가변성 단편 (ScFv); (ii) 항체 모방체, 예를 들어 어피바디 (affibody) 분자; 아필린 (affilin); 아피머 (affimer); 아피틴 (affitin); 알파바디 (alphabody); 안티칼린 (anticalin); 아비머 (avimer); 다르핀 (DARPin); 피노머 (fynomer); 쿠니츠 (Kunitz) 도메인 펩타이드; 및 모노바디 (monobody); 또는 (iii) 앵타머를 포함한다. 바람직하게는, 세포의 도메인은 ScFv를 포함한다.

[0293] 일부 구현예에서, aCAR은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, aCAR 세포의 도메인은 에피토프, 즉 종양-관련 항원 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, aCAR 세포의 도메인은 적어도 관련 종양과 정상 조직의 세포들에 공유되는 종양-관련 항원 에피토프에 결합하고, 세포내 도메인은 작동자 면역 세포를 활성화 및/또는 공동-자극하는 적어도 하나의 신호 전이 인자를 포함한다. 일부 구현예에서, 암을 치료하기 위해 사용되는 aCAR은, 표적화된 aCAR 단백질이 발현되는 모든 정상 조직에서 iCAR 표적이 발현되는 한, 종양 조직 상에 발현되는 임의의 막 단백질을 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, aCAR은, 비-제한적으로, 다음의 항원 목록으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다: CD19, CD20, CD22, CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Igκ, ROR1, ROR2, CD30, LewisY, CD33, CD34, CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2, GD3, hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR-α, L1-CAM, ErbB2,3,4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13R α2, FAP, 메소틸린, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGE-A1, MUC1MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80 CD89, CDH17, CLD18, GPC3,

TEM8, TGFBI, NY-ESO-1, WT-1 및 EGFR. 일부 구현예에서, aCAR은 CD19에 결합한다. 일부 구현예에서, aCAR은 CD19의 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.

- [0294] 일부 구현예에서, aCAR은, 비-제한적으로, 다음의 항원 목록으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다: 5T4, AFP, AXL, B7H6, CD133, CD19, CD20, CD22, CD30, CD44v6, CD5, CD7, CD70, CD80, CD89, CDH17, CEA, CLD18, CLEC14a, CLL-1, cMet, CS1, EGFR, EGFRvIII, EpCAM, NY-ESO-1, FAP, FHSR, GP100, GPC3, HER2, IL-13R<sub>1</sub>, IL-13R<sub>2</sub>, K-Ras, 메소텔린, MUC1, MUC-CD, NKG2D 리간드, NKG2D<sub>2</sub> 리간드, PDL1, PSCA, PSMA, ROR1, ROR-2, 서비빈, TEM8, TGF, VEGFR2 및 ALK.
- [0295] 일부 구현예에서, iCAR은 에프린 수용체 (예, EPHA 7) 및 클라우딘을 포함하지 않는 항원의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, iCAR은 HLA 유전자 (HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자)의 단일 대립유전자 변이체에 의해 코딩되는 에피토프를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0296] iii. 세포내 도메인: aCAR, iCAR 및 pCAR
- [0297] 또한, 본 발명은 aCAR, iCAR 및/또는 pCAR의 일부로서의 세포내 도메인을 제공한다. 일부 구현예에서, 세포내 도메인은 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 도메인은 작동자 면역 세포를 저해하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함한다.
- [0298] 일반적으로, 임의의 관련 기술을 사용하여, aCAR 및 pCAR 또는 iCAR에 세포 기능을 유도하는 능력, 예를 들어 작동자 면역 세포를 저해하거나 또는 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극하는 능력을 부여하는 신호 전이 인자를 조작할 수 있다.
- [0299] 일부 구현예에서, 하나 이상의 신호 전이 인자는 작동자 면역 세포를 저해할 수 있다. 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 저해할 수 있는 하나 이상의 신호 전이 인자는 면역 체크포인트 단백질의 신호 전이 인자와 상동성을 가진다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 단백질은 PD1, CTLA4, BTLA, 2B4, CD160, CEACAM (예, CEACAM1 포함), KIR (예, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, LIR1, LIR2, LIR3, LIR5, LIR8 및 CD94 포함), NKG2A; LAG3; TIM3; T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제인자 (VISTA); 인터페론 유전자의 자극인자 (STING); 면역수용체 티로신계 저해 모티프 (ITIM)-함유 단백질, T 세포 면역글로불린 및 ITIM 도메인 (TIGIT), 및 아데노신 수용체 (예, A2aR)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 단백질은 음성 면역 조절인자이다. 일부 구현예에서, 음성 면역 조절인자는 2B4, LAG-3 및 BTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0300] 일부 구현예에서, 신호 전이 인자는 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극할 수 있다. 일부 구현예에서, 신호 전이 인자는 활성화 도메인이다. 일부 구현예에서, 신호 전이 인자는 공동-자극성 도메인이다. 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극하는 신호 전이 인자는 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM), 활성화 살상 세포 면역글로불린-유사 수용체, 또는 어댑터 분자, 및/또는 공동-자극성 신호 전이 인자와 상동적이다. 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극하는 신호 전이 인자는 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM)와 상동적이다. 일부 구현예에서, ITAM은, 비-제한적으로, CD3 $\zeta$  또는 FcR $\gamma$  쇄를 포함하는 단백질로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극하는 신호 전이 인자는 활성화 살상 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR)와 상동적이다. 일부 구현예에서, KIR은 예를 들어, 비-제한적으로, KIR2DS 및 KIR3DS를 포함한다. 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극하는 신호 전이 인자는 어댑터 분자와 상동적이다. 일부 구현예에서, 어댑터 분자는 예를 들어, 비-제한적으로 DAP12를 포함한다. 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극하는 신호 전이 인자는 공동-자극성 신호 전이 인자와 상동적이다. 일부 구현예에서, 공동-자극성 신호 전이 인자는, 비-제한적으로, CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40) 및/또는 GITR을 포함하는 단백질로부터 유래된다. 일부 구현예에서, aCAR은 신호 전이 인자를 포함한다.
- [0301] 일부 구현예에서, 세포의 도메인은 유연한 힌지 및 막관통 표준 모티프를 통해 세포내 도메인에 융합된다.
- [0302] 일부 구현예에서, pCAR의 이용은, 인지 유닛 및 공동-자극성 인자 (예, CD28, 4-1BB)로부터 aCAR의 활성화 모이 어터 (FcR $\gamma$ /CD3- $\zeta$ )의 분리를 가능하게 해준다. 일부 구현예에서, 서열번호 38의 4-1BB 서열 (1024-1149)은 서열번호 37의 CD28 신호전달 도메인 (1021-1677)으로 치환할 수 있다. 일부 구현예에서, 이들 인자들은 2종의 다른 폴리펩타이드 산물로 유전자 수준에서 배치된다. 일부 구현예에서, aCAR 기능에 필수적인, 이들 인자들의 재-결합은 각각의 폴리펩타이드에 개별적으로 포함된 각각의 결합 부위를 연결할 수 있는 이중이량화 약물의 부가

에 의해서만 이루어진다.

- [0303] iCAR은, 활성화 도메인 (예를 들어 FcR $\gamma$  또는 CD3- $\zeta$ ) 대신, T 세포 활성화를 길항할 수 있는 저해성 수용체로부터 유래된 신호전달 도메인을 가진다. 일부 구현예에서, iCAR은 T 세포 활성화를 길항할 수 있는 저해성 수용체로부터 유래된 신호전달 도메인을 가진다. 일부 구현예에서, iCAR 신호전달 도메인은 예를 들어, 비-제한적으로, CTLA-4, PD-1 또는 NK 저해성 수용체 등의 저해성 수용체로부터 유래한다.
- [0304] iv. CAR-T 벡터 구축 (aCAR; iCAR; pCAR)
- [0305] 일부 구현예에서, aCAR은 제1 핵산 벡터에 의해 코딩되고, iCAR 또는 pCAR은 제2 핵산 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, aCAR은 제1 핵산 벡터에 의해 코딩되고, iCAR 또는 pCAR은 제2 핵산 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, aCAR은 제1 핵산 벡터에 의해 코딩되고, iCAR 또는 pCAR은 제2 핵산 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 제2 벡터에 존재한다.
- [0306] 일부 구현예에서, 본 발명은 전술한 구현예들 중 어느 하나에 정의되는 본 발명의 핵산 분자, 및 이 핵산 분자에 작동가능하게 연결된 하나 이상의 조절 인자, 예를 들어 프로모터를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0307] 일부 구현예에서, 벡터는 렌티바이러스 (LV) 벡터이다. 일부 구현예에서, LV 벡터는 상업적으로 입수가 가능한 LV 벡터이다. 일부 구현예에서, LV 벡터는 pLVX-Puro, pLVX-IRES-Puro/Neo/Hygro, pLVx-EF1a-IRES (TAKARA) 및/또는 pcLV-EF1a (Sirion)를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 일부 구현예에서, LV 벡터는 pLVX-Puro이다. 일부 구현예에서, LV 벡터는 pLVX-IRES-Puro/Neo/Hygro이다. 일부 구현예에서, LV 벡터는 pLVx-EF1a-IRES (TAKARA)이다. 일부 구현예에서, LV 벡터는 pcLV-EF1a (Sirion)이다.
- [0308] 일부 구현예에서, 벡터는 EF1 프로모터를 포함한다. 일부 구현예에서, 벡터는 CMV 프로모터를 포함한다. 일부 구현예에서, 벡터는 PGK 프로모터를 포함한다. 일부 구현예에서, 벡터는 CD8 힌지를 포함한다. 일부 구현예에서, 벡터는 CD28 TM 및 41BB 공동-자극성 도메인을 포함한다.
- [0309] 일부 구현예에서, 벡터는 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인, 및 작동자 면역 세포를 활성화 및/또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 포함하는 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 추가로 포함하며, 여기서 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 적어도 관련 종양과 정상 조직의 세포에 의해 공유되는 것이다.
- [0310] 일부 구현예에서, 벡터에 포함된 핵산에 의해 코딩되는 aCAR의 세포의 도메인은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하고, iCAR의 세포의 도메인은, aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 것과는 다른 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다.
- [0311] 일부 구현예에서, 벡터에 포함된 핵산에 의해 코딩되는 iCAR의 세포의 도메인은, 예를 들어 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자를 비롯한 HLA 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나; 또는 **표 8**에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥한다.
- [0312] 일부 구현예에서, 벡터에 포함된 핵산에 의해 코딩되는 aCAR의 세포의 도메인은 **표 1**에 열거된 항원, 예를 들어 CD19으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, aCAR 표적은 세포의 도메인을 가진 임의의 표적이다.
- [0313] 일부 구현예에서, 벡터에 포함된 핵산에 의해 코딩되는 iCAR의 세포의 도메인은, 예를 들어 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자를 비롯한 HLA 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 **표 8**에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하며; 벡터에 포함된 핵산에 의해 코딩되는 aCAR의 세포의 도메인은 **표 1**에 열거된 항원, 예를 들어 CD19으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, aCAR 표적은 세포의 도메인을 가진 임의의 표적이다.
- [0314] 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극하는 aCAR의 하나 이상의 신호 전이 인자는, 예를 들어 CD3 $\zeta$  또는 FcR $\gamma$  쇄의 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM); 예를 들어 KIR2DS 및 KIR3DS의 활성화 KIR 막관통 도메인 또는 양으로 하전된 측쇄, 또는 양으로 하전된 아미노산 잔기를 포함하는 활성화 살상 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR)의 막관통 도메인, 또는 DAP12와 같은 어댑터 분자; 또는 예를 들어 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB) 또는 CD134 (OX40)의 공동-자극성 신호 전이 인자와 상동한 것이다. 일부 구현예에서, 서열번호 38의 4-1BB 서열 (1024-1149)은 서열번호 37의 CD28 신호전달 도메인 (1021-1677)으로 치환될 수

있다.

- [0315] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 벡터에 의해 발현되고, aCAR은 제2 벡터에 의해 발현된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 모두 동일한 벡터에 의해 발현된다.
- [0316] 일부 구현예에서, 벡터의 뉴클레오티드 서열은, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 내부 리보솜 도입 부위 (IRES)를 포함한다. 일반적으로, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 임의의 순차적 순서일 수 있지만, 특정 구현예에서, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치한다.
- [0317] 일부 구현예에서, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 단일 벡터에 코딩된다. 일부 구현예에서, 벡터는, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에는, 내부 리보솜 도입 부위 (IRES)를 포함한다. 일부 구현예에서, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치한다. 일부 구현예에서, 뉴클레오티드 서열은, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 위치한 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 벡터의 뉴클레오티드 서열은, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드는, 비-제한적으로, 토세아 아시그나 바이러스 (TaV) 유래 T2A, 구제역 바이러스 (FMDV) 유래 F2A, 에퀀 리니티스 A 바이러스 (ERAV) 유래 E2A 및/또는 돼지 테스코바이러스-1 (PTV1) 유래 P2A를 포함한다. 일부 구현예에서, 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드는 토세아 아시그나 바이러스 (TaV) 유래 T2A이다. 일부 구현예에서, 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드는 구제역 바이러스 (FMDV) 유래 F2A이다. 일부 구현예에서, 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드는 에퀀 리니티스 A 바이러스 (ERAV) 유래 E2A이다. 일부 구현예에서, 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드는 돼지 테스코바이러스-1 (PTV1) 유래 P2A이다.
- [0318] 일부 구현예에서, 벡터는 유연한 링커를 통해 iCAR에 연결된 구성적 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0319] 면역 세포는 예를 들어 RNA 형질감염에 의해 또는 진핵생물 세포 또는 바이러스 벡터에서의 복제 및/또는 전사에 적합한 플라스미드에의 병합에 의해 본원에 기술된 적절한 핵산 분자로 형질감염될 수 있다. 일부 구현예에서, 벡터는 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터로부터 선택된다.
- [0320] 레트로바이러스 벡터 및 적절한 패키징 세포주의 조합이 또한 사용될 수 있으며, 여기서 캡시드 단백질이 인간 세포를 감염시키는 기능을 할 것이다. PA12 (Miller, *et al.* (1985) *Mol. Cell. BioI.* 5:431-437); PA317 (Miller, *et al.* (1986) *Mol. Cell. Bioi.* 6:2895-2902); 및 CRIP (Danos, *et ai.* (1988) *Proc. Nati. Acad. Sci.* USA 85:6460-6464) 등의 수종의 양쪽성 바이러스-생산 세포주 (amphotropic virus-producing cell line) 들이 공지되어 있다. 대안적으로, 비-양쪽성 입자, 예를 들어 VSVG, RD 114 또는 GAL V 외막을 가진 위형 (pseudotype) 입자가 사용될 수 있다. 세포는, 생산 세포와의 직접 공동 배양, 예를 들어 Bregni, *et ai.* (1992) *Blood* 80: 1418-1422의 방법에 의해, 또는 바이러스 상층액 단독 또는 농축된 벡터 스톱을 사용한 배양, 예를 들어 Xu, *et ai.* (1994) *Exp. Hemat.* 22:223-230; 및 Hughes, *et ai.* (1992) *J Clin. Invest.* 89: 1817의 방법에 의해 추가로 형질도입할 수 있다.
- [0321] 다른 측면에서, 본 발명은 상기에서 정의되는 본 발명에 따른, 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 제조하는 방법을 제공하며, 이 방법은 (i) 공지된 변이체의 하나 이상의 데이터베이스로부터 단백질-코딩 유전자의 인간 게놈 변이체의 목록을 검색하는 단계; (ii) (a) 상응하는 기준 대립유전자와 비교해 각각의 유전자에 의해 코딩되는 단백질에 아미노산 서열 변이를 야기하는 변이체를 선택하고, (b) 아미노산 서열 변이가 코딩된 단백질의 세포의 도메인에 존재하는 유전자의 변이체를 선택하고, (c) 적어도 하나의 종양에서 이형접합성 소실 (LOH)을 겪는 유전자의 변이체를 선택하고, 및 (d) (c)에 따라 LOH를 겪는 상기 하나 이상의 종양의 기원 조직에서 적어도 발현되는 유전자의 변이체를 선택하여, LOH로 인해 하나 이상의 종양에서 소실되고 적어도 하나 이상의 종양의 기원 조직에서 발현되는 각각의 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 세포의 도메인에서 아미노산 서열 변이를 가진 변이체의 목록을 획득함으로써, 검색된 변이체의 목록을 필터링하는 단계; (iii) (ii)에서 획득된 목록으로부터 하나 이상의 단일 변이체를 포함하는 서열 영역을 정의하고, 하나 이상의 단일 변이체를 포함하는 서열 영역 및 상응하는 기준 대립유전자를 포함하는 서열 영역을 서브클로닝 및 발현하여, 각각의 에피토프 펩타이드를 수득하는 단계; (iv) (iii)에서 수득된, 클로닝된 서열 영역에 의해 코딩되는 에피토프 펩타이드, 또는 상응하는 기준 대립유전자에 의해 코딩되는 에피토프 펩타이드에 특이적으로 결합하는 iCAR 결합 도메인을 선택하는 단계; 및 (vii) (iv)에 정의된

iCAR 결합 도메인을 각각 포함하는 본원에서 상기에 정의된 iCAR을 제조하는 단계를 포함한다.

- [0322] 일부 구현예에서, 선택된 유전자의 후보 변이체는 특정 종양 유형에서 적어도 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 비율로 LOH를 겪는다.
- [0323] 일부 구현예에서, 선택된 각각의 변이체에 대한 마이너 대립유전자 빈도는 하나 이상의 집단에서 1, 2, 3, 4 또는 5% 이상이다.
- [0324] 다른 측면에서, 본 발명은 제어된 작동자 면역 세포 활성화 시스템의 서로 다른 구성원을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 각각 포함하는 2 이상의 핵산 분자의 조합에 관한 것으로, 이러한 핵산 분자는 단일한 연속적인 핵산 분자의 일부이거나 이러한 핵산 분자를 형성하거나, 또는 2 이상의 별개의 핵산 분자를 포함하고, 제어된 작동자 면역 활성화 시스템은 작동자 면역 세포에게 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 하나 이상의 염색체 또는 그의 단편을 소실한 종양 세포를 사멸시키고 관련한 정상 조직 세포는 보존하도록 지시하며, (a) 제1 구성원은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다른 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제1 세포의 도메인을 포함하는 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR) 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 비-다형성 또는 다형성 세포 표면 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 이와 관련한 비-정상 및 정상 포유류 조직의 세포에 의해 공유되고; (b) 제2 구성원은 LOH로 인해 비-정상 포유류 조직에 의해 발현되지 않지만 이와 관련한 포유류 정상 조직의 모든 세포 상에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제2 세포의 도메인을 포함하는 조절성 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0325] 일부 구현예에서, 제1 구성원은 (a) 작동자 면역 세포를 활성화 및/또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 구성적 aCAR; 및 (b) 이종이량화 소분자에 대한 결합 부위의 제1 구성원 및 선택적으로 하나 이상의 공동-자극성 신호 전이 인자를 포함하지만 활성화 신호 전이 인자는 포함하지 않는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 조건부 aCAR로부터 선택되고; 제2 구성원은 (c) 작동자 면역 세포를 저해하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR); 또는 (d) 세다제 (sheddase) 기질을 포함하는 세포외 조절 영역; 막내-절단 프로테아제 기질을 포함하는 막관통 표준 모터프; 및 세포내 도메인을 추가로 포함하는 보호 키메라 항원 수용체 (pCAR)이고, 상기 세포내 도메인은 작동자 면역 세포를 활성화 및/또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자 및 이종이량화 소분자에 대한 결합 부위의 제2 구성원을 포함한다.
- [0326] 일부 구현예에서, (i) iCAR 또는 pCAR의 세포의 도메인은, aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 항원과는 다른 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; (ii) pCAR 또는 iCAR의 세포의 도메인은 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 동일한 항원의 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; 또는 (iii) pCAR 또는 iCAR의 세포의 도메인은 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상이한 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다.
- [0327] 일부 pCAR 구현예에서, 세다제 기질은 디스인테그린 및 메탈로프로네이타제 (ADAM) 또는  $\beta$ -세크레타제 1 (BACE1)에 대한 기질이다. 일부 구현예에서, 기질은 세포의 도메인의 일부를 형성하며, Lin12/Notch 반복부 및 ADAM 프로테아제 절단부를 포함한다.
- [0328] ADAM 절단을 예측하는 일관된 서열 모터프는 없는 것으로 일반적으로 인식되지만, Caescu 등 (Caescu et al., 2009)은 표 3에 다수의 ADAM10 및/또는 ADAM17 기질 서열을 개시하였으며, 이는 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 이는 본 발명의 pCAR에서 ADAM 기질로서 작용할 수 있다. 일부 구현예에서, ADAM 기질 서열은 아밀로이드 전구체 단백질, BTC, CD23, 콜라겐, DII-1, 에볼라 당단백질, E-카드헤린, EGF, 에피레굴린, Fas 리간드, 성장 호르몬 수용체, HB-EGF, II형 인터루킨-1 수용체, IL-6 수용체, L-셀렉틴, N-카드헤린, Notch, p55 TNF 수용체, p75 TNF 수용체, Pmel17, 프리온 단백질, 수용체-형 단백질 티로신 포스파타제 Z, TGF- $\alpha$ , TNF 또는 TR의 서열이다 (Caescu et al., 2009).
- [0329] 본 발명의 pCAR에서 ADAM10 절단 서열을 사용하는 것이 유리할 수 있는데, 이는 ADAM 10이 예를 들어 림프구 상에서 비교적 높은 수준으로 구성적으로 존재하기 때문이다. ADAM10과 대조적으로, 매우 비슷한 TACE/ADAM17은 미자극 세포 상에서 단지 낮은 수준으로 검출된다. T 세포 모세포 상에서의 ADAM17 표면 발현은 자극에 의해 빠르게 유도된다 (Ebsen et al., 2013).
- [0330] Hemming 등 (Hemming et al., 2009)에 따르면, BACE1 절단을 예측하는 일관된 서열 모터프가 비-기질 대비 기질에서 식별되진 않았지만, 표 1에 BAC1 절단 서열을 가진 다수의 BACE1 기질을 개시하였으며, 이는 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 BACE1용 기질로서 작용할 수 있

다.

- [0331] 일부 pCAR 구현예에서, 막내-절단 프로테아제용 기질은 SP2,  $\gamma$ -세크레타제, 신호 펩타이드 펩티다제 (spp), spp-유사 프로테아제 또는 롬보이드 프로테아제 (rhomboid protease)에 대한 기질이다.
- [0332] Rawson 등 (Rawson, 2013)은 SP2 기질이 하나 이상의 2형 막-스패닝 나선 (type 2 membrane-spanning helix)을 가지고 있으며, SP2 기질 내에 Asp-Pro 모티프와 같은 나선-불안정화 모티프를 포함한다는 것을 개시하였다. 이 논문은 표 1에서 SP2-절단 서열을 가진 복수의 SP2 기질들을 개시하고 있으며, 이는 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 SP2를 위한 기질로서 작용할 수 있다.
- [0333] Haapasalo 및 Kovacs (Haapasalo and Kovacs, 2011)는 아밀로이드- $\beta$  단백질 전구체 (A $\beta$ PP)가 프레세닐린 (PS)-의존적  $\gamma$ -세크레타제 (PS/ $\gamma$ -세크레타제)의 기질이고, 적어도 90개의 추가적인 단백질이 이 효소 복합체에 의해 비슷한 단백질 분해를 겪는 것으로 밝혀졌음을 교시하였다.  $\gamma$ -세크레타제 기질은 다음과 같은 몇 가지 공통적인 특징을 가진다: 대부분의 기질 단백질은 I형 막관통 단백질이고; PS/ $\gamma$ -세크레타제-매개  $\gamma$ -유사 절단 (AICD를 방출하는 A $\beta$ PP에서의  $\beta$ -절단에 상응함)은 막관통 및 세포질 도메인의 경계 또는 그 부근에서 발생한다.  $\beta$ -유사 절단 부위는 라이신 및/또는 아르기닌 잔기가 풍부한 소수성 아미노산 서열의 구간에 플랭크 (flank)된다. PS/ $\gamma$ -세크레타제 절단은 절단 부위 또는 그 근처의 특정 아미노산 표적 서열에 의존하지 않고, 아마도 막관통 도메인의 입체구조 상태에 의존하는 것으로 보인다. Haapasalo 및 Kovacs은 표 1에  $\gamma$ -세크레타제 기질의 목록을 개시하였으며, 그 절단 서열은 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서  $\gamma$ -세크레타제를 위한 기질로서 작용할 수 있다.
- [0334] Voss 등 (Voss et al., 2013)은 GxGD 아스파틸 프로테아제 (spp)의 경우, 기질에서 1차 서열 요소에 기초한 공통 절단 부위가 지금까지 개시된 바 없다는 것을 교시하였다. 막 단백질의 막관통 도메인은 우선적으로 이들의 펩타이드 결합에 프로테아제가 거의 접근할 수 없는  $\alpha$ -나선 형태를 취한다. 따라서, 막관통 도메인을 막내 단백질 분해에 취약하게 만들기 위해서는, 나선 불안정화 아미노산에 의해  $\alpha$ -나선의 비율을 줄여야 할 것으로 추정되었다. 이 가설과 일치하게, 다양한 신호 펩타이드가, SPP에 의한 단백질 분해 처리에 결정적으로 영향을 미치는 h-영역에 나선 불안정화 아미노산을 포함하는 것으로 나타났다. 또한, 신호 펩타이드의 h-영역 내 극성 잔기는 SPP에 의한 절단에 영향을 미칠 수 있는데, 이는 예를 들어 다양한 HCV 균주의 신호 펩타이드 내 세린 및 시스테인 잔기가 SPP 절단에 중요하기 때문이다. 이들 극성 잔기가 또한 신호 펩타이드의 나선 비율에 단순히 영향을 미치는지, 또는 SPP에 의한 절단을 유발하기 위해 하이드록실 또는 설프히드릴 기가 특히 필요한지는 아직 완전히 파악되지 않았다. 마찬가지로, SPPL2b에 의한 Bri2 막관통 도메인의 절단은 Bri2 막관통 도메인의  $\alpha$ -나선 함량이 감소하는 경우 상당히 증가하였다. 흥미롭게도, 추정되는 나선 불안정화 효능을 가진 4개의 아미노산 잔기 중 단 하나의 잔기만 인지질계 환경에서 Bri2 막관통 도메인의  $\alpha$ -나선 비율을 상당히 감소시켰다. 이는,  $\alpha$ -나선 막관통 도메인의 불안정화가 단순히 특정 아미노산 잔기에 의해 야기되는 것이 아니라, 이들 아미노산의 상황 및 위치가 이들의 나선 불안정화 가능성을 결정하고, 따라서 SPP/SPPL에 의한 막내 단백질 분해에 대한 막관통 도메인의 접근성을 결정함을 시사해준다. Voss 등은 표 1에 spp 및 spp-유사 기질의 목록을 개시하였으며, 그 절단 서열은 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 spp를 위한 기질로서 작용할 수 있다.
- [0335] Bergbold 등 (Bergbold and Lemberg, 2013)은 롬보이드 프로테아제 (rhomboid protease)의 경우, 기질 인지에 대해 서로 다른 모델 2가지를 제안하였다. 제1 모델에서, 롬보이드 활성 부위 근처에서의 막에 묻힌 기질 펩타이드 골격의 입체구조적 유연성은 특이성을 제공하기에 충분하다. 잘 특성화된 초파리 기질인 스피츠 (Spitz)의 경우, 글리신-알라닌 모티프는 막관통 도메인을 롬보이드 활성 부위로 언폴딩시킬 수 있는 나선 파괴체로 작용하는 것으로 나타났다. 제2 모델은 롬보이드 프로테아제가 절단 부위를 둘러싼 특정 서열을 주로 인지하고, 막관통 나선-불안정화 잔기들이 일부 기질에만 필수적인 2차적 특징인 것으로 시사된다. 이러한 특정 서열은 아직 식별되지 않았다. Bergbold 등은 표 3에 롬보이드 프로테아제 기질의 목록을 개시하였으며, 그의 절단 서열은 본원에 완전히 개시되어 있는 것처럼 원용에 의해 본원에 포함되며, 본 발명의 pCAR에서 롬보이드 프로테아제를 위한 기질로서 작용할 수 있다.
- [0336] 진술한 내용에 비추어, 대부분의 경우 막내-절단 프로테아제에 대한 컨센서스 모티프는 아직 확립되지 않았지만, 막내-절단 프로테아제 기질을 식별하기 위한 분석은 상기 인용된 문헌에 기술된 바와 같이 당업계에 널리 공지되어 있으므로, pCAR은 이와 같이 식별된 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, 막관통 나선-불안정화 잔기를 추가로 포함할 수 있다.
- [0337] 일부 구현예에서, 기질은 막관통 표준 모티프의 일부를 형성하고, Notch, ErbB4, E-카드헤린, N-카드헤린, 에프

린-B2, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 CD44의 막관통 도메인과 상동적이거나, 또는 이로부터 유래된다.

- [0338] 일부 구현예에서, 개별 단백질로서의 상기한 조건부 aCAR의 세포외 도메인 및 세포내 도메인을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 각각의 도메인은 막관통 표준 모티프에 독립적으로 융합되고 이중이량화 소분자에 대한 결합 부위의 서로 다른 구성원을 포함한다.
- [0339] 일부 구현예에서, 이중이량화 소분자에 대한 결합 부위의 제1 및 제2 구성원 각각은 (i) 타크롤리무스 (FK506) 결합 단백질 (FKBP) 및 FKBP; (ii) FKBP 및 칼시뉴린 촉매 서브유닛 A (CnA); (iii) FKBP 및 사이클로필린; (iv) FKBP 및 FKBP-라파마이신 관련 단백질 (FRB); (v) 기라제 B (GyrB) 및 GyrB; (vi) 다이하이드로폴레이트 리덕타제 (DHFR) 및 DHFR; (vii) DmrB 동중이량화 도메인 (DmrB) 및 DmrB; (viii) PYL 단백질 (아르시스산 수용체 및 RCAR로도 알려짐) 및 ABI; 및 (ix) GAI 아라비도시스 탈리아나 단백질 (지베렐린산 비반응성 및 DELLA 단백질 GAI; GAI로도 알려짐) 및 GID1 아라비도시스 탈리아나 단백질 (지베렐린 수용체 GID1; GID1로도 알려짐)로부터 선택된 단백질로부터 유래된다.
- [0340] v. iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 표적 쌍
- [0341] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 표적 쌍은 안전한 작동자 면역 세포에서 발현된다. 일부 구현예에서, 핵산 서열에 의해 코딩되는 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 표적 쌍은 안전한 작동자 면역 세포에서 발현된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다.
- [0342] 일부 구현예에서, EGFR, HER2, 메소텔린 또는 CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다. 일부 구현예에서, EGFR 2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다. 일부 구현예에서, HER2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다. 일부 구현예에서, 메소텔린은 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다. 일부 구현예에서, CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다.
- [0343] 일부 구현예에서, EGFR, HER2, 메소텔린 또는 CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, EGFR 2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, HER2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, 메소텔린은 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다.
- [0344] 일부 구현예에서, EGFR, HER2, 메소텔린 또는 CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, EGFR 2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, HER2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, 메소텔린은 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다.
- [0345] 일부 구현예에서, EGFR, HER2, 메소텔린 또는 CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, EGFR 2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, HER2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, 메소텔린은 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다.
- [0346] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부는 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열에 의해 코딩된다.







이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩함; 및 2) aCAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 38을 포함함.

[0376] 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 핵산 서열은 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 1을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 37을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 38을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 2를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 39를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 40을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 41을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 42를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 43을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 44를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 45를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다.

[0377] 일부 구현예에서, 본 발명은 iCAR 및 aCAR을 코딩하는 핵산 서열을 제공하되, 이 핵산 서열은 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열에 의해 코딩되되, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 31을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되되, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 32를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되되, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 33을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되되, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다.

[0378] 1. 발현 벡터

[0379] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0380] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩한다.

[0381] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 다음과 같은 1) 및 2)를 코딩하는 핵산 서열을 포함한다: 1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로













서열은 서열번호 38을 포함한다.

[0407] 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열은 서열번호 1을 포함한다. 일부 구현예에서, aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열은 서열번호 37을 포함한다. 일부 구현예에서, aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열은 서열번호 38을 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 2를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 39를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 40을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 41을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 42를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 43을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 44를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 45를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다.

[0408] vi. 작동자 세포의 구축

[0409] 또 다른 측면에서, 본 발명은 안전한 작동자 면역 세포를 제조하는 방법을 제공하며, 이 방법은 (i) 종양-관련 항원을 겨냥하는 TCR-조작된 작동자 면역 세포를 본원에서 상기에 정의된 iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자로 형질감염시키거나 또는 상기 세포에 벡터를 형질도입하는 단계; 또는 (ii) 네이티브 작동자 면역 세포를 본원에서 상기에 정의된 iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 본원에서 상기에 정의된 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자로 형질감염시키는 단계; 또는 작동자 면역 세포에 본원에서 상기에 정의된 벡터를 형질도입하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다.

[0410] 일부 구현예에서, 조작에 사용하기 위한 면역 세포는 T-세포, 자연 살상 세포 또는 사이토카인-유도성 살상 세포를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 일부 구현예에서, 조작에 사용하기 위한 면역 세포는 Jurkat T-세포, Jurkat-NFAT T-세포 및/또는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0411] 또 다른 측면에서, 본 발명은 전술된 본 발명의 방법에 의해 수득된 안전한 작동자 면역 세포를 제공한다. 상기 안전한 작동자 면역 세포는 외인성 T 세포 수용체 (TCR) 및 iCAR 또는 pCAR을 발현하는 재지시된 T 세포일 수 있으며, 상기 외인성 TCR은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립 유전자 변이체를 겨냥하고, 상기 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 적어도 관련 종양 및 정상 조직의 세포에 의해 공유되는 것이며, iCAR 또는 pCAR은 본원에서 상기와 같이 정의되거나; 또는 상기 안전한 작동자 면역 세포는 본원에서 상기에 정의된 바와 같이 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 발현하는 재지시된 작동자 면역 세포, 예를 들어 자연 살상 세포 또는 T 세포이다.

[0412] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는, 표면 상에, 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 aCAR, 및 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 것과는 다른 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 iCAR 또는 pCAR을 발현한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR의 세포의 도메인은, aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 것과 동일한 항원의 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; 또는 iCAR 또는 pCAR의 세포의 도메인은 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 것과 동일한 다형성 세포 표면 에피토프의 상이한 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다.

[0413] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 aCAR의 세포의 도메인은 표 1에 열거된 항원, 예를 들어 CD19로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 표적은 세포의 도메인을 가진 임의의 표적이다.

- [0414] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ 또는 HLA-DR 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 표 8에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대한 것이다.
- [0415] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 표 8에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하며; 세포 표면 상에 발현되는 aCAR의 세포의 도메인은 표 1에 열거된 항원, 예를 들어 비-제한적으로 CD19으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나, 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 표 8에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대한 것이고; 세포 표면 상에 발현되는 aCAR의 세포의 도메인은, 비-제한적인 예로, EGFR 등의, 표 1에 열거된 항원으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 표 8에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대한 것이고; 세포 표면 상에 발현되는 aCAR의 세포의 도메인은 비-제한적인 예로, HER2 등의 표 1에 열거된 항원으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, aCAR 표적은 세포의 도메인을 가진 임의의 표적이다.
- [0416] 일부 구현예에서, aCAR과 iCAR은 세포 상에 별개의 단백질로서 존재한다.
- [0417] 일부 구현예에서, iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 세포 표면 상 발현 수준은, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 발현 수준보다 높거나 또는 동일하다.
- [0418] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0419] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAPP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0420] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0421] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK,

SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1 및 ZPLD1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0422] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0423] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLC6A1, SV2C, TENM2, TIMD4 및 UGT3A1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0424] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL2ORA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0425] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0426] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLC05A1, TNFRSF10A 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0427] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0428] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFPR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0429] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2,

C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GPD4, GPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROB03, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLC02B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18 및 ZP1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0430] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLC01A2, SLC01B1, SLC01B7, SLC01C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8 및 VSIG10으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0431] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGCG, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6 및 TNFRSF19으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0432] 일부 구현예에서, aCAR에 사용하기 위한 인지 모이어티는, iCAR 및/또는 pCAR ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된 유전자 산물의 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프에 대해 특이성을 제공한다.

[0433] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRN4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0434] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0435] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRN1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0436] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터

선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

- [0437] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR111, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B 및 ZNF4로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0438] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SELIL2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0439] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2 및 UMODL1으로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0440] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6 및 TNFRSF13C로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0441] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0442] 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 HLA-A2의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 세포 표면 상에 발현되는 iCAR 및/또는 pCAR의 세포의 도메인은 CD20의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예들에서, iCAR은 HLA-A2로 인가될 것이다. 일부 구현예에서, iCAR은 CD20로 인가될 것이다. 일부 구현예에서, aCAR은 CD19으로 인가될 것이다. 일부 구현예에서, aCAR은 EGFR로 인가될 것이다. 일부 구현예에서, aCAR은 HER2로 인가될 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 CD19일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 EGFR일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 HER2일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 CD20 및 CD19을 포함할 것이다.
- [0443] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 EGFR, HER2, 메소텔린 또는 CEA를 코딩하는 핵산 서열을 aCAR 표적으로서, 그리고 HLA를 iCAR 표적으로서 포함한다. 일부 구현예에서, EGFR 2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다. 일부 구현예에서, HER2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다. 일부 구현예에서, 메소텔린은 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다. 일부 구현예에서, CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이다.
- [0444] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 EGFR, HER2, 메소텔린 또는 CEA를 코딩하는 핵산 서열을 aCAR의 표적으로서 그리고 HLA를 iCAR의 표적으로서 포함하고, 표적이 되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, EGFR 2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, HER2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예

에서, 메소텔린은 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 또는 폐암 (또는 췌장암 또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다.

[0445] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 EGFR, HER2, 메소텔린 또는 CEA를 코딩하는 핵산 서열을 aCAR의 표적으로서 그리고 HLA를 iCAR의 표적으로서 포함하고, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, EGFR 2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, HER2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, 메소텔린은 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 췌장암 (또는 췌장암으로부터 유래되는 세포)이다.

[0446] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 EGFR, HER2, 메소텔린 또는 CEA를 aCAR의 표적으로서 그리고 HLA를 iCAR의 표적으로서 코딩하며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, EGFR 2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, HER2는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, 메소텔린은 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다. 일부 구현예에서, CEA는 aCAR의 표적이고, HLA는 iCAR의 표적이며, 치료되는 종양/암은 폐암 (또는 폐암으로부터 유래되는 세포)이다.

[0447] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0448] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩한다.

[0449] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다.

[0450] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 포함한다.

[0451] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 다음과 같은 1) 및 2)를 코딩하는 핵산 서열을 포함한다: 1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함함; 및 2) CAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함함.

[0452] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 다음과 같은 1) 및 2)를 코







40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다, 이 핵산 서열은 서열번호 2를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다, 이 핵산 서열은 서열번호 39를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다, 이 핵산 서열은 서열번호 40을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다, 이 핵산 서열은 서열번호 41을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다, 이 핵산 서열은 서열번호 42를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다, 이 핵산 서열은 서열번호 43을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다, 이 핵산 서열은 서열번호 44를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 제공한다, 이 핵산 서열은 서열번호 45를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다.

[0478] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 iCAR 및 aCAR을 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열에 의해 코딩되되, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 31을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되되, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 32를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되되, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 33을 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩되되, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다.

[0479] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 iCAR 및 aCAR을 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 서열번호 31, 서열번호 32 및/또는 서열번호 33으로부터 유래되는 iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에서 핵산에 의해 코딩되고, 서열번호 31, 서열번호 32 및/또는 서열번호 33으로부터 유래되는 aCAR은 제2 발현 벡터에서 핵산 서열에 의해 코딩된다.

[0480] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0481] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩한다.

[0482] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 다음과 같은 1) 및 2)를 코딩하는 핵산 서열을 포함한다: 1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 34, 서열번호 35 및 서열번호 36으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함함; 및 2) CAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함함. 일부 구현예에서, 제1 발현 벡터는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 9, 서열번호 11, 서열번호













은 서열번호 1을 포함한다.

[0506] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 다음과 같은 1) 및 2)를 코딩하는 핵산 서열을 포함한다: 1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩함; 및 2) aCAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 37을 포함함. 일부 구현예에서, 제1 발현 벡터는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이의 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하고; 제2 발현 벡터는 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 37을 포함한다.

[0507] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 다음과 같은 1) 및 2)를 코딩하는 핵산 서열을 포함한다: 1) iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩함; 및 2) aCAR 또는 이의 일부, 이의 핵산 서열은 서열번호 38을 포함함. 일부 구현예에서, 제1 발현 벡터는 iCAR 또는 pCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이의 핵산 서열은 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48 및 서열번호 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩하고; 제2 발현 벡터는 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 38을 포함한다.

[0508] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 발현 벡터에 의해 코딩되고, aCAR은 제2 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 1, 서열번호 37 및 서열번호 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열은 서열번호 1을 포함한다. 일부 구현예에서, aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열은 서열번호 37을 포함한다. 일부 구현예에서, aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열은 서열번호 38을 포함한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열을 포함하되, 이 핵산 서열은 서열번호 2, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44 및 서열번호 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 2를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 39를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 40을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 41을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 42를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 43을 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 44를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다. aCAR 또는 이의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 대한 일부 구현예에서, 핵산 서열은 서열번호 45를 포함하는 아미노산 서열을 코딩한다.

[0509] 일부 구현예에서, 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 발현 벡터를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR과 동일한 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 바이스스트론 핵산 기반의 발현 벡터에 의해 코딩된다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 및 aCAR은 서열번호 31, 서열번호 32 및 서열번호 33으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열에 의해 코딩되고, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 서열번호 31을 포함하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 서열번호 32를 포함하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및 aCAR을 코딩한다. 일부 구현예에서, 발현 벡터는 서열번호 33을 포함하는 핵산 서열을 포함하고, 이 핵산 서열은 iCAR 또는 pCAR 및

aCAR을 코딩한다.

[0510] vii. 표적 세포의 제조

[0511] 일부 구현예에서, 표적 세포는 시험관내 시스템에서 제조 및 시험한다. 일부 구현예에서, 시험관내 재조합 시스템이 오프-표적 세포에 대한 aCAR의 활성을 저해하는데 있어 iCAR 및/또는 pCAR 구조체의 기능성을 시험하기 위해 확립된다. 일부 구현예에서, aCAR 에피토프, iCAR 에피토프 또는 이 둘다 발현하는 표적 세포를 제조한다. 일부 구현예에서, aCAR 에피토프, pCAR 에피토프 또는 둘다 발현하는 표적 세포를 제조한다. 일부 구현예에서, aCAR 에피토프를 발현하는 재조합 세포는 온-표적 '온-종양' (on-target 'on-tumor') 세포를 나타내는 반면, aCAR 및 iCAR 에피토프 둘다를 발현하는 세포는 온-표적 '오프-종양' (on target 'off-tumor')의 건강한 세포를 나타낼 것이다.

[0512] 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 및 CD19일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 및 CD19일 것이며, HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등), CD19 또는 이 둘다를 발현하는 재조합 세포는 이들 유전자를 코딩하는 발현 벡터로 세포주 (예, HeLa, HeLa-루시퍼라제 또는 Raji)를 형질감염시킴으로써 제조될 것이다. 재조합 CD19 및 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 발현을 검출하기 위해, 이 2가지 유전자는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)가 융합될 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등)일 것이며, 재조합 세포는 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등), CD19 또는 이 둘다를 발현할 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA-A2 및 CD19일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 CD19일 것이며, HLA-A2, CD19 또는 이 둘다를 발현하는 재조합 세포는 이들 유전자를 코딩하는 발현 벡터로 세포주 (예, HeLa, HeLa-루시퍼라제 또는 Raji)를 형질감염시킴으로써 제조될 것이다. 재조합 CD19 및 HLA-A2 발현을 검출하기 위해, 이 2가지 유전자는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)와 융합될 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA-A2이고, 재조합 세포는 HLA (예, HLA-A2 등), CD19 또는 이 둘다를 발현할 것이다.

[0513] 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 및 EGFR일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 및 EGFR일 것이며, HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등), EGFR 또는 이 둘다를 발현하는 재조합 세포는 세포주 (예, HeLa, HeLa-루시퍼라제 또는 A549 또는 A431 또는 U-87 또는 Fadu 또는 SK-OV-3 또는 NCI-H460 또는 MCF7MDA-MB-231)를 이들 유전자를 코딩하는 발현 벡터로 형질감염시켜 제조될 것이다. 재조합 EGFR 및 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 발현을 검출하기 위해, 이들 유전자는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)와 융합될 것이다. 재조합 EGFR 및 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 또는 이 둘다를 발현할 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA-A2, HLA-A3, HLA-A 및 EGFR 일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 EGFR이고, HLA-A2, EGFR 또는 이 둘다를 발현하는 재조합 세포는 세포주 (예, HeLa, HeLa-루시퍼라제 또는 A549 또는 A431 또는 U-87 또는 Fadu 또는 SK-OV-3 또는 NCI-H460 또는 MCF7MDA-MB-231)에 이들 유전자를 코딩하는 발현 벡터를 형질감염시켜 제조될 것이다. 재조합 EGFR 및 HLA-A2 발현을 검출하기 위해, 이들 유전자는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)와 융합될 것이다. 재조합 EGFR 및 HLA-A2 발현을 검출하기 위해, 이들 유전자는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)와 융합될 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA-A2이고, 재조합 세포는 EGFR, HLA-A2 또는 이 둘다를 발현할 것이다.

- [0514] 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 및 HER2일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 및 HER2일 것이며, HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등), HER2 또는 이 둘다를 발현하는 재조합 세포는 세포주 (예, HeLa, HeLa-루시퍼라제 또는 A549 또는 A431 또는 U-87 또는 Fadu 또는 SK-OV-3 또는 NCI-H460 또는 MCF7MDA-MB-231)에 이들 유전자를 코딩하는 발현 벡터를 형질감염시켜 제조될 것이다. 재조합 HER2 및 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 발현을 검출하기 위해, 이들 유전자에는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)가 융합될 것이다. 재조합 HER2 및 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등)의 발현을 검출하기 위해, 이들 유전자에는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)가 융합될 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등)일 것이며, 재조합 세포는 HER2, HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) 또는 이 둘다를 발현할 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA-A2 및 HER2일 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 HER2일 것이며, HLA-A2, HER2 또는 이 둘다를 발현하는 재조합 세포는 세포주 (예, HeLa, HeLa-루시퍼라제 또는 A549 또는 A431 또는 U-87 또는 Fadu 또는 SK-OV-3 또는 NCI-H460 또는 MCF7MDA-MB-231)에 이들 유전자를 코딩하는 발현 벡터를 형질감염시켜 제조될 것이다. 재조합 HER2 및 HLA-A2의 발현을 검출하기 위해, 이들 유전자에는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)가 융합될 것이다. 재조합 HER2 및 HLA-A2의 발현을 검출하기 위해, 이들 유전자에는 단백질 태그 (예, HA 또는 Flag 또는 Myc 등)가 융합될 것이다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트는 HLA-A2이고, 재조합 세포는 HER2, HLA-A2 또는 이 둘다를 발현할 것이다.
- [0515] 일부 구현예에서 iCAR은 도 22에 열거된 표적 유전자를 겨냥한다. 일부 구현예에서, aCAR은 비-제한적으로 다음과 같은 항원 목록으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다: 5T4, AFP, AXL, B7H6, CD133, CD19, CD20, CD22, CD30, CD44v6, CD5, CD7, CD70, CD80, CD89, CDH17, CEA, CLD18, CLEC14a, CLL-1, cMet, CS1, EGFR, EGFRvIII, EpCAM, NY-ESO-1, FAP, FHSR, GP100, GPC3, HER2, IL-13R<sub>α</sub>, IL-13R<sub>β</sub>, K-Ras, 메소텔린, MUC1, MUC-CD, NKG2D 리간드, NKG2D<sub>1</sub> 리간드, PDL1, PSCA, PSMA, ROR1, ROR-2, 서비빈, TEM8, TGF, VEGFR2 및 ALK. 일부 구현예에서, iCAR은 도 22에 열거된 표적 유전자를 겨냥하고, aCAR은 비-제한적으로, 하기 항원 목록으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다: 5T4, AFP, AXL, B7H6, CD133, CD19, CD20, CD22, CD30, CD44v6, CD5, CD7, CD70, CD80, CD89, CDH17, CEA, CLD18, CLEC14a, CLL-1, cMet, CS1, EGFR, EGFRvIII, EpCAM, NY-ESO-1, FAP, FHSR, GP100, GPC3, HER2, IL-13R<sub>α</sub>, IL-13R<sub>β</sub>, K-Ras, 메소텔린, MUC1, MUC-CD, NKG2D 리간드, NKG2D<sub>1</sub> 리간드, PDL1, PSCA, PSMA, ROR1, ROR-2, 서비빈, TEM8, TGF, VEGFR2 및 ALK.
- [0516] 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 세트를 포함하는 발현 벡터를 세포에 형질감염시킨다. 일부 구현예에서, 발현 벡터를 세포에 형질감염시켜, 표적을 생산하고, 오프-종양 효과 (off-tumor effect)를 발생시킨다.
- [0517] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRNB2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCNN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1 및 ZP4.
- [0518] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ABCG5, ALK, ASPRV1,

ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO 및 TRABD2AD2A.

[0519] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1 및 ZPLD1.

[0520] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1 및 UNC5C.

[0521] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLC6A1, SV2C, TENM2, TIMD4 및 UGT3A1.

[0522] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: BAI3, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1, OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1 및 TREML2.

[0523] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN 및 ZP3.

[0524] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLC05A1, TNFRSF10A 및 TNFRSF10B.

[0525] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2 및 VLDLR.

[0526] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFPR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR,

SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B 및 VSTM4.

- [0527] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C1orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GPD4, GPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLC02B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18 및 ZP1.
- [0528] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLC01A2, SLC01B1, SLC01B7, SLC01C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8 및 VSIG10.
- [0529] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGGC, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6 및 TNFRSF19.
- [0530] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ADAM21, BDKRB2, C1orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4 및 SYNDIG1L.
- [0531] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRN4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSMD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1 및 TYRO3.
- [0532] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219 및 TMEM8A.
- [0533] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRN1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2 및 TUSC5.
- [0534] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15 및 TNFRSF11A.
- [0535] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 균으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2,

KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR1I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B 및 ZNRF4.

[0536] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBRW2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4 및 THBD.

[0537] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2 및 UMODL1.

[0538] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUSD2, TMPRSS6 및 TNFRSF13C.

[0539] 일부 구현예에서, 발현 벡터는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자를 코딩한다: ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4 및 XG.

[0540] 일부 구현예에서, 상기에서 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 그 표면 상에 항원의 세포 표면 에피토프 및 종양-관련 항원에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인 및 전술한 임의의 것과 같은 종양 기원 조직에서 적어도 발현되나 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 것과는 다른 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 iCAR을 발현한다. 일부 구현예에서, iCAR은 aCAR이 발현되는 동일한 조직에서 발현된다. 일부 구현예에서, aCAR 및 iCAR은 동일 유전자에 대한 서로 다른 대립유전자이다. 일부 구현예에서, aCAR 및 iCAR은 서로 다른 단백질이며, 그래서 서로 다른 대립유전자이다.

[0541] A. 시험관내 분석

[0542] 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR은 다양한 분석을 사용하여 효능 및 저해 능력을 비롯한 효과에 대한 활성을 검사한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR의 저해 효과는 시험관내 및/또는 생체내에서 검사한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR의 저해 효과는 시험관내에서 검사할 것이다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR의 저해 효과는 생체내에서 검사할 것이다. 일부 구현예에서, 시험관내 분석은 사이토카인 분비 및/또는 세포독성 효과를 측정한다. 일부 구현예에서, 생체내 분석은 온-표적 오프-종양 이중이식편에 대한 iCAR 및/또는 pCAR 저해 및 보호를 평가할 것이다. 일부 구현예에서, 생체내 분석은 온-표적 오프-종양 조직 및/또는 바이러스성 기관에 대한 iCAR 및/또는 pCAR 저해 및 보호를 평가할 것이다.

[0543] i. 루시퍼라제 세포독성 분석

[0544] 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR은 루시퍼라제 세포독성 분석을 사용하여 평가한다. 일반적으로, 루시퍼라제 세포독성 분석의 경우, 재조합 표적 세포 ("T"로 지칭될 수 있음)는 반딧불이 루시퍼라제를 발현하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 시판 HeLa-Luc 세포는 표적 단백질을 코딩하는 DNA로 형질감염될 수 있다. 시험관내 루시퍼라제 분석은 Bright-Glo 루시퍼라제 분석 (Promega 또는 BPS Biosciences 또는 다른 상업적 공급업체로부터 상업적으로 입수가 가능함)에 따라 수행할 수 있다. 형질도입된 작동자 (E) T 세포 (iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 둘 모두 또는 aCAR 또는 모의 CAR로 형질도입됨)는 HLA-A2, CD19 또는 CD19 및 HLA-A2 둘 모두, 또는 CD20, 또는 CD20 및 CD19 둘 모두를 발현하는 재조합 표적 세포와 함께 24-48시간 동안 배양하여, 여러가지 작동자 : 표적 비율에서 검사할 수 있다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 또는 pCAR/aCAR 쌍은 전술한 성분을 가진 aCAR, pCAR 및/또는 iCAR 중 임의의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 쌍은 HLA-A2 표적화 iCAR 및 CD19 표적화 aCAR을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 쌍은 CD20 표적화 iCAR 및 CD19 표적화 aCAR을 포함한다. 세포 사멸은 Bright-Glo 루시퍼라제 시스템을 사용하여 살아있는 세포의 수를 추정함으로써 간접적으로 정량할 것이다.

[0545] 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR은 루시퍼라제 세포독성 분석을 사용하여 평가한다. 일반적으로, 루시퍼라제 세포독성 분석의 경우, 재조합 표적 세포 ("T"로 지칭될 수 있음)는 반딧불이 루시퍼라제를 발현하도록 조작

된다. 일부 구현예에서, 시판 Hela-Luc 세포는 표적 단백질을 코딩하는 DNA로 형질감염될 수 있다. 시험관내 루시퍼라제 분석은 Bright-Glo 루시퍼라제 분석 (Promega 또는 BPS Biosciences 또는 다른 상업적 공급업체로부터 상업적으로 입수가능함)에 따라 수행할 수 있다. 형질도입된 작동자 (E) T 세포 (iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 둘 모두 또는 aCAR 또는 모의 CAR로 형질도입됨)는 HLA-A2, EGFR 또는 EGFR 및 HLA-A2 둘 모두, 또는 CD20, 또는 CD20 및 EGFR 둘 모두를 발현하는 재조합 표적 세포와 함께 24-48시간 동안 배양하여, 여러가지 작동자 : 표적 비율에서 검사할 수 있다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 또는 pCAR/aCAR 쌍은 전술한 성분을 가진 aCAR, pCAR 및 /또는 iCAR 중 임의의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 쌍은 HLA-A2 표적화 iCAR 및 EGFR 표적화 aCAR을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 쌍은 CD20 표적화 iCAR 및 EGFR 표적화 aCAR을 포함한다. 세포 사멸은 Bright-Glo 루시퍼라제 시스템을 사용하여 살아있는 세포의 수를 추정함으로써 간접적으로 정량할 것이다.

[0546] 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR은 루시퍼라제 세포독성 분석을 사용하여 평가한다. 일반적으로, 루시퍼라제 세포독성 분석의 경우, 재조합 표적 세포 ("T"로 지칭될 수 있음)는 반딧불이 루시퍼라제를 발현하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 시판 Hela-Luc 세포는 표적 단백질을 코딩하는 DNA로 형질감염될 수 있다. 시험관내 루시퍼라제 분석은 Bright-Glo 루시퍼라제 분석 (Promega 또는 BPS Biosciences 또는 다른 상업적 공급업체로부터 상업적으로 입수가능함)에 따라 수행할 수 있다. 형질도입된 작동자 (E) T 세포 (iCAR 또는 pCAR 및 aCAR 둘 모두 또는 aCAR 또는 모의 CAR로 형질도입됨)는 HLA-A2, HER2 또는 HER2 및 HLA-A2 둘 모두를 발현하는 재조합 표적 세포와 함께 24-48시간 동안 배양하여, 여러가지 작동자 : 표적 비율에서 검사할 수 있다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 또는 pCAR/aCAR 쌍은 전술한 성분을 가진 aCAR, pCAR 및/또는 iCAR 중 임의의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 쌍은 HLA-A2 표적화 iCAR 및 HER2 표적화 aCAR을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 쌍은 CD20 표적화 iCAR 및 HER2 표적화 aCAR을 포함한다. 세포 사멸은 Bright-Glo 루시퍼라제 시스템을 사용하여 살아있는 세포의 수를 추정함으로써 간접적으로 정량할 것이다.

[0547] 일부 구현예에서, '오프-종양' 세포독성은 iCAR/aCAR 발현 수준에 따라 형질도입된 T 세포 집단을 분류하거나, 또는 예를 들어 하나 이상의 세포의 다형성 에피토프를 코딩하는 유전자 산물의 발현을 비롯한 표적 발현에 따라 재조합 표적 세포의 하위 집단을 선택함으로써, 최적화할 수 있다. 일부 구현예에서, aCAR, iCAR 및/또는 pCAR 표적은 세포의 도메인을 가진 임의의 표적이다. 일부 구현예에서, 분류는 CD19, EGFR, HER2 또는 HLA-A2 발현 수준을 기반으로 한다.

[0548] 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR은, iCAR 형질도입된 T 세포가 시험관내에서 '온-종양' 세포 (예를 들어, 종양 세포)와 '오프-종양' 세포 (예를 들어, 비종양 세포)를 구별할 수 있는지를 측정하기 위해 검사한다. 일반적으로 이는 '온-종양' 세포 및 '오프-종양' 세포 1:1 믹스와 함께 배양한 형질도입된 T 세포의 살상 효과를 조사함으로써 평가한다. 일부 구현예에서, 그 비율은 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 또는 1:8이다. 단 하나의 세포 집단만 루시퍼라제 유전자를 적시에 발현하도록 조작되는 구현예에서, 루시퍼라제 발현에 의해 온-종양 재조합 세포는 '오프-종양' 재조합 세포와 구별할 수 있다. Bright-Glo 루시퍼라제 분석 (Promega)을 사용하여 24-48시간의 공동 배양 후 사멸을 정량할 수 있다.

[0549] 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 및/또는 pCAR/aCAR 형질도입된 T 세포는, aCAR로 형질도입되었지만 iCAR 및/또는 pCAR은 형질도입되지 않은 T 세포와 비교하여, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90% 및/또는 약 95%로 낮은 오프-종양 사멸성을 나타낸다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 및/또는 pCAR/aCAR 형질도입된 T 세포는, aCAR로 형질도입되었지만 iCAR 및/또는 pCAR가 형질도입되지 않은 T 세포와 비교하여, 약 1배, 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 또는 약 10배 낮은 오프-종양 세포 사멸성을 나타낸다.

[0550] ii. 카스파제 3

[0551] 일부 구현예에서, '온-종양' 세포 (예를 들어, 종양 세포) 및 '오프-종양' 세포 (예를 들어, 비종양 세포)의 시험관내 세포자살 수준을 측정하기 위해 iCAR 및/또는 pCAR을 검사하기 위해 카스파제 3-검출 분석을 이용한다. 일부 구현예에서, 활성화된 절단된 카스파제 3에 대한 항체에 의한 세포독성 림프구 (CTL) 유도된 세포자살의 카스파제 3-검출을 검사한다.

[0552] 일반적으로, CTL이 표적 세포를 사멸시키는 경로 중 하나는 Fas 리간드를 통해 세포자살을 유도하는 것이다. CASP3 단백질은 시스테인-아스파르트산 프로테아제 (카스파제) 패밀리의 구성원이다. 전형적으로, 카스파제의 순차적 활성화는 세포자살 실행 단계에서 중요한 역할을 하며, 따라서 프로-카스파제 3에서 카스파제 3로의 절단이 형태적 변화 및 촉매 활성의 발현을 유발한다. 카스파제 3의 절단된 활성화 형태는 단일클론 항체에 의해 특이적으로 인지될 수 있다.

- [0553] 일부 구현예에서, 형질도입된 T 세포는 '온-종양' (예를 들어, 모의 종양) 및 '오프-종양' 세포 (예를 들어, 모의 비-종양) 재조합 세포와 함께 배양할 수 있다. 일부 구현예에서, '온-종양' (예를 들어, 종양) 및 '오프-종양' 세포 (예를 들어, 비-종양) 재조합 세포는 CFSE ((5(6)-카르복시플루오레세인 N-하이드록시숙신이미딜 에스테르)) 또는 기타 세포 추적 염료 (예, CellTrace Violet)로 미리 표지한다. 일부 구현예에서, 작동자 세포와 표적 세포의 공동 배양은 약 1시간 내지 약 6시간, 약 2시간 내지 약 5시간, 또는 약 2 내지 약 4시간 동안 수행한다. 일부 구현예에서, 표적 세포의 세포자살은 유세포 분석에 의해 정량한다. 세포는 내부 염색 키트 (Miltenyi 또는 BD bioscience)로 투과화 및 고정을 실시하고, 활성화된 카스파제 3에 대한 항체 (BD bioscience)로 염색할 수 있다.
- [0554] 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 및/또는 pCAR/aCAR 형질도입된 T 세포는, aCAR은 형질도입되었지만 iCAR 및/또는 pCAR은 형질도입되지 않은 T 세포와 비교하여, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 및/또는 약 95% 낮은 수준으로 오프-종양 세포의 세포자살을 유도한다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 및/또는 aCAR/pCAR 형질도입된 T 세포는, aCAR은 형질도입되었지만 iCAR 및/또는 pCAR은 형질도입되지 않은 T 세포와 비교하여, 약 1배, 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 또는 약 10배 낮은 수준으로 오프-종양 세포의 세포자살을 유도한다.
- [0555] iii. 저속 현미경 (Time-lapse microscopy)
- [0556] 저속 현미경 CTL-
- [0557] 표적 결합을 포착하기 위해 iCAR 및/또는 pCAR 형질도입된 T 세포의 저속 현미경을 이용할 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 세포는 리포터 유전자 (예, 비-제한적으로, mCherry와 같은 형광 단백질)로 표지한다. 일부 구현예에서, 형질도입된 T 세포는 '온-종양' 또는 '오프-종양' 세포와 함께 최대 5일 동안 배양한다. 일부 구현예에서, 저속 현미경을 사용하여 사멸을 가시화할 수 있다. 일부 구현예에서, 종점 시점에 표적 세포 수를 측정하기 위해 생존가능한 세포 수 염색 및 CountBright 비드 (Invitrogen)를 이용한 유세포 분석을 수행하게 될 것이다.
- [0558] 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 또는 aCAR/pCAR 형질도입된 T 세포가 시험관내에서 표적을 식별할 수 있는지를 확인하기 위해, 각각의 재조합 표적 세포 ('온-종양' 또는 '오프-종양')를 서로 다른 리포터 단백질 (예, GFP 및 mCherry)로 표지한다. 일부 구현예에서, 리포터 쌍이 쉽게 구별할 수 있는 2개의 리포터를 포함하는 한, 임의의 리포터 단백질 쌍이 유용할 것이다. 일부 구현예에서, 형질도입된 T 세포 (작동자 세포)는 E/T 1:1 비율에서 재조합 세포 (표적 세포)와 공동 배양한다. 일부 구현예에서, 작동자 대 표적의 비율 (E/T)은 16:1, 12:1, 10:1, 8:1, 6:1, 4:1, 2:1, 또는 1:1을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 일부 구현예에서, 이후 세포 운명을 현미경 이미징에 의해 검사한다.
- [0559] iv. 사이토카인 방출
- [0560] T 세포 활성화를 확인하기 위해 사이토카인 방출을 검사할 수 있다. 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 및/또는 pCAR/aCAR 형질도입된 T 세포를 재조합 표적 세포와 함께 배양하고, 하나 이상의 사이토카인에 대한 사이토카인 생산을, 예를 들어 BioLegend의 ELISA MAXTM Deluxe Set 키트에 따라 세포 배양 상층액에서 사이토카인 분비를 측정함으로써 또는 사이토카인을 생산하는 T 세포의 백분율에 대한 유세포 분석에 의해 정량한다. 유세포 분석의 경우, 사이토카인의 분비를 방지하기 위해 골지 스톱 (Golgi stop)이 일반적으로 사용된다. 일부 구현예에서, 형질도입된 T 세포를 표적 세포와 6시간 및 18시간 내지 24시간 배양한 후, T 세포를 내부 염색 키트 (Miltenyi)에 의해 투과화 및 고정을 실시하고, T 세포 마커 (CD3 및 CD8) 및 하나 이상의 사이토카인에 대한 항체로 염색한다. 일부 구현예에서, 사이토카인은, 비-제한적으로, IL-2, INF  $\gamma$  및/또는 TNF  $\alpha$ 를 포함한다.
- [0561] v. CD107a 염색
- [0562] 형질도입된 T 세포의 세포용해 활성을 측정하기 위해 CD107a에 대한 염색을 또한 조사할 수 있다. 일반적으로, T 세포의 탈과립화는 리소솜 막 단백질 (LAMP-1)인 CD107a의 표면 발현에 의해 식별할 수 있으며, LAMP-1의 표면 발현은 CD8 T 세포성 세포독성과 상호 관련있는 것으로 나타났다. 아울러, 이 분자는 리소솜의 내강 측에 위치한다. 전형적으로, CD107a는 활성화되면 활성화된 림프구의 세포막 표면으로 이동한다. 또한, CD107a는 일시적으로 세포 표면 상에 발현되고, 식작용 경로를 통해 신속하게 다시 내재화된다. 따라서, 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니지만, CD107a 검출은 세포 자극 동안의 항체 염색 및 모넨신의 첨가 (예를 들어, 세포내 이입된 CD107a 항체 복합체의 산성화 및 후속적인 분해를 방지하기 위함)에 의해 극대화된다.
- [0563] 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 및/또는 aCAR/pCAR 형질도입된 T 세포를 약 6시간 내지 약 24시간 동안 표적 세포

와 함께 배양하고, CD8 T 세포 상에서의 CD107a 발현을 조사한다. 일부 구현예에서, 표적 세포는 (종양 세포에서와 같이) aCAR에 의해 인지되는 단 한종의 표적 단백질만 발현하거나, 또는 표적 세포는 (정상 세포에서와 같이) aCAR 및 iCAR에 의해 인지되는 표적 단백질 둘다를 발현한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR 형질도입된 T 세포를 모넨신의 존재 하에 표적 세포와 함께 약 6시간 내지 약 24시간 동안 배양하고, T 세포 표면 마커 (예, CD3 및 CD8)에 대한 집합 항체 및 CD107a에 대한 집합 항체를 사용해 유세포 분석에 의해 CD8 T 세포 상에서 CD107a 발현을 측정한다.

[0564] vi. ELISA에 의한 분비된 사이토카인의 정량화

[0565] 일부 구현예에서, iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR과 iCAR 둘다를 발현하는 형질도입된 T-세포 (Jurkat 또는 1차 T-세포)를 iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR과 iCAR 항원 둘다를 발현하는 변형된 표적 세포와 공동 배양한 후, 컨디셔닝화된 배지를 수집하고, 사이토카인 ELISA에 의해 사이토카인의 농도를 측정한다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-2, IFN  $\gamma$  및/또는 TNF  $\alpha$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-2로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IFN  $\gamma$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 TNF  $\alpha$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 듀얼 CAR (aCAR/iCAR) 형질도입된 세포에서 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 99%의 감소가 확인된다.

[0566] vii. 세포측정 비드 어레이 (CBA) 분석에 의해 측정된 사이토카인 분비

[0567] 세포측정 비드 어레이 (CBA)를 이용해, 사이토카인, 케모카인 및 성장 인자를 비롯한 다양한 가용성 및 세포내 단백질을 측정한다. 일부 구현예에서, aCAR 또는 aCAR과 iCAR 구조체 (작동자 세포)가 형질도입된 T-세포 (1차 T-세포 또는 Jurkat 세포)를, 세포 표면 상에 iCAR과 aCAR 둘다 또는 aCAR 또는 iCAR 표적 항원을 발현하는 변형된 표적 세포로 자극한다. 일부 구현예에서, 작동자 대 표적 세포의 비율은 20:1 내지 최대 1:1의 범위이다. 일부 구현예에서, 작동자 대 표적 세포의 비율은 20:1, 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 또는 1:1의 범위이다. 일부 구현예에서, 수시간 공동 배양한 후, 작동자 세포는 작동자 상태를 나타내는 사이토카인을 생산 및 분비한다. 일부 구현예에서, 반응 상층액을 수집해, 분비된 IL-2를 다중 CBA 분석에 의해 측정 및 정량한다.

[0568] 일부 구현예에서, 2종의 표적 항원 모두를 발현하는 표적 세포와 공동 배양한 듀얼 CAR (aCAR/iCAR) 형질도입된 세포의 경우, 동일한 작동자 세포를 한가지 표적만 발현하는 표적 세포와 공동 배양함으로써 획득되는 IL-2 분비와 비교해, IL-2 분비가 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 99% 감소한다. 일부 구현예에서, 듀얼 CAR (aCAR/iCAR) 형질도입된 세포를 2가지 표적 항원 모두 발현하는 표적 세포와 공동 배양할 경우, 동일한 작동자 세포를 한가지 표적만 발현하는 표적 세포와 공동 배양함으로써 획득되는 IL-2 분비와 비교하여, IL-2 분비는 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 또는 약 99% 감소한다. 일부 구현예에서, 86% 감소한다. 일부 구현예에서, aCAR은 CD19 aCAR이다. 일부 구현예에서, iCAR은 HLA-A2 iCAR이다. 일부 구현예에서, iCAR은 CD20 iCAR이다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍은 CD19 aCAR 및 HLA-A2 iCAR이다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍은 CD19 aCAR 및 CD20 iCAR이다. 일부 구현예에서, aCAR은 EGFR aCAR이다. 일부 구현예에서, iCAR은 HLA-A2 iCAR이다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍은 EGFR aCAR 및 HLA-A2 iCAR이다. 일부 구현예에서, aCAR은 HER2 aCAR이다. 일부 구현예에서, iCAR은 HLA-A2 iCAR이다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍은 HER2 aCAR 및 HLA-A2 iCAR이다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍은 HER2 aCAR 및 CD20 iCAR이다.

[0569] 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍은 CD19 aCAR 및 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) iCAR이다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍은 EGFR aCAR 및 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) iCAR 이다. 일부 구현예에서, aCAR/iCAR 쌍은 HER2 aCAR 및 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등) iCAR이다.

[0570] viii. CD107a 염색으로 측정된 T 세포 탈과립 분석

[0571] 일부 구현예에서, T 세포의 탈과립화는 리소좀 부속 막 단백질 (LAMP-1) 인 CD107a의 표면 발현에 의해 동정할 수 있다. 일부 구현예에서, LAMP-1의 표면 발현은 CD8 T 세포의 세포독성과 상호 관련있는 것으로 나타났다. 일

부 구현예에서, 과립화 (CD107a)는 사멸 가능성 마커이다.

[0572] B. 생체내 분석

[0573] 일부 구현예에서, iCAR/aCAR 및/또는 iCAR/pCAR 쌍을 대상으로 생체내 효능을 검사한다. 일부 구현예에서, NOD/SCID/ $\gamma$ c<sup>-</sup> 또는 유사 마우스에 종양 세포를 정맥내 접종한다. 일부 구현예에서, 종양 세포는 반딧불이 루시페라제를 발현하도록 조작된 CD19 양성 NALM 6 (ATCC, 인간 B-ALL 세포주) 세포이다. 일부 구현예에서, 종양 세포는 반딧불이 루시페라제 및/또는 GFP 또는 mCherry 또는 기타 리포터를 발현하도록 조작된 EGFR 및 HER2 양성 세포주 A549, A431, Fadu, SK-OV-3, U-87, MCF7, MDA-MB-231 및/또는 NCI-H460 (ATCC 세포주) 세포이다. '온-표적' 세포 및 '오프-종양' 세포를 확립 및/또는 차별화하기 위해, NALM 6, A549, A431, Fadu, SK-OV-3, U-87, MCF7, MDA-MB-231 및/또는 NCI-H460을 iCAR 및/또는 pCAR 에피토프를 발현하여 건강한 세포를 나타내도록 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR 에피토프는 하나 이상의 세포외 다형성 에피토프를 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR 에피토프는 HLA (예, HLA-A2, HLA-A3, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1 또는 HLA-DRB5 등)로부터 유래한다. 일부 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR 에피토프는 HLA-A2로부터 유래한다. 이들 분석에 사용할 수 있는 기타 세포로는, 비-제한적으로, Raji 또는 임의의 기타 재조합 세포주를 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 분석은 PDX (환자 유래 이종 이식편) 모델에서 이루어질 수 있다.

[0574] 분석에서, 마우스를 실험군별로 나누고; 한 군에는 NALM 6, A549, A431, Fadu, SK-OV-3 및/또는 U-87, MCF7, MDA-MB-231, NCI-H460 세포를 주사하고 다른 군에는 iCAR 에피토프를 발현하는 대응되는 NALM-6, A549, A431, Fadu, SK-OV-3, U-87, MCF7, MDA-MB-231 및/또는 NCI-H460 세포를 주사한다. 수일 경과 후, 마우스에 aCAR, aCAR/iCAR로 형질도입된 T 세포 및 형질도입되지 않은 T 세포 대조군을 정맥내 주사하거나 또는 이들 T 세포를 주사하지 않는다. 마우스를 희생시키고 전체 플럭스에 따라 종양 부담을 정량한다.

[0575] 이러한 분석에 대한 일 구현예에서, iCAR 및/또는 pCAR 구조체를 발현하는 T 세포가 동일한 유기체에서 생체내에서 표적 세포와 오프-표적 세포를 구별할 수 있는지를 실험하기 위해, 마우스에 '온-종양' / '오프-종양' NALM-6, A549, A431, Fadu, SK-OV-3, U-87, MCF7, MDA-MB-231 및/또는 NCI-H460 세포의 1:1 혼합물을 주사한 후, aCAR 단독 또는 aCAR과 iCAR 둘다 발현하는 형질도입된 T 세포를 주사한다. 이러한 구현예에서, 마우스를 희생시킨 후, 비장 및 골수에서 '온-종양' 및 '오프-종양' 세포의 존재를 2가지 마커, 즉 CD19 및 iCAR 에피토프에 대한 유세포 분석에 의해 분석한다. 다른 구현예로, 마우스를 희생시킨 후, 비장 및 골수에서 '온-종양' 및 '오프-종양' 세포의 존재를 2가지 마커, 즉 HER2 및 iCAR 에피토프에 대한 유세포 분석에 의해 분석한다.

[0576] i. 인간 이종 이식 마우스 모델에서의 생체내 CTL 분석

[0577] 일부 구현예에서, aCAR 및 iCAR 구조체 둘다 발현하는 T-세포가 동일한 유기체에서 표적 세포와 '오프-표적' 세포를 구별하고, '오프-표적' 세포는 보존하면서 표적 세포만 효율적으로 사멸시키는지를 검사하기 위해, 생체내 CTL 분석으로 평가한다.

[0578] 일부 구현예에서, iCAR 또는 aCAR 또는 iCAR 및 aCAR 둘다 형질도입된 T 세포를 나이브 NOD/SCID/ $\gamma$ c<sup>-</sup> 또는 유사 마우스에 i.v. 주사한 후, 최대 수시간 경과한 후, iCAR, aCAR 또는 둘다 발현하는 표적 세포를 주사한다. 일부 구현예에서, 이들 표적은 CFSE/CPDE 또는 유사한 세포 추적 염료로 여러가지 농도 (고, 중, 저)로 표지하고, 이로써 이들을 추가적으로 구별 가능해졌다. 일부 구현예에서, 실시예 5에 기술된 바와 같이 특이적인 사멸 %를 계산한다.

[0579] ii. 인간 이종 이식 마우스 모델에서의 종양 증식 동역학

[0580] 일부 구현예에서, 종양 세포는 iCAR 표적, aCAR 표적 또는 이 둘다를 발현한다. 일부 구현예에서, aCAR 종양 세포주는 CD19 양성 NALM 6 (ATCC, 인간 BALL 세포주), 또는 EGFR 또는 HER2 양성 세포주 A549, A431, Fadu, SK-OV-3 U-87, MCF7, MDA-MB-231 및/또는 NCI-H460 (ATCC 세포주)일 수 있다. 일부 구현예에서, aCAR과 iCAR 둘다 발현하는 종양 세포 (즉, '오프-종양' 세포)는 iCAR 에피토프 (예를 들어, HLA-A2)를 발현하도록 조작되어 건강한 세포를 나타내는 NALM 6, A549, A431, Fadu, SK-OV-3, U-87, MCF7, MDA-MB-231 및/또는 NCI-H460이다. 일부 구현예에서, NALM 6 및 NALM 6-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, A549 및 A549-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, A431 및 A431-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, Fadu 및 Fadu-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작

할 수 있다. 일부 구현예에서, SK-OV-3 및 SK-OV-3-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, NCI-H460 및 NCI-H460-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, U-87 및 U-87-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, MCF7 및 MCF7-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, MDA-MB-231 및 MDA-MB-231-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 일부 구현예에서, NCI-H460 및 NCI-H460-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다.

[0581] 일부 구현예에서, 기계적 수단 (캘리퍼) 및 생체내 이미징 시스템 (IVIS)을 이용해 종양 부피를 측정함으로써 모니터링을 수행한다. 일부 구현예에서, 종양 부피를 정량할 수 있으며, 침윤성 T-세포 집단을 FACS에 의해 분석할 수 있다.

[0582] iii. 형질전환 마우스 모델에서의 독성 및 종양 증식 동역학

[0583] 일부 구현예에서, 인간 aCAR 및 iCAR 표적을 발현하는 형질전환 마우스를 또한 이용해, 형질도입된 T-세포의 효능을 측정할 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 시스템으로 효능 및 독성 문제를 모니터링할 수 있게 된다.

[0584] C. 생체내 용도: 치료, 바이오마커

[0585] 또 다른 측면에서, 본 발명은 LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 개체에 대한 개인맞춤형 바이오마커를 선택하는 방법을 제공하며, 이 방법은 (i) 개체로부터 종양 생검을 획득하는 단계; (ii) 개체로부터 정상 조직 샘플, 예를 들어 PBMC를 획득하는 단계; 및 (iii) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하여, 개체에 대한 개인맞춤형 바이오마커를 식별하는 단계를 포함한다.

[0586] 일부 구현예에서, 바이오마커를 이용해 개체의 치료를 맞춤 설계하므로, 이러한 방법은 환자에게 상지에서 정의되는 작동자 면역 세포를 투여하는 것을 포함하는 LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하는 단계를 더 포함하며, 이때 iCAR은 (iii)에서 식별된 단일 대립유전자 변이체를 겨냥한다. 일부 구현예에서, 본 발명은, (i) 개체로부터 종양 생검을 획득하는 단계; (ii) 개체로부터 정상 조직 샘플, 예를 들어 PBMC를 획득하는 단계; 및 (iii) LOH 후보 점수에 기초하여, LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하는 단계를 포함하고, 대립유전자 변이체를 개체에 대한 개인맞춤형 바이오마커로서 식별하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 개체에서 개인맞춤형 바이오마커를 선택하는 방법을 제공한다.

[0587] 다른 측면에서, 본 발명은, 상기에 정의된 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, iCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 코딩하는 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하는, LOH를 특징으로 하는 종양 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0588] 유사한 측면에서, 본 발명은, 상기에 정의된 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, iCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포 상에 또는 적어도 aCAR이 발현되는 주요 조직 상에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 코딩하는 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하는 것인, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 개체에서 종양 부피를 낮추는 방법을 제공한다.

[0589] 또 다른 유사한 측면에서, 본 발명은, 상기에 정의된 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, iCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포 상에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 코딩하는 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하는 것인, LOH를 특징으로 하는 종양을 갖는 개체에서 생존성을 높이는 방법을 제공한다.

[0590] 또 다른 측면에서, 본 발명은, iCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포 상에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 코딩하는 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자를 치료하거나, 종양 부피를 낮추거나 또는 생존성을 높이는데 사용하기 위한 상기에서 정의되는 안전한 작동자 면역 세포에 관한 것이다.

- [0591] 또 다른 측면에서, 본 발명은, (i) LOH로 인해 종양 세포에서는 발현되지 않지만 정상 조직 세포에서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하거나 또는 식별 정보를 획득하는 단계, (ii) 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하거나 또는 식별 정보를 획득하는 단계로서, 여기서 에피토프는 종양-관련 항원이거나, 또는 암 환자에서 적어도 관련 종양 및 정상 조직 세포들에서 공유되는 것인, 단계; (iii) 본원의 상기에서 정의되는 iCAR을 정의하는 하나 이상의 핵산 분자 및 본원의 상기에서 정의되는 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 핵산 분자, 또는 본원의 상기에서 정의되는 하나 이상의 벡터를 선택 또는 입수하는 단계로서, iCAR이 (i)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하고, aCAR이 (ii)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 단계; (iv) 작동자 면역 세포에 (iii)의 핵산 분자를 형질감염시키거나 또는 작동자 면역 세포에 (iii)의 벡터를 형질도입함으로써 안전한 재지시된 작동자 면역 세포의 하나 이상의 집단을 제조 또는 획득하는 단계; 및 (v) 암 환자에게 (iv)의 안전한 재지시된 면역 작동자 세포의 하나 이상의 집단을 투여하는 단계를 포함하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0592] 유사한 측면에서, 본 발명은, 안전한 재지시된 면역 세포가 (i) LOH로 인해 종양 세포에서는 발현되지 않지만 정상 조직 세포에서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하거나 또는 식별 정보를 획득하는 단계, (ii) 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하거나 또는 식별 정보를 획득하는 단계로서, 여기서 에피토프는 종양-관련 항원이거나, 또는 암 환자에서 적어도 관련 종양 및 정상 조직 세포들에 공유되는 것인, 단계; (iii) 본원의 상기에서 정의되는 iCAR을 정의하는 하나 이상의 핵산 분자 및 본원의 상기에서 정의되는 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 핵산 분자, 또는 본원의 상기에서 정의되는 하나 이상의 벡터를 선택 또는 입수하는 단계로서, iCAR이 (i)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하고, aCAR이 (ii)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는, 단계; (iv) 작동자 면역 세포에 (iii)의 핵산 분자를 형질감염시키거나 또는 작동자 면역 세포에 (iii)의 벡터를 형질도입함으로써 안전한 재지시된 작동자 면역 세포의 하나 이상의 집단을 제조 또는 획득하는 단계에 의해 수득되는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하기 위한 안전한 재지시된 면역 작동자 세포의 하나 이상의 집단을 제공한다.
- [0593] 암 치료 방법 또는 암을 치료하는데 사용하기 위한 안전한 면역 작동자 세포에 대한 상기한 구현예들 중 중 어느 하나를 언급하는 일부 구현예에서, (i) iCAR의 세포의 도메인은, aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 항원과는 다른 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; (ii) iCAR의 세포의 도메인은 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 항원과 동일한 항원의 다른 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; 또는 (iii) iCAR의 세포의 도메인은 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 것과 동일한 다형성 세포 표면 에피토프에 대한 다른 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합한다.
- [0594] 일부 구현예에서, 치료시, (iii)의 aCAR을 발현하지만 (iii)의 iCAR은 결핍된 면역 작동자 세포의 하나 이상의 집단을 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료와 비교하여, 온-표적 오프-종양 반응이 감소된다.
- [0595] 일부 구현예에서, 상기에 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는, 그 표면 상에, 종양-관련 항원 또는 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 aCAR, 및 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 항원과는 다른 항원, 즉 하우스키핑 단백질 또는 종양 기원 조직에서 적어도 발현되는 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 iCAR을 발현한다.
- [0596] 일부 구현예에서, 상기에 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는, 그 표면 상에, 종양-관련 항원 또는 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 aCAR, 및 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 항원과는 다른 항원, 즉 HLA 유전자 (예를 들어, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ 또는 HLA-DR 등)과 같은 하우스키핑 단백질 또는 종양 기원 조직에서 적어도 발현되는 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 iCAR을 발현한다.
- [0597] 일부 구현예에서, 상기에 정의된 암을 치료하기 위해 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는, 그의 표면 상에, 종양-관련 항원 또는 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는 aCAR, 및 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 항원과는 다른 항원, 즉 HLA-A와 같은 종양 기원 조직에서 적어도 발현되는 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을

포함하는 iCAR을 발현한다.

[0598] 일부 구현예에서, 2 이상의 면역 작동자 세포 집단을 투여하고, 서로 다른 집단은 서로 다른 유전자 산물의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는, 수개의 aCAR 및 iCAR 쌍을 발현한다.

[0599] 일부 구현예에서, 암 치료 방법에 사용되는 안전한 작동자 면역 세포는 T 세포, 자연 살상 세포 또는 사이토카인-유도성 살상 세포로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 자가 또는 유니버설 (동종 이계) 작동자 세포이다. 일부 구현예에서, 상기에서 정의되는 암 치료들 중 어느 하나에 사용되는 iCAR은 aCAR의 표적-항원이 존재하는 환자의 모든 조직을 겨냥하며, aCAR의 표적 항원은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체이며, 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 적어도 관련 종양과 정상 조직 세포에 의해 공유되는 것이다.

[0600] 일부 구현예에서, 암은 급성 골수성 백혈병 [LAML], 부신피질 암종 [ACC], 방광 요로상피세포 암종 [BLCA], 뇌저등급 신경교종 [LGG], 유방 침습성 암종 [BRCA], 자궁경부 편평 세포 암종 및 자궁경관 선암종 [CESC], 담관 암종 [CHOL], 결장 선암종 [COAD], 식도 암종 [ESCA], 다형성 교모세포종 [GBM], 두경부 편평 세포 암종 [HNSC], 신장 비염색성 세포 [KICH], 신장 투명 신세포 암종 [KIRC], 신장 유두상 신세포 암종 [KIRP], 간 간세포암 [LIHC], 폐 선암종 [LUAD], 폐 편평 세포 암종 [LUSC], 림프 신생물 미만성 거대 B-세포 림프종 [DLBC], 중피종 [MESO], 난소 장액성 낭선암종 [OV], 췌장 선암종 [PAAD], 갈색세포종 및 부신경절종 [PCPG], 전립선 선암종 [PRAD], 직장 선암종 [READ], 육종 [SARC], 피부 흑색종 [SKCM], 위 선암종 [STAD], 고환 생식 세포 종양 [TGCT], 흉선종 [THYM], 갑상선 암종 [THCA], 자궁 암육종 [UCS], 자궁 체부 자궁내막 암종 [UCEC], 포도막 흑색종 [UVM]으로부터 선택된다.

[0601] 일부 구현예에서, 암 치료에 사용하기 위한 iCAR 및/또는 pCAR은 본원에 기술된 임의의 iCAR 및/또는 pCAR이다. 일부 구현예에서, 전술한 암 유형들 중 어느 하나와 같은 암을 치료하기 위해 사용되는 iCAR 및/또는 pCAR은 HLA 유전자 (예, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ 또는 HLA-DR, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자)의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 표 8에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대한 것이다. 일부 구현예에서, 전술한 암 유형들 중 어느 하나와 같은 암을 치료하기 위해 사용되는 iCAR은 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 표 8에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대한 것이고; 전술한 암 유형들 중 어느 하나와 같은 암을 치료하기 위해 사용되는 aCAR은 CD19와 같이 표 1에 열거된 항원으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 전술한 암 유형들 중 어느 하나와 같은 암을 치료하기 위해 사용되는 iCAR은 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 표 8에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대한 것이고; 전술한 암 유형들 중 어느 하나와 같은 암을 치료하기 위해 사용되는 aCAR은 EGFR과 같이 표 1에 열거된 항원으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 전술한 암 유형들 중 어느 하나와 같은 암을 치료하기 위해 사용되는 iCAR은 HLA-A 유전자, HLA-B 유전자 또는 HLA-C 유전자의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합하거나, 또는 표 8에 열거된 유전자의 단일 대립유전자 변이체에 대한 것이고; 전술한 암 유형들 중 어느 하나와 같은 암을 치료하기 위해 사용되는 aCAR은 HER2와 같이 표 1에 열거된 항원으로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.

[0602] 경구 투여하는 경우, 약학적 제제는 액체 형태, 예를 들어 용액, 시럽 또는 현탁물일 수 있거나, 또는 사용 전에 물 또는 다른 적절한 비히클을 사용해 재구성하기 위한 약물로서 제공될 수 있다. 이러한 액체 제제는 약학적으로 허용가능한 첨가제, 예를 들어 현탁화제 (예를 들어, 소르비톨 시럽, 셀룰로스 유도체 또는 경화된 식용 지방); 유화제 (예를 들어, 레시틴 또는 아카시아); 비-수성 비히클 (예를 들어, 아몬드 오일, 유성 에스테르 또는 분별 식물성 오일); 및 보존제 (예를 들어, 메틸 또는 프로필-p-하이드록시벤조에이트 또는 소르브산)를 사용하여 통상적인 수단에 의해 제조할 수 있다. 이러한 약학적 조성물은, 예를 들어, 약학적으로 허용가능한 부형제, 예를 들어 결합제 (예를 들어, 전호화 옥수수 전분, 폴리비닐 피롤리돈 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스); 충전제 (예를 들어, 락토스, 미정질 셀룰로스 또는 인산 수소 칼슘); 윤활제 (예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 또는 실리카); 붕해제 (예를 들어, 감자 전분 또는 소듐 스타치 글리콜레이트); 또는 습윤제 (예를 들어, 소듐 라우릴 설페이트)를 사용하여 통상적인 수단에 의해 제조된 정제 또는 캡슐제 형태를 취할 수 있다. 정제는 당업계에 널리 공지된 방법으로 코팅할 수도 있다.

- [0603] 경구 투여용 제제는 활성 화합물의 제어 방출을 제공하도록 적절하게 제형화할 수 있다.
- [0604] 볼 투여하는 경우, 조성물은 통상적인 방식으로 제형화된 정제 또는 로젠지 형태를 취할 수 있다.
- [0605] 조성물은 주사, 예를 들어 볼루스 주사 또는 연속 주입에 의한 비경구 투여용으로 제형화할 수 있다. 주사용 제형은 보존제가 첨가된 단위 투약 형태, 예를 들어 앰플 또는 다중 용량 용기 (multidose container) 안에 제공될 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중의 현탁제, 용액 또는 에멀전과 같은 형태를 취할 수 있으며, 현탁화제, 안정제 및/또는 분산제와 같은 제형 보조제를 포함할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 사용 전 적정 비히클, 예를 들어 무균성 발열원-비함유 물로 구성하기 위한 분말 형태일 수 있다.
- [0606] 조성물은 또한, 예를 들어 통상적인 좌약 기제, 예를 들어 코코아 버터 또는 기타 글리세리드를 포함하는 좌제 또는 정제 관장제와 같은 직장 조성물로 제형화할 수 있다.
- [0607] 흡입 투여하는 경우, 본 발명에 따라 사용하기 위한 조성물은, 적절한 추진제, 예를 들어 다이클로로다이플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 다이클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 기타 적절한 기체를 사용해, 가압된 팩 또는 분무기로부터 에어로졸 스프레이 형태로 편리하게 전달된다. 가압 에어로졸의 경우, 용량 단위는 계량된 양을 전달하기 위한 밸브를 구비함으로써 결정할 수 있다. 화합물의 분말 혼합물 및 락토스 또는 전분과 같은 적절한 분말 기제를 수용하는, 예를 들어 젤라틴으로 된 카트리지 및 캡슐을 흡입기 또는 취입기에 사용하도록 제형화할 수 있다.
- [0608] 명확하게 하기 위해, 그리고 본 교시 내용의 범위를 제한하지 않는 방식으로, 달리 명시되지 않는 한, 본원에 언급된 수량, 백분율 또는 비율을 나타내는 모든 숫자, 및 기타 수치들은, 모든 경우에서, 용어 "약"이 앞에 붙는 것으로 해석하여야 한다. 즉, 본 명세서에 언급된 수치 파라미터는 요망하는 결과에 따라 달라질 수 있는 근사치이다. 예를 들어, 각각의 수치 파라미터는, 기재된 유효 자릿수를 고려하여, 통상의 반올림 기술을 적용하여 이해될 수 있다.
- [0609] 본원에서, 용어 "약"은 표시된 값의 상하 10% 이하의 값 역시 포함하는 것을 의미한다.
- [0610] **예시적인 구현예 세트 1**
- [0611] 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은 하기 예시적인 구현예들을 제공한다.
- [0612] 1. 핵산 분자로서, 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호성 키메라 항원 수용체 (pCAR)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, iCAR 또는 pCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 포유류 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인; 및 작동자 면역 세포를 저해하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 포함하는, 핵산 분자.
- [0613] 2. 제1항에 있어서, 상기 다형성 세포 표면 에피토프가 HLA 유전자, G-단백질-커플링된 수용체 (GPCR), 이온 채널 또는 수용체 티로신 키나제와 같은 하우스키핑 유전자 산물의 것이고, 바람직하게는 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C; 또는 표 8로부터 선택된 유전자의 다형성 세포 표면 에피토프인, 핵산 분자.
- [0614] 3. 제1항에 있어서, 상기 세포의 도메인이 (i) 항체, 그 유도체 또는 단편, 예를 들어 인간화 항체; 인간 항체; 항체의 기능성 단편; 나노바디 (nanobody)와 같은 단일-도메인 항체; 재조합 항체; 및 단쇄 가변설 단편 (ScFv); (ii) 항체 모방체, 예를 들어 어피바디 (affibody) 분자; 아필린 (affilin); 아피머 (affimer); 아피틴 (affitin); 알파바디 (alphabody); 안티칼린 (anticalin); 아비머 (avimer); 다르핀 (DARPin); 피노머 (fynomer); 쿠니츠 (Kunitz) 도메인 펩타이드; 및 모노바디 (monobody); 또는 (iii) 앵타머를 포함하는, 핵산 분자.
- [0615] 4. 제1항에 있어서, 상기 포유류 조직이 인간 조직이고, 상기 관련 포유류 정상 조직이 종양 발생의 기원이 되는 정상 조직인, 핵산 분자.
- [0616] 5. 제1항에 있어서, 상기 작동자 면역 세포가 T 세포, 자연 살상 세포 또는 사이토카인-유도성 살상 세포인, 핵산 분자
- [0617] 6. 제1항에 있어서, 작동자 면역 세포를 저해할 수 있는 상기 하나 이상의 신호 전이 인자가 면역 체크포인트 단백질의 신호 전이 인자와 상동적인, 핵산 분자.

- [0618] 7. 제6항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 단백질이 PD1; CTLA4; BTLA; 2B4; CD160; CEACAM1과 같은 CEACAM; KIR, 예로 KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, LIR1, LIR2, LIR3, LIR5, LIR8 및 CD94-NKG2A; LAG3; TIM3; T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제인자 (VISTA); 인터페론 유전자의 자극인자 (STING); 면역수용체 티로신계 저해 모티프 (ITIM)-함유 단백질, T 세포 면역글로불린 및 ITIM 도메인 (TIGIT), 및 아티노신 수용체 (예, A2aR)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 핵산 분자.
- [0619] 8. 제1항에 있어서, 상기 세포의 도메인이 유연한 힌지 및 막관통 표준 모티프를 통해 상기 세포내 도메인과 융합되는, 핵산 분자.
- [0620] 9. 벡터로서, 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 핵산 분자, 및 상기 핵산 분자에 작동가능하게 연결된 프로모터와 같은 하나 이상의 조절 인자를 포함하는, 벡터.
- [0621] 10. 제9항에 있어서, 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인과 작동자 면역 세포를 활성화 및/또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 포함하는 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 더 포함하고, 상기 에피토프가 종양-관련 항원이거나 또는 관련 종양 세포와 정상 조직 세포에 의해 적어도 공유되는 것인, 벡터.
- [0622] 11. 제10항에 있어서, aCAR의 세포의 도메인은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하고, iCAR의 세포의 도메인은 aCAR의 세포의 도메인이 결합하는 항원과는 다른 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는, 벡터.
- [0623] 12. 제10항 또는 제11항에 있어서, aCAR의 세포의 도메인이 표 1에 열거된 항원, 예를 들어 CD19, EGFR 또는 HER2로부터 선택되는 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는, 벡터.
- [0624] 13. 제10항에 있어서, 작동자 면역 세포를 활성화 또는 공동-자극하는 상기 하나 이상의 신호 전이 인자가, 예를 들어 CD3  $\zeta$  또는 FcR  $\gamma$  쇄의 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM); KIR2DS 및 KIR3DS와 같은 활성화 살상 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR), 또는 DAP12와 같은 어댑터 분자; 또는 예를 들어 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB) 또는 CD134 (OX40)의 공동-자극성 신호 전이 인자와 상동적인, 벡터.
- [0625] 14. 제10항에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열이 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 및 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 내부 리보솜 도입 부위 (IRES)를 포함하는, 벡터.
- [0626] 15. 제14항에 있어서, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치하는, 벡터.
- [0627] 16. 제10항에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열이, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드를 포함하는, 벡터.
- [0628] 17. 제16항에 있어서, 상기 바이러스성 자가-절단 2A 펩타이드가 토세아 아시그나 바이러스 (TaV) 유래 T2A, 구 제역 바이러스 (FMDV) 유래 F2A, 에퀸 리니티스 A 바이러스 (ERAV) 유래 E2A 및 돼지 테스코바이러스-1 (PTV1) 유래 P2A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 벡터.
- [0629] 18. 제10항에 있어서, 유연한 링커를 통해 iCAR에 연결된 구성적 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 벡터.
- [0630] 19. 제1항 내지 제8항에 정의된 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 제조하는 방법으로서,
- [0631] (i) 공지된 변이체에 대한 하나 이상의 데이터베이스로부터 단백질-코딩 유전자의 인간 게놈 변이체의 목록을 검색하는 단계;
- [0632] (ii) (a) 상응하는 기준 대립유전자와 비교하여 각각의 유전자에 의해 코딩되는 단백질에서 아미노산 서열 변이를 야기하는 변이체를 선택하고,
- [0633] (b) 아미노산 서열 변이가 코딩된 단백질의 세포의 도메인에 존재하는 유전자의 변이체를 선택하고,
- [0634] (c) 적어도 하나의 종양에서 이형접합성 소실 (LOH)을 겪는 유전자의 변이체를 선택하고,
- [0635] (d) (c)에 따라 LOH를 겪는 하나 이상의 종양의 기원 조직에서 적어도 발현되는 유전자의 변이체를 선택하여,

LOH로 인해 하나 이상의 종양에서 소실되고 적어도 하나 이상의 종양의 기원 조직에서 발견되는 각각의 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 세포외 도메인에 아미노산 서열 변이를 가진 변이체의 목록을 획득함으로써, (i)에서 검색한 변이체의 목록을 선별하는 단계;

- [0636] (iii) (ii)에서 획득한 목록으로부터 하나 이상의 단일 변이체를 포함하는 서열 영역을 정의하고, 하나 이상의 단일 변이체를 포함하는 상기 서열 영역과 상응하는 기준 대립유전자를 포함하는 서열 영역을 서브클로닝하고 발현시켜, 각각의 에피토프 펩타이드를 수득하는 단계;
- [0637] (iv) (iii)에서 수득한, 클로닝한 서열 영역에 의해 코딩되는 에피토프 펩타이드 또는 상응하는 기준 대립유전자에 의해 코딩되는 에피토프 펩타이드에 특이적으로 결합하는 iCAR 결합 도메인을 선택하는 단계; 및
- [0638] (vii) (iv)에 정의된 iCAR 결합 도메인을 각각 포함하는 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 정의된 iCAR을 제조하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0639] 20. 제19항에서, 각각의 변이체에 대한 마이너 대립유전자 빈도가 1, 2, 3, 4 또는 5% 이상인, 방법.
- [0640] 21. 안전한 작동자 면역 세포를 제조하는 방법으로서, (i) 종양-관련 항원을 겨냥하는 TCR-조작된 작동자 면역 세포에 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 형질감염시키거나 또는 상기 세포에 제9항의 벡터를 형질도입하는 단계; 또는 (ii) 나이브 작동자 면역 세포에 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 제10항 내지 제13항 중 어느 한 항의 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 형질감염시키는 단계; 또는 작동자 면역 세포에 제10항 내지 제18항 중 어느 한 항의 벡터를 형질도입하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0641] 22. 제21항의 방법에 의해 수득되는, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0642] 23. 제22항에 있어서, 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 항원과는 다른 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR을 표면에 발현하는, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0643] 24. 제22항 또는 제23항에 있어서, aCAR의 세포외 도메인이 표 1에 열거된 항원, 예를 들어 CD19, EGFR 또는 HER2로부터 선택된 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0644] 25. 제22항에 있어서, 상기 aCAR 및 iCAR이 별개의 단백질로서 세포 표면 상에 존재하는, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0645] 26. 제22항에 있어서, iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 발현 수준이 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 발현 수준보다 높거나 또는 비슷한, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0646] 27. LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 개체에 대한 개인맞춤형 바이오마커를 선택하는 방법으로서,
- [0647] (i) 상기 개체로부터 종양 생검을 수득하는 단계;
- [0648] (ii) 상기 개체로부터 정상 조직의 샘플, 예를 들어 PBMC를 수득하는 단계;
- [0649] (iii) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발견되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발견되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하여, 상기 개체에 대한 개인맞춤형 바이오마커를 식별하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0650] 28. LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 제22항의 작동자 면역 세포를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, iCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 코딩하는 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하는, 방법.
- [0651] 29. LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자를 치료하는데 사용하기 위한 제22항의 안전한 작동자 면역 세포로서, iCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 코딩하는 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하는, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0652] 30. 제29항에 있어서, 상기 치료가, (iii)의 aCAR을 발현하지만 (iii)의 iCAR은 결핍된 면역 작동자 세포의 하나 이상의 집단을 상기 암 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료와 비교해, 온-표적 오프-종양 반응성이 낮

은, 안전한 작동자 면역 세포.

- [0653] 31. 제29항에 있어서, 종양-관련 항원 또는 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포 외 도메인을 포함하는 aCAR, 및 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 항원과 다른 항원인, HLA-A와 같은 하우스키핑 단백질 또는 적어도 종양의 기원 조직에서 발현되는 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인을 포함하는 iCAR을 표면에 발현하는, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0654] 32. 제28항에 있어서, 자가 또는 유니버설 (동종이계) 작동자 세포인, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0655] 33. 제28항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, T 세포, 자연 살상 세포 또는 사이토카인-유도성 살상 세포로부터 선택되는, 안전한 작동자 면역 세포.
- [0656] 34. 2 이상의 핵산 분자들의 조합으로서, 각각의 핵산 분자가 제어된 작동자 면역 세포 활성화 시스템의 서로 다른 구성원을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 핵산 분자가 단일한 연속적인 핵산 분자를 형성하거나, 또는 2 이상의 분리된 핵산 분자들을 포함하고, 상기 제어된 작동자 면역 활성화 시스템이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 하나 이상의 염색체 또는 그의 단편을 소실한 종양 세포는 사멸시키고 관련된 정상 조직의 세포는 보존하도록 작동자 면역 세포에 지시하고,
- [0657] (a) 제1 구성원은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다른 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제1 세포의 도메인을 포함하는 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR) 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 비-다형성 또는 다형성 세포 표면 에피토프가 종양-관련 항원이거나 또는 관련 비-정상 및 정상 포유류 조직의 세포들에 공유되는 것이고;
- [0658] (b) 제2 구성원은 LOH로 인해 비정상 포유류 조직에 의해 발현되지는 않지만 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포 상에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제2 세포의 도메인을 포함하는 조절성 폴리펩타이드를 포함하는, 조합.
- [0659] 35. 제34항에 있어서, 상기 제1 구성원이,
- [0660] (a) 작동자 면역 세포를 활성화 및/또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 구성적 aCAR; 및
- [0661] (b) 이종이량화 소분자에 대한 결합 부위의 제1 구성원 및 선택적으로 하나 이상의 공동-자극성 신호 전이 인자를 포함하지만 활성화 신호 전이 인자는 결합된 세포내 도메인을 추가로 포함하는 조건부 aCAR로부터 선택되고; 상기 제2 구성원은,
- [0662] (c) 작동자 면역 세포를 저해하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 추가로 포함하는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR); 또는
- [0663] (d) 셰다제 (sheddase) 기질을 포함하는 세포외 조절 영역; 막내-절단 프로테아제 기질을 포함하는 막관통 표준 모터프; 및 세포내 도메인을 추가로 포함하는 보호성 키메라 항원 수용체 (pCAR)이고, 상기 세포내 도메인이 작동자 면역 세포를 활성화 및/또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자 및 이종이량화 소분자에 대한 결합 부위의 제2 구성원을 포함하는, 조합.
- [0664] 36. 제34항 또는 제35항에 있어서,
- [0665] (i) iCAR 또는 pCAR의 세포외 도메인은, aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 항원과 다른 항원의 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나;
- [0666] (ii) pCAR 또는 iCAR의 세포외 도메인은 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 항원과 동일한 항원의 상이한 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하거나; 또는
- [0667] (iii) pCAR 또는 iCAR의 세포외 도메인은 aCAR의 세포외 도메인이 결합하는 것과 동일한 다형성 세포 표면 에피토프에 대한 상이한 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는, 조합.
- [0668] 37. 제34항에 있어서, 셰다제 기질이 디스인테그린 및 메탈로프로테이나제 (ADAM) 또는  $\beta$ -세크레타제1 (BACE 1)에 대한 기질인, 조합.
- [0669] 38. 제37항에 있어서, 상기 기질이 상기 세포외 도메인의 일부를 형성하고, Lin12/Notch 반복부 및 ADAM 프로테아제 절단 부위를 포함하는, 조합.

- [0670] 39. 제34항에 있어서, 상기 막내-절단 프로테아제 기질이 SP2,  $\gamma$ -세크레타제, 신호 펩타이드 펩티다제 (spp), spp-유사 프로테아제 또는 롬보이드 프로테아제에 대한 기질인, 조합.
- [0671] 40. 제39항에 있어서, 상기 기질이 막관통 표준 모티프의 일부를 형성하고, Notch, ErbB4, E-카드헤린, N-카드헤린, 에프린-B2, 아밀로이드 전구체 단백질 또는 CD44의 막관통 도메인과 상동적인/이로부터 유래되는, 조합.
- [0672] 41. 제34항에 있어서, 상기 조건부 aCAR의 세포외 도메인 및 세포내 도메인을 분리된 단백질로서의 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 각각의 도메인이 막관통 표준 모티프에 독립적으로 융합되고, 이종이량화 소분자에 대한 결합 부위의 서로 다른 구성원을 포함하는, 조합.
- [0673] 42. 제34항에 있어서, 상기 이종이량화 소분자에 대한 결합 부위의 제1 및 제2 구성원이 각각 하기로부터 선택되는 단백질로부터 유래되는, 조합:
- [0674] (i) 타크로리무스 (FK506) 결합 단백질 (FKBP) 및 FKBP;
- [0675] (ii) FKBP 및 칼시뉴린 촉매성 서브유닛 A (CnA);
- [0676] (iii) FKBP 및 사이클로필린;
- [0677] (iv) FKBP 및 FKBP-라파마이신 관련 단백질 (FRB);
- [0678] (v) 기라제 B (GyrB) 및 GyrB;
- [0679] (vi) 다이하이드로폴레이트 리덕타제 (DHFR) 및 DHFR;
- [0680] (vii) DmrB 동종이량화 도메인 (DmrB) 및 DmrB;
- [0681] (viii) PYL 단백질 (아브시스산 수용체 및 RCAR로도 알려짐) 및 ABI; 및
- [0682] (ix) GAI 아라비도시스 탈리아나 단백질 (지베렐린산 둔감성 및 DELLA 단백질 GAI; GAI로도 알려짐) 및 GID1 아라비도시스 탈리아나 단백질 (지베렐린 수용체 GID1; GID1로도 알려짐).
- [0683] **예시적인 구현예 세트 2**
- [0684] 일부 측면에서, 본 발명은, 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR) 또는 보호성 키메라 항원 수용체 (pCAR)를 제조하기 위한 표적을 식별하는 방법으로서, 표적이 하기 단계를 포함하는 방법에 의해 식별되는, 방법을 제공한다:
- [0685] (i) 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 단백질을 코딩하는, 대립유전자 2가지 이상이 발현되는, 유전자를 식별하는 단계;
- [0686] (ii) 발현되는 대립유전자 하나 이상이 세포의 다형성 에피토프 기준 서열과 비교해, 세포의 다형성 에피토프 서열에 아미노산 서열 변화를 발생시키는 지를 확인하는 단계;
- [0687] (iii) 상기 유전자가 종양 유형에서 이형접합성 소실 (LOH)된 염색체 영역에 위치하는지를 확인하는 단계; 및
- [0688] (iv) 상기 유전자가 LOH된 것으로 확인된 염색체 영역이 존재하는 종양 유형의 기원 조직에서 발현되는지를 확인하는 단계.
- [0689] 일부 구현예에서, LOH 위치는 치환, 결손 및 삽입으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, LOH 위치는 SNP이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA 유전자이다.
- [0690] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-G, HLA-E, HLA-F, HLA-K, HLA-L, HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ 또는 HLA-DR 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-A 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-B 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-C 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-G 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-E 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-F 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-K 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-L 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-DM 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 HLA-DO 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프는 HLA-DP 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포

의 다형성 에피토프는 HLA\_DQ 유전자이다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프는 HLA-DR 유전자이다.

[0691] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 1번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCA4, ADAM30, AQP10, ASTN1, C1orf101, CACNA1S, CATSPER4, CD101, CD164L2, CD1A, CD1C, CD244, CD34, CD46, CELSR2, CHRN2, CLCA2, CLDN19, CLSTN1, CR1, CR2, CRB1, CSF3R, CSMD2, ECE1, ELTD1, EMC1, EPHA10, EPHA2, EPHA8, ERMAPP, FCAMR, FCER1A, FCGR1B, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, FCRL1, FCRL3, FCRL4, FCRL5, FCRL6, GJB4, GPA33, GPR157, GPR37L1, GPR88, HCRTR1, IGSF3, IGSF9, IL22RA1, IL23R, ITGA10, KIAA1324, KIAA2013, LDLRAD2, LEPR, LGR6, LRIG2, LRP8, LRRC52, LRRC8B, LRRN2, LY9, MIA3, MR1, MUC1, MXRA8, NCSTN, NFASC, NOTCH2, NPR1, NTRK1, OPN3, OR10J1, OR10J4, OR10K1, OR10R2, OR10T2, OR10X1, OR11L1, OR14A16, OR14I1, OR14K1, OR2AK2, OR2C3, OR2G2, OR2G3, OR2L2, OR2M7, OR2T12, OR2T27, OR2T1, OR2T3, OR2T29, OR2T33, OR2T34, OR2T35, OR2T3, OR2T4, OR2T5, OR2T6, OR2T7, OR2T8, OR2W3, OR6F1, OR6K2, OR6K3, OR6K6, OR6N1, OR6P1, OR6Y1, PDPN, PEAR1, PIGR, PLXNA2, PTCH2, PTCHD2, PTGFRN, PTPRC, PTPRF, PTGFRN, PVRL4, RHBG, RXFP4, S1PR1, SCN1D, SDC3, SELE, SELL, SELP, SEMA4A, SEMA6C, SLAMF7, SLAMF9, SLC2A7, SLC5A9, TACSTD2, TAS1R2, TIE1, TLR5, TMEM81, TNFRSF14, TNFRSF1B, TRABD2B, USH2A, VCAM1 및 ZP4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0692] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 2번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCG5, ALK, ASPRV1, ATRAID, CD207, CD8B, CHRNG, CLEC4F, CNTNAP5, CRIM1, CXCR1, DNER, DPP10, EDAR, EPCAM, GPR113, GPR148, GPR35, GPR39, GYPC, IL1RL1, ITGA4, ITGA6, ITGAV, LCT, LHCGR, LRP1B, LRP2, LY75, MARCO, MERTK, NRP2, OR6B2, PLA2R1, PLB1, PROKR1, PROM2, SCN7A, SDC1, SLC23A3, SLC5A6, TGOLN2, THSD7B, TM4SF20, TMEFF2, TMEM178A, TPO 및 TRABD2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0693] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 3번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ACKR2, ALCAM, ANO10, ATP13A4, BTLA, CACNA1D, CACNA2D2, CACNA2D3, CASR, CCRL2, CD200, CD200R1, CD86, CD96, CDCP1, CDHR4, CELSR3, CHL1, CLDN11, CLDN18, CLSTN2, CSPG5, CX3CR1, CXCR6, CYP8B1, DCBLD2, DRD3, EPHA6, EPHB3, GABRR3, GP5, GPR128, GPR15, GPR27, GRM2, GRM7, HEG1, HTR3C, HTR3D, HTR3E, IGSF11, IL17RC, IL17RD, IL17RE, IL5RA, IMPG2, ITGA9, ITGB5, KCNMB3, LRIG1, LRRC15, LRRN1, MST1R, NAALADL2, NRROS, OR5AC1, OR5H1, OR5H14, OR5H15, OR5H6, OR5K2, OR5K3, OR5K4, PIGX, PLXNB1, PLXND1, PRRT3, PTPRG, ROBO2, RYK, SEMA5B, SIDT1, SLC22A14, SLC33A1, SLC4A7, SLITRK3, STAB1, SUSD5, TFRC, TLR9, TMEM108, TMEM44, TMPRSS7, TNFSF10, UPK1B, VIPR1 및 ZPLD1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0694] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 4번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ANTXR2, BTC, CNGA1, CORIN, EGF, EMCN, ENPEP, EPHA5, ERVMER34-1, EVC2, FAT1, FAT4, FGFRL1, FRAS1, GPR125, GRID2, GYPA, GYPB, KDR, KIAA0922, KLB, MFSD8, PARM1, PDGFRA, RNF150, TENM3, TLR10, TLR1, TLR6, TMEM156, TMPRSS11A, TMPRSS11B, TMPRSS11E, TMPRSS11F, UGT2A1 및 UNC5C로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0695] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 5번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ADAM19, ADRB2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C5orf15, CATSPER3, CD180, CDH12, CDHR2, COL23A1, CSF1R, F2RL2, FAM174A, FAT2, FGFR4, FLT4, GABRA6, GABRG2, GPR151, GPR98, GRM6, HAVCR1, HAVCR2, IL31RA, IL6ST, IL7R, IQGAP2, ITGA1, ITGA2, KCNMB1, LIFR, LNPEP, MEGF10, NIPAL4, NPR3, NRG2, OR2V1, OR2Y1, OSMR, PCDH12, PCDH1, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA4, PCDHA8, PCDHA9, PCDHB10, PCDHB11, PCDHB13, PCDHB14, PCDHB15, PCDHB16, PCDHB2, PCDHB3, PCDHB4, PCDHB5, PCDHB6, PCDHGA1, PCDHGA4, PDGFRB, PRLR, SEMA5A, SEMA6A, SGCD, SLC1A3, SLC22A4, SLC22A5, SLC23A1, SLC36A3, SLC45A2, SLC6A18, SLC6A19, SLC6A1, SV2C, TENM2, TIMD4 및 UGT3A1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0696] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 6번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 BA13, BTN1A1, BTN2A1, BTN2A2, BTN3A1, BTN3A2, BTNL2, CD83, DCBLD1, DLL1, DPCR1, ENPP1, ENPP3, ENPP4, EPHA7, GABBR1, GABRR1, GCNT6, GFRAL, GJB7, GLP1R, GPR110, GPR111, GPR116, GPR126, GPR63, GPRC6A, HFE, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DOA, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-E, HLA-F, HLA-G, IL20RA, ITPR3, KIAA0319, LMBRD1, LRFN2, LRP11, MAS1L, MEP1A, MICA, MICB, MOG, MUC21, MUC22, NCR2, NOTCH4, OPRM1, OR10C1,

OR12D2, OR12D3, OR14J1, OR2B2, OR2B6, OR2J1, OR2W1, OR5V1, PDE10A, PI16, PKHD1, PTCRA, PTK7, RAET1E, RAET1G, ROS1, SDIM1, SLC16A10, SLC22A1, SLC44A4, TAAR2, TREM1, TREML1 및 TREML2로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0697] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 7번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 AQP1, C7orf50, CD36, CDHR3, CNTNAP2, DPP6, EGFR, EPHA1, EPHB6, ERVW-1, GHRHR, GJC3, GPNMB, GRM8, HUS1, HYAL4, KIAA1324L, LRRN3, MET, MUC12, MUC17, NPC1L1, NPSR1, OR2A12, OR2A14, OR2A25, OR2A42, OR2A7, OR2A2, OR2AE1, OR2F2, OR6V1, PILRA, PILRB, PKD1L1, PLXNA4, PODXL, PTPRN2, PTPRZ1, RAMP3, SLC29A4, SMO, TAS2R16, TAS2R40, TAS2R4, TFR2, THSD7A, TMEM213, TTYH3, ZAN 및 ZP3로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0698] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 8번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ADAM18, ADAM28, ADAM32, ADAM7, ADAM9, ADRA1A, CDH17, CHRNA2, CSMD1, CSMD3, DCSTAMP, FZD6, GPR124, NRG1, OR4F21, PKHD1L1, PRSS55, SCARA3, SCARA5, SDC2, SLC10A5, SLC39A14, SLC39A4, SLC05A1, TNFRSF10A 및 TNFRSF10B로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0699] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 9번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCA1, AQP7, ASTN2, C9orf135, CA9, CD72, CNTNAP3B, CNTNAP3, CRB2, ENTPD8, GPR144, GRIN3A, IZUMO3, KIAA1161, MAMDC4, MEGF9, MUSK, NOTCH1, OR13C2, OR13C3, OR13C5, OR13C8, OR13C9, OR13D1, OR13F1, OR1B1, OR1J2, OR1K1, OR1L1, OR1L3, OR1L6, OR1L8, OR1N1, OR1N2, OR1Q1, OR2S2, PCSK5, PDCD1LG2, PLGRKT, PTPRD, ROR2, SEMA4D, SLC31A1, TEK, TLR4, TMEM2 및 VLDLR로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0700] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 10번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCC2, ADAM8, ADRB1, ANTXRL, ATRNL1, C10orf54, CDH23, CDHR1, CNM2, COL13A1, COL17A1, ENTPD1, FZD8, FGFR2, GPR158, GRID1, IL15RA, IL2RA, ITGA8, ITGB1, MRC1, NRG3, NPFPR1, NRP1, OPN4, PCDH15, PKD2L1, PLXDC2, PRLHR, RET, RGR, SLC16A9, SLC29A3, SLC39A12, TACR2, TCTN3, TSPAN15, UNC5B 및 VSTM4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0701] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 11번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 AMICA1, ANO1, ANO3, APLP2, C11orf24, CCKBR, CD248, CD44, CD5, CD6, CD82, CDON, CLMP, CRTAM, DCHS1, DSCAML1, FAT3, FOLH1, GPD4, GPD5, GRIK4, HEPHL1, HTR3B, IFITM10, IL10RA, KIRREL3, LGR4, LRP4, LRP5, LRRC32, MCAM, MFRP, MMP26, MPEG1, MRGPRE, MRGPRF, MRGPRX2, MRGPRX3, MRGPRX4, MS4A4A, MS4A6A, MTNR1B, MUC15, NAALAD2, NAALADL1, NCAM1, NRXN2, OR10A2, OR10A5, OR10A6, OR10D3, OR10G4, OR10G7, OR10G8, OR10G9, OR10Q1, OR10S1, OR1S1, OR2AG1, OR2AG2, OR2D2, OR4A47, OR4A15, OR4A5, OR4C11, OR4C13, OR4C15, OR4C16, OR4C3, OR4C46, OR4C5, OR4D6, OR4A8P, OR4D9, OR4S2, OR4X1, OR51E1, OR51L1, OR52A1, OR52E1, OR52E2, OR52E4, OR52E6, OR52I1, OR52I2, OR52J3, OR52L1, OR52N1, OR52N2, OR52N4, OR52W1, OR56B1, OR56B4, OR5A1, OR5A2, OR5AK2, OR5AR1, OR5B17, OR5B3, OR5D14, OR5D16, OR5D18, OR5F1, OR5I1, OR5L2, OR5M11, OR5M3, OR5P2, OR5R1, OR5T2, OR5T3, OR5W2, OR6A2, OR6T1, OR6X1, OR8A1, OR8B12, OR8B2, OR8B3, OR8B4, OR8D1, OR8D2, OR8H1, OR8H2, OR8H3, OR8I2, OR8J1, OR8J2, OR8J3, OR8K1, OR8K3, OR8K5, OR8U1, OR9G1, OR9G4, OR9Q2, P2RX3, PTPRJ, ROBO3, SIGIRR, SLC22A10, SLC3A2, SLC5A12, SLC02B1, SORL1, ST14, SYT8, TENM4, TMEM123, TMEM225, TMPRSS4, TMPRSS5, TRIM5, TRPM5, TSPAN18 및 ZP1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0702] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 12번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ANO4, AVPR1A, BCL2L14, CACNA2D4, CD163, CD163L1, CD27, CD4, CLEC12A, CLEC1B, CLEC2A, CLEC4C, CLEC7A, CLECL1, CLSTN3, GPR133, GPRC5D, ITGA7, ITGB7, KLRB1, KLRC2, KLRC3, KLRC4, KLRF1, KLRF2, LRP1, LRP6, MANSC1, MANSC4, OLR1, OR10AD1, OR10P1, OR2AP1, OR6C1, OR6C2, OR6C3, OR6C4, OR6C6, OR6C74, OR6C76, OR8S1, OR9K2, ORAI1, P2RX4, P2RX7, PRR4, PTPRB, PTPRQ, PTPRR, SCNN1A, SELPLG, SLC2A14, SLC38A4, SLC5A8, SLC6A15, SLC8B1, SLC01A2, SLC01B1, SLC01B7, SLC01C1, SSPN, STAB2, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R46, TAS2R7, TMEM119, TMEM132B, TMEM132C, TMEM132D, TMPRSS12, TNFRSF1A, TSPAN8 및 VSIG10으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0703] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 13번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세

포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ATP4B, ATP7B, FLT3, FREM2, HTR2A, KL, PCDH8, RXFP2, SGGC, SHISA2, SLC15A1, SLITRK6 및 TNFRSF19으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0704] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 14번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ADAM21, BDKRB2, C14orf37, CLEC14A, DLK1, FLRT2, GPR135, GPR137C, JAG2, LTB4R2, MMP14, OR11G2, OR11H12, OR11H6, OR4K1, OR4K15, OR4K5, OR4L1, OR4N2, OR4N5, SLC24A4 및 SYNDIG1L로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0705] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 15번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ANPEP, CD276, CHRNA7, CHRN4, CSPG4, DUOX1, DUOX2, FAM174B, GLDN, IGDCC4, ITGA11, LCTL, LTK, LYSD4, MEGF11, NOX5, NRG4, OCA2, OR4F4, OR4M2, OR4N4, PRTG, RHCG, SCAMP5, SEMA4B, SEMA6D, SLC24A1, SLC24A5, SLC28A1, SPG11, STRA6, TRPM1 및 TYRO3로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0706] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 16번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ATP2C2, CACNA1H, CD19, CDH11, CDH15, CDH16, CDH3, CDH5, CNGB1, CNTNAP4, GDPD3, GPR56, GPR97, IFT140, IL4R, ITFG3, ITGAL, ITGAM, ITGAX, KCNG4, MMP15, MSLNL, NOMO1, NOMO3, OR2C1, PIEZO1, PKD1, PKD1L2, QPRT, SCNN1B, SEZ6L2, SLC22A31, SLC5A11, SLC7A6, SPN, TMC5, TMC7, TMEM204, TMEM219 및 TMEM8A로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0707] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 17번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCC3, ACE, AOC3, ARL17B, ASGR2, C17orf80, CD300A, CD300C, CD300E, CD300LF, CD300LG, CHRN1, CLEC10A, CNTNAP1, CPD, CXCL16, ERBB2, FAM171A2, GCGR, GLP2R, GP1BA, GPR142, GUCY2D, ITGA2B, ITGA3, ITGAE, ITGB3, KCNJ12, LRRC37A2, LRRC37A3, LRRC37A, LRRC37B, MRC2, NGFR, OR1A2, OR1D2, OR1G1, OR3A1, OR3A2, OR4D1, OR4D2, RNF43, SCARF1, SCN4A, SDK2, SECTM1, SEZ6, SHPK, SLC26A11, SLC5A10, SPACA3, TMEM102, TMEM132E, TNFSF12, TRPV3, TTYH2 및 TUSC5로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0708] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 18번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 APCDD1, CDH19, CDH20, CDH7, COLEC12, DCC, DSC1, DSG1, DSG3, DYNAP, MEP1B, PTPRM, SIGLEC15 및 TNFRSF11A로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0709] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 19번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABCA7, ACPT, BCAM, C19orf38, C19orf59, C5AR1, CATSPERD, CATSPERG, CD22, CD320, CD33, CD97, CEACAM19, CEACAM1, CEACAM21, CEACAM3, CEACAM4, CLEC4M, DLL3, EMR1, EMR2, EMR3, ERVV-1, ERVV-2, FAM187B, FCAR, FFAR3, FPR1, FXYD5, GFY, GP6, GPR42, GRIN3B, ICAM3, IGFLR1, IL12RB1, IL27RA, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIRREL2, KISS1R, LAIR1, LDLR, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA6, LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5, LINGO3, LPHN1, LRP3, MADCAM1, MAG, MEGF8, MUC16, NCR1, NOTCH3, NPHS1, OR10H1, OR10H2, OR10H3, OR10H4, OR11I1, OR2Z1, OR7A10, OR7C1, OR7D4, OR7E24, OR7G1, OR7G2, OR7G3, PLVAP, PTGIR, PTPRH, PTPRS, PVR, SCN1B, SHISA7, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC8, SIGLEC9, SLC44A2, SLC5A5, SLC7A9, SPINT2, TARM1, TGFBR3L, TMC4, TMEM91, TMEM161A, TMPRSS9, TNFSF14, TNFSF9, TRPM4, VN1R2, VSIG10L, VSTM2B 및 ZNRF4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0710] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 20번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ABHD12, ADAM33, ADRA1D, APMAP, ATRN, CD40, CD93, CDH22, CDH26, CDH4, FLRT3, GCNT7, GGT7, JAG1, LRRN4, NPBWR2, OCSTAMP, PTPRA, PTPRT, SEL1L2, SIGLEC1, SIRPA, SIRPB1, SIRPG, SLC24A3, SLC2A10, SLC4A11, SSTR4 및 THBD로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0711] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 21번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 CLDN8, DSCAM, ICOSLG, IFNAR1, IFNGR2, IGSF5, ITGB2, KCNJ15, NCAM2, SLC19A1, TMPRSS15, TMPRSS2, TMPRSS3, TRPM2 및 UMODL1으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0712] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 22번 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 CACNA1I, CELSR1, COMT, CSF2RB, GGT1, GGT5, IL2RB, KREMEN1, MCHR1, OR11H1, P2RX6, PKDREJ, PLXNB2, SCARF2, SEZ6L, SSTR3, SUS2, TMPRSS6 및 TNFRSF13C로 이루어진 군

으로부터 선택된다.

- [0713] 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 X 염색체에 위치한다. 일부 구현예에서, 세포의 다형성 에피토프를 포함하는 유전자는 ATP6AP2, ATP7A, CNGA2, EDA2R, FMR1NB, GLRA4, GPR112, GUCY2F, HEPH, P2RY10, P2RY4, PLXNA3, PLXNB3, TLR8, VSIG4 및 XG로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0714] 일부 구현예에서, 종양은 유방 종양, 전립선 종양, 난소 종양, 자궁경부 종양, 피부 종양, 췌장 종양, 결장직장 종양, 신장 종양, 간 종양, 뇌 종양, 림프종, 백혈병, 폐 종양 및 신경교종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0715] 일부 구현예에서, 종양은 부신 종양, 신장 종양, 흑색종, DLBC, 유방 종양, 육종, 난소 종양, 폐 종양, 방광 종양 및 간 종양으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 부신 종양은 부신피질 암종이다. 일부 구현예에서, 신장 종양은 험색소성 신장 세포 암종이다. 일부 구현예에서, 흑색종은 포도막 흑색종이다.
- [0716] 또한, 본 발명은 안전한 작동자 세포를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 (i) 청구항 1항 내지 46항에 따른 iCAR 또는 pCAR, 및 (ii) 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR)를 발현하는 안전한 작동자 면역 세포를 제공한다.
- [0717] 일부 구현예에서, 청구항 47항의 안전한 작동자 면역 세포에서, aCAR은 종양-관련 항원 또는 비-다형성 세포 표면 에피토프를 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR의 보호 효과로 인해, aCAR은 암 세포 상에 발현되는 임의의 표면 단백질을 겨냥할 수 있다.
- [0718] 일부 구현예에서, aCAR은 종양 관련 단백질, 표 1에 열거된 CAR 표적, iCAR을 또한 발현하는 종양 세포에서 발현되는 임의의 세포 표면 단백질을 겨냥하거나 또는 이에 특이적으로 결합한다.
- [0719] 일부 구현예에서, 비-다형성 세포 표면 에피토프는 CD19, CD20, CD22, CD10, CD7, CD49f, CD56, CD74, CAIX Ig κ, ROR1, ROR2, CD30, LewisY, CD33, CD34, CD38, CD123, CD28, CD44v6, CD44, CD41, CD133, CD138, NKG2D-L, CD139, BCMA, GD2, GD3, hTERT, FBP, EGP-2, EGP-40, FR-α, L1-CAM, ErbB2,3,4, EGFRvIII, VEGFR-2, IL-13R α2, FAP, 메스텔린, c-MET, PSMA, CEA, kRas, MAGe-A1, MUC1, MUC16, PDL1, PSCA, EpCAM, FSHR, AFP, AXL, CD80, CD89, CDH17, CLD18, GPC3, TEM8, TGFB1, NY-ESO-1, WT-1 및 EGFR로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0720] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 자가 또는 유니버설 (동종이계) 작동자 세포이다.
- [0721] 일부 구현예에서, 안전한 작동자 면역 세포는 T 세포, 자연 살상 세포 및 사이토카인-유도성 살상 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0722] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR의 발현 수준은 aCAR의 발현 수준보다 높거나 또는 비슷하다.
- [0723] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 제1 벡터에 의해 발현되고, aCAR은 제2 벡터에 의해 발현된다.
- [0724] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR과 aCAR은 둘다 동일한 벡터에 의해 발현된다.
- [0725] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 하류에 위치한다.
- [0726] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, 뉴클레오티드 서열은 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열과 iCAR 또는 pCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 바이러스성 자기-절단 2A 펩타이드를 포함한다.
- [0727] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, 바이러스성 자기-절단 2A 펩타이드는 토세아 아시그나 바이러스 (TaV) 유래 T2A, 구제역 바이러스 (FMDV) 유래 F2A, 에퀀 리니티스 A 바이러스 (ERAV) 유래 E2A 및 돼지 테스코바이러스-1 (PTV1) 유래 P2A로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0728] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은 유연한 링커를 통해 iCAR 또는 pCAR에 연결된다.
- [0729] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, aCAR은 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함한다.

- [0730] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자는 예를 들어 CD3 $\zeta$  또는 FcR $\gamma$  체계의 면역수용체 티로신-계 활성화 모티프 (ITAM)에 상동적이다.
- [0731] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자는 활성화 살상 세포 면역글로불린-유사 수용체 (KIR), 예를 들어 KIR2DS 및 KIR3DS에 상동적이다.
- [0732] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자는 어댑터 분자, 예를 들어 DAP12에 상동적이다.
- [0733] 안전한 작동자 면역 세포에 대한 일부 구현예에서, 작동자 면역 세포를 활성화하거나 또는 공동-자극하는 하나 이상의 신호 전이 인자는 CD27, CD28, ICOS, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40) 또는 GITR의 공동-자극성 신호 전이 인자에 상동적이다.
- [0734] 또한, 본 발명은 본원에 기술된 iCAR을 발현하는 안전한 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 것을 포함하는 LOH를 특징으로 하는 종양 환자에서 암 치료 방법을 제공한다.
- [0735] 일부 구현예에서, 본 발명은 본원에 기술된 안전한 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 것을 포함하는 LOH를 특징으로 하는 종양 환자에서 암 치료 방법을 제공한다.
- [0736] 일 측면에서, 본 발명은 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공하며, 여기서 iCAR은 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 포유류 종양 세포에는 없지만 주요 장기 및 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포 상에는 적어도 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인; 및 작동자 면역 세포를 저해하는 하나 이상의 신호 전이 인자를 포함하는 세포내 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 표적은 aCAR 표적이 정상적으로 발현되는 모든 세포 상에 발현된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR 표적은 aCAR이 발현되는 주요 장기 세포에서 발현된다.
- [0737] 부가적인 측면에서, 본 발명은 본원에 정의되는 본 발명의 핵산 분자 및 핵산 분자에 작동가능하게 조절된 프로 모터와 같은 하나 이상의 조절 인자를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0738] 다른 측면에서, 본 발명은, (i) 공지된 변이체에 대한 하나 이상의 데이터베이스로부터 단백질-코딩 유전자의 인간 게놈 변이체의 목록을 검색하는 단계; (ii) (a) 상응하는 기준 대립유전자와 비교하여 각각의 유전자에 의해 코딩되는 단백질에서 아미노산 서열 변이를 야기하는 변이체를 선택하고, (b) 아미노산 서열 변이가 코딩된 단백질의 세포의 도메인에 존재하는 유전자의 변이체를 선택하고, (c) 적어도 하나의 종양에서 이형접합성 소실 (LOH)을 겪는 유전자의 변이체를 선택하고, (d) (c)에 따라 LOH를 겪는 하나 이상의 종양의 기원 조직에서 적어도 발현되는 유전자의 변이체를 선택하여, LOH로 인해 하나 이상의 종양에서 소실되고 적어도 하나 이상의 종양의 기원 조직에서 발현되는 각각의 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 세포의 도메인에 아미노산 서열 변이를 가진 변이체의 목록을 획득함으로써, (i)에서 검색한 변이체의 목록을 선별하는 단계; (iii) (ii)에서 획득한 목록으로부터 하나 이상의 단일 변이체를 포함하는 서열 영역을 정의하고, 하나 이상의 단일 변이체를 포함하는 상기 서열 영역과 상응하는 기준 대립유전자를 포함하는 서열 영역을 서브클로닝 및 발현시켜, 각각의 에피토프 펩타이드들을 수득하는 단계; (iv) (iii)에서 수득한, 클로닝한 서열 영역에 의해 코딩되는 에피토프 펩타이드 또는 상응하는 기준 대립유전자에 의해 코딩되는 에피토프 펩타이드에 특이적으로 결합하는 iCAR 결합 도메인을 선택하는 단계; 및 (vii) (iv)에 정의된 iCAR 결합 도메인을 각각 포함하는 본원에서 정의되는 iCAR을 제조하는 단계를 포함하는, 본원에 정의된 바와 같이 본 발명에 따른 작동자 면역 세포의 부적절한 활성화를 방지 또는 약화시킬 수 있는 저해성 키메라 항원 수용체 (iCAR)를 제조하는 방법을 제공한다.
- [0739] 또 다른 측면에서, 본 발명은, (i) 종양-관련 항원을 겨냥하는 TCR-조작된 작동자 면역 세포에 본원에 정의된 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 형질감염시키거나 또는 상기 세포에 본원에 정의되는 벡터를 형질도입하는 단계; 또는 (ii) 나이브 작동자 면역 세포에 본원에 정의되는 iCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자 및 본원에 정의되는 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자를 형질감염시키는 단계; 또는 작동자 면역 세포에 본원에 정의되는 벡터를 형질도입하는 단계를 포함하는, 안전한 작동자 면역 세포를 제조하는 방법을 제공한다.
- [0740] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 방법에 의해 수득되는 안전한 작동자 면역

세포를 제공한다. 안전한 작동자 면역 세포는 외인성 T 세포 수용체 (TCR)와 iCAR을 발현하는 재지시된 T 세포 일 수 있으며, 여기서 외인성 TCR은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하고, 에피토프는 종양-관련 항원이거나 또는 관련 종양 세포와 정상 조직 세포들에서 적어도 공유되고, iCAR은 본원에 정의된 바와 같이 정의되거나; 또는 안전한 작동자 면역 세포는 자연 살상 세포 또는 본원에 정의된 바와 같이 iCAR 및 aCAR을 발현하는 T 세포와 같은 재지시된 작동자 면역 세포이다.

[0741] 다른 측면에서, 본 발명은, (i) 개체로부터 종양 생검을 수득하는 단계; (ii) 개체로부터 정상 조직의 샘플, 예를 들어 PBMC를 수득하는 단계; (iii) LOH로 인해 종양 세포에 의해서는 발현되지 않지만 정상 조직의 세포에 의해서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하여, 개체에 대한 개인맞춤형 바이오마커를 식별하는 단계를 포함하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 개체에 대한 개인맞춤형 바이오마커를 선택하는 방법을 제공한다.

[0742] 다른 측면에서, 본 발명은, 본원에서 정의되는 작동자 면역 세포를 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, iCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 상기 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 코딩하는 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0743] 또 다른 측면에서, 본 발명은, iCAR이 이형접합성 소실 (LOH)로 인해 종양 세포에는 존재하지 않지만 적어도 환자의 주요 장기 등의 환자의 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프를 코딩하는 단일 대립유전자 변이체를 겨냥하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자를 치료하는데 사용하기 위한 본원에서 정의되는 안전한 작동자 면역 세포에 관한 것이다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR 표적이 정상적으로 발현되는 모든 세포 상에서 발현된다. 일부 구현예에서, iCAR 또는 pCAR은 aCAR이 발현되는 주요 장기 세포에서 발현된다.

[0744] 또 다른 측면에서, 본 발명은, (i) LOH로 인해 종양 세포에서는 발현되지 않지만 정상 조직 세포에서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하거나 또는 식별 정보를 획득하는 단계, (ii) 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하거나 또는 식별 정보를 획득하는 단계로서, 에피토프는 종양-관련 항원이거나, 또는 암 환자에서 적어도 관련 종양 및 정상 조직 세포들에 공유되는 것인, 단계; (iii) 본원에 정의되는 iCAR을 정의하는 하나 이상의 핵산 분자 및 본원에 정의되는 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 핵산, 또는 본원에 정의되는 하나 이상의 벡터를 선택 또는 입수하는 단계로서, iCAR이 (i)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하고, aCAR이 (ii)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는, 단계; (iv) 작동자 면역 세포에 (iii)의 핵산 분자를 형질감염시키거나 또는 작동자 면역 세포에 (iii)의 벡터를 형질도입함으로써 안전한 재지시된 작동자 면역 세포의 하나 이상의 집단을 제조 또는 획득하는 단계; 및 (v) 암 환자에게 (iv)의 안전한 재지시된 면역 작동자 세포의 하나 이상의 집단을 투여하는 단계를 포함하는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0745] 비슷한 측면에서, 본 발명은, 안전한 재지시된 면역 세포가 (i) LOH로 인해 종양 세포에서는 발현되지 않지만 정상 조직 세포에서는 발현되는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하거나 또는 식별 정보를 획득하는 단계, (ii) 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체를 식별하거나 또는 식별 정보를 획득하는 단계로서, 여기서 에피토프는 종양-관련 항원이거나, 또는 암 환자에서 적어도 관련 종양 및 정상 조직 세포들에 공유되는 것인, 단계; (iii) 본원에서 정의되는 iCAR을 정의하는 하나 이상의 핵산 분자 및 본원에서 정의되는 aCAR을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 이상의 핵산 분자, 또는 본원에서 정의되는 하나 이상의 벡터를 선택 또는 입수하는 단계로서, iCAR이 (i)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하고, aCAR이 (ii)의 세포 표면 에피토프에 특이적으로 결합하는 세포의 도메인을 포함하는, 단계; (iv) 작동자 면역 세포에 (iii)의 핵산 분자를 형질감염시키거나 또는 작동자 면역 세포에 (iii)의 벡터를 형질도입함으로써 안전한 재지시된 작동자 면역 세포의 하나 이상의 집단을 제조 또는 획득하는 단계에 의해 수득되는, LOH를 특징으로 하는 종양을 가진 환자에서 암을 치료하기 위한 안전한 재지시된 면역 작동자 세포의 하나 이상의 집단을 제공한다.

[0746] 다른 측면에서, 본 발명은, 각각의 핵산 분자가 제어된 작동자 면역 세포 활성화 시스템의 서로 다른 구성원을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 핵산 분자가 단일한 연속적인 핵산 분자의 일부이거나 또는 이를 형성하거나, 또는 2 이상의 분리된 핵산 분자들을 포함하고, 상기 제어된 작동자 면역 활성화 시스템이 이형접

합성 소실 (LOH)로 인해 하나 이상의 염색체 또는 그의 단편을 소실한 종양 세포는 사멸시키고 관련된 정상 조직의 세포는 보존하도록 작동자 면역 세포에 지시하고, (a) 제1 구성원은 항원의 비-다형성 세포 표면 에피토프 또는 다른 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제1 세포의 도메인을 포함하는 활성화 키메라 항원 수용체 (aCAR) 폴리펩타이드를 포함하고, 상기 비-다형성 또는 다형성 세포 표면 에피토프가 종양-관련 항원이거나 또는 관련된 비-정상 및 정상 포유류 조직의 세포들에 의해 공유되는 것이고; (b) 제2 구성원은 LOH로 인해 비정상 포유류 조직에 의해 발현되지는 않지만 관련 포유류 정상 조직의 모든 세포 상에 존재하는 다형성 세포 표면 에피토프의 단일 대립유전자 변이체에 특이적으로 결합하는 제2 세포의 도메인을 포함하는 조절성 폴리펩타이드를 포함하는, 2 이상의 핵산 분자들의 조합에 관한 것이다.

[0747] **긴 표들**

[0748] 본원은 긴 표 단락을 포함한다. 표의 사본은 2019년 9월 27일에 제출된 대응되는 US 출원 및 이의 우선권이 되는 가출원과 함께 제출되었다.

[0749] **실시예**

[0750] 실시예와 관련하여, 하기 용어들이 사용된다.

[0751] 용어 염색체가 사용되는 경우, 이는 일반적으로 SNP가 존재하는 염색체를 지칭한다. SNP 분석에서, 위치는 SNP의 게놈 위치를 나타낸다 (어셈블리 GRCh37.p13). 사용시 snp\_id는 존재하는 위치에 dbSNP rs ID로 나타낸다.

[0752] 용어 "ref"는 기준 뉴클레오티드 대립유전자를 나타낸다. 용어 "alt"는 대체 뉴클레오티드 대립유전자를 나타낸다.

[0753] 용어 "품질"은 진유전체 통합 컨소시엄 (Exome Aggregation Consortium (ExAC))의 품질 점수를 나타낸다. 용어 "filter\_status"는 ExAC의 필터 정보를 의미한다.

[0754] 용어 "allele\_frequency"는 ExAC에서 전체 대립유전자 빈도를 의미한다. 용어 "max\_allele\_frequency"는 가장 일반적인 대체 대립유전자의 전체 대립유전자 빈도를 의미한다 (일반적으로, 이는 SNP가 동일한 부위에 2개보다 많은 수의 대체 대립유전자를 가진 경우에만 해당하며, 이는 종종 서열분석 실수를 의미할 수 있음).

[0755] 용어 "het\_allele\_count"는 ExAC에서 이형접합체인 것의 개수를 의미한다. 용어 "AFR\_AF"는 아프리카계의 게놈에서 마이너 대립유전자 빈도를 의미한다. 용어 "AMR\_AF"는 라틴계의 게놈에서 마이너 대립유전자 빈도를 의미한다. 용어 "EAS\_AF"는 동아시아계 게놈에서 마이너 대립유전자 빈도를 의미한다. 용어 "FIN\_AF"는 핀란드계 게놈에서 마이너 대립유전자 빈도를 의미한다. 용어 "NFE\_AF"는 비-핀란드계-유럽인 게놈에서 마이너 대립유전자 빈도를 의미한다. 용어 "OTH\_AF"는 기타 게놈에서 마이너 대립유전자 빈도를 의미한다. 용어 "SAS\_AF"는 남아시아계 게놈에서 마이너 대립유전자 빈도를 의미한다.

[0756] 용어 "max\_AF"는 ExAC에서 분류한 집단들에서 마이너 대립유전자 빈도 최고치를 의미한다 (0.5는 최대 허용가능한 대립유전자 빈도임).

[0757] 용어 "gene"는 SNP가 속하는 유전자의 HUGO 기호를 의미한다.

[0758] 용어 "hgnc\_ID"는 SNP가 속하는 유전자의 HUGO 유전자 명명 위원회 (HUGO Gene Nomenclature Committee) 번호 ID를 의미한다.

[0759] 용어 "consequence"는 SNP가 단백질 번역 산물에 미치는 영향을 의미한다. 이는 미스센스\_변이체, 프레임쉬프트\_변이체, 인프레임\_결손, 정지\_획득을 비롯한 여러 가지 중 하나일 수 있다.

[0760] 용어 "protein\_consequence"는 기준 단백질 전사체 (예, pArg482Gln)에서 아미노산 치환 및 그 위치를 표시한다.

[0761] 용어 "aa\_affected"은 컨센서스 단백질 전사체에 영향을 받는 아미노산의 위치 번호를 표시한다.

[0762] 용어 "allele\_1"은 기준 대립유전자에 의해 코딩되는 아미노산을 의미한다.

[0763] 용어 "allele\_2"는 대체 대립유전자에 의해 코딩되는 아미노산을 의미한다.

[0764] 용어 "sift\_score"는 SIFT 알고리즘에 의해 아미노산 치환에 따라 예측되는 기능적 효과 점수와 해석을 나타낸다. sift5.2.2 버전을 사용한다. 점수는 0-1의 범위이다. 낮은 점수는 아미노산 치환이 용인될 가능성이 더 높다는 것을 의미한다.

- [0765] 용어 "polyphen\_score"는 polyphen 알고리즘에 의해 아미노산 치환에 따라 예측되는 기능적 효과 점수와 해석을 나타낸다. PolyPhen (v2.2.2)을 사용한다. 점수는 0-1의 범위이다. 낮은 점수는 아미노산 치환이 유해할 가능성이 더 높다는 것을 의미한다.
- [0766] 용어 "polyphen\_numeric"은 polyphen 알고리즘으로부터 추출된 수치 단독 점수를 의미한다.
- [0767] 용어 "protein\_domains\_affected"는 Gene3D, hmmpanther 및 Prosite 알고리즘을 토대로 예측되는 단백질 도메인을 의미한다.
- [0768] 용어 "BLOSUM\_score"는 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C\\_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62)의 BLOSUM62 매트릭스를 기반으로 한 아미노산 치환의 점수를 의미한다. 음수는 진화 과정에서 경시적으로 빈도가 낮은 아미노산 치환 (단백질 기능에 영향을 줄 가능성이 더 높음)을 의미한다.
- [0769] 용어 "allele\_1\_one\_letter"는 기준 아미노산 대립유전자의 단문자 아미노산 코드를 의미한다.
- [0770] 용어 "allele\_2\_one\_letter"는 대체 아미노산 대립유전자의 단문자 아미노산 코드를 의미한다.
- [0771] 용어 "mono\_allelic\_expression"은 SNP가 속한 유전자가 인간에서 단일 대립유전자 발현의 진행 여부를 의미한다. Savova 등에 의해 확립된 데이터베이스를 주석에 사용하였다<sup>7</sup>. 이 열에서 1은 유전자가 단일 대립유전자 발현을 나타냄을 의미한다. 이 열에서 0은 유전자가 Savova 등의 데이터베이스에서 단일 대립유전자 발현되지 않았음을 의미한다. 이 열에서 NA는 유전자가 Savova 등의 논문에서 주석이 첨부되지 않았음을 의미한다.
- [0772] 용어 "extracellular"는 SNP가 영향을 받은 단백질의 세포외 도메인에 속하는지의 유무를 의미한다. 이 열에서 1은 SNP가 세포외 도메인에 존재하는 것을 의미하고, 0은 그렇지 않다는 것을 의미한다. 단백질 도메인의 주석에는 Uniprot가 사용된다.
- [0773] 용어 "Pdb\_id"는, 존재하는 경우, 영향을 받은 단백질의 단백질 데이터뱅크 ID를 의미한다. 하나의 단백질에 대해 여러가지 단백질 데이터뱅크 엔트리가 존재하는 경우, 첫번째 ID만 첨부한다.
- [0774] 용어 "aa\_context\_21aa\_allele\_1"은 컨센서스 단백질 서열에서 SNP 아미노산을 둘러싼 21개 아미노산 윈도우를 의미한다. 서열은 컨센서스 단백질 서열의 선행 영역으로부터 아미노산 10개로 이루어진다. 기준 아미노산이 영향을 받은 위치에서 컨센서스 단백질 서열과 일치하는지를 확인하였다. 이들 2가지 아미노산이 동일하지 않은 경우, 항목에 "컨센서스 이소형에 기반한 uniprot fasta와 불일치"로 표시한다.
- [0775] 용어 "aa\_context\_21aa\_allele\_2": 상기와 동일한 아미노산 윈도우이지만, 아미노산 대립유전자 2가 가운데 삽입된 것이다.
- [0776] 용어 "gtex\_mean": 조직들에서 평균 유전자 발현 (RPKM). 이는 GTEX로부터 유래된 조직들에서의 RPKM 중앙값의 평균치로 구성된다. 예를 들어, 소정의 유전자에 대한 값이 폐 (중앙값) = 3, 유방 (중앙값) = 2, 췌장 (중앙값) = 5인 경우, 이 항목에 표시되는 값은 3.33일 것이다.
- [0777] 용어 "gtex\_min": 전체 조직들에서 조직의 유전자 발현 최저치. 이 값은 전체 조직들에서 유전자 발현의 중앙값 목록으로부터 유래한다. 예를 들어, 소정의 유전자의 값이 폐 (중앙값) = 3, 유방 (중앙값) = 2, 췌장 (중앙값) = 5인 경우, 이 항목에 표시되는 값은 2일 것이다.
- [0778] 용어 "gtex\_max": 전체 조직들에서 조직의 유전자 발현 최고치. 이 값은 전체 조직들에서 유전자 발현의 중앙값 목록으로부터 유래한다. 예를 들어, 소정의 유전자의 값이 폐 (중앙값) = 3, 유방 (중앙값) = 2, 췌장 (중앙값) = 5인 경우, 이 항목에 표시되는 값은 5일 것이다.
- [0779] 용어 "gtex\_std\_dev": 소정의 유전자에 대한 조직들에서 유전자 발현 값의 표준 편차. 예를 들어, 소정의 유전자의 값이 폐 (중앙값) = 3, 유방 (중앙값) = 2, 췌장 (중앙값) = 5인 경우, 이 항목에 표시되는 값은 1.5일 것이다.
- [0780] 용어 "cell\_surface\_protein\_atlas": 단백질이 세포 표면 단백질 아틀라스 ([wlab.ethz.ch/cspa/](http://wlab.ethz.ch/cspa/))에서 주석에 막 단백질로의 표시 유무를 나타내는 2가지 표시. 1은 유전자가 이 데이터베이스에서 주석에 막 단백질로 표시되어 있음을 의미한다.
- [0781] 용어 "human\_protein\_atlas\_membrane\_proteins": 단백질이 인간 단백질 아틀라스 (<https://www.proteinatlas.org/>)에서 주석에 막 단백질로의 표시 유무를 나타내는 2가지 표시. 1은 유전자가

이 데이터베이스에서 주석에 막 단백질로 표시되어 있음을 의미한다.

[0782] 용어 "subcellular\_map\_proteome\_membrane\_proteins": 단백질이 프로테오믹스 세포내 지도 (<http://science.sciencemag.org/content/early/2017/05/10/science.aal3321/>)에서 주석에 막 단백질로의 표시 유무를 나타내는 2가지 표시. 1은 유전자가 이 데이터베이스에서 주석에 막 단백질로 표시되어 있음을 의미한다.

[0783] 용어 "n\_membrane\_databases\_w\_gene": 세포막 상에 발현되는 유전자로 주석이 표시된 유전자를 가진 데이터베이스의 총 수. 최대 = 3, 최소 = 0.

[0784] 용어 "membrane\_protein\_call": 그 유전자가 포함된 막 데이터베이스의 수에 대한 원문 해석. 유전자가 하나의 데이터베이스에 포함된 경우, 판정은 "저-신뢰성" 막 단백질이다. 유전자가 2개의 데이터베이스에 포함된 경우, 판정은 "중간-신뢰성" 막 단백질이다. 유전자가 3개의 데이터베이스에 포함된 경우, 판정은 "고신뢰성" 막 단백질이다.

[0785] 용어 "ratio\_gtex\_std\_dev\_to\_mean": 조직들에서 평균 유전자 발현에 대한 조직 유전자 발현의 표준 편차의 비율. 예를 들어, 소장의 유전자의 값이 폐 (중앙값) = 3, 유방 (중앙값) = 2, 췌장 (중앙값) = 5인 경우, 이 항목에 표시되는 값은  $1.5/3.33 = 0.45$ 일 것이다. 이는 조직들에서 발현의 균일성의 척도이다. 낮은 값은 유전자가 균일하게 발현됨을 의미한다. 높은 값은 유전자가 일부 조직에서는 발현되지만 다른 조직에서는 발현되지 않는 경향성이 있음을 시사한다.

[0786] 용어 "universally\_expressed": 유전자가 보편적으로 발현되는 것으로 보이는지 여부를 나타내는 2가지 표시.  $gtex\_mean$ 이  $gtex\_min$ 을 10 초과하는 경우, 유전자는 보편적으로 발현되는 것으로 언급된다. 용어 " $> 1$ , 및  $ratio\_gtex\_std\_dev\_to\_mean < 1$ ". 이 열에서 1은 해당 유전자가 이들 기준을 충족함을 의미한다.

[0787] 용어 "disease": 스프레드시트의 이 행에서 LOH 데이터에 대해 분석한 질병의 TCGA 바코드.

[0788] 용어 "mean\_expression\_in\_tissue": 분석한 조직에서 평균 유전자 발현. 여러가지 조직 분류를 단일 TCGA 종양 유형에 맵핑할 수 있다. GTEX에서의 조직을 TCGA 종양 유형으로 맵핑한 것은 "tcga\_disease\_tissue\_lookup.txt" 파일로 제공된다. 대표적인 샘플은 다음과 같다:

tcga_질환	gtex_조직
acc	부신
blca	방광
brca	유방... 유선. 조직
cesc	자궁경부...내자궁경부, 자궁경부...외자궁경부

[0789]

[0790] 용어 "mean\_expression\_in\_other\_tissues": 분석 조직을 제외한 다른 전체 조직들에서 평균 유전자 발현. 예를 들어, 분석 중인 유전자가 PSMA (전립선 특이적 유전자)이라면, 분석한 종양 유형이 PRAD (전립선 선암종)일 경우 이 값은 매우 낮을 것이다.

[0791] 용어 "cohens\_d": 분석 조직 대비 기타 전체 조직들에서 발현을 분리하는 코헨의  $d$  (Cohen's  $d$ ) 척도. 이는 이러한 유전자가 분석 조직에서 얼마나 많이 고유하게 발현되는 지를 나타내는 척도이다. 높은 코헨의  $d$ 는 이 유전자가 분석된 조직에서 고유하게 발현되며, 즉 양호한 aCAR 표적일 수 있음을 의미한다.

[0792] 용어 "proportion\_w\_LOH\_relative": 분석한 종양 유형에서의 LOH의 증거를 나타내는 종양의 비율. LOH를 시사하는 게놈 분절을 호출하기 위한 임계값은  $-0.1$  (상대적인 카피 수 단위)이었다. 분절의 상대적인 카피 수는 종양의 카피 수 신호를 일치된 정상 세포의 카피 수 신호로 나눈 값의 로그였다. 이들 데이터는 cbio 포털에서 획득하였으며 이 기술은 파트 1에서 검증하였다.

[0793] 용어 "CI\_95\_low\_relative": 이 유전자좌에서 LOH된 종양의 비율에 대한 95% 신뢰 구간의 하한. R의 `prop.test` 함수를 사용해 계산하였다. 함수는 예이즈의 연속성 보정 (Yates' continuity correction)으로 이항 신뢰 구간을 계산한다.

[0794] 용어 "CI\_95\_high\_relative": 이 유전자좌에서 LOH된 종양의 비율에 대한 95% 신뢰 구간의 상한. R의 `prop.test` 함수를 사용해 계산하였다. 함수는 예이즈의 연속성 보정 (Yates' continuity correction)으로 이항 신뢰 구간을 계산한다.

- [0795] 용어 "mutsig\_hits\_on\_chr": 암의 유발자인지에 대한 통계적 유의성 ( $q$ -값  $< 0.25$ )에 해당하는 SNP와 동일한 염색체 상의 유전자. Mutsig 2.0 알고리즘을 사용하였다. 형식은 "유전자 기호,  $q=q$ -값; 유전자 기호 2,..."이다
- [0796] 용어 "tsg\_on\_chr\_mutated\_in\_disease": mutsig의 통계적 유의성에 해당하는 유전자가 종양 저해 유전자인지 유무에 대한 이항 표시 변수. 이 주석에 사용된 종양 억제자 유전자들의 목록은 Vogelstein 등<sup>9</sup>에 의해 발표된 표의 목록이다. 이 열에서 1은 유전자가 종양 저해 유전자로 주석이 표시되어 있음을 의미한다.
- [0797] 용어 "hallmark\_tsg\_on\_chr\_mutated\_in\_disease": 분석한 종양 유형에서 SNP와 동일한 염색체에서 현저하게 돌연변이된 것으로 식별된 임의의 유전자가 "홀마크" 종양 억제자 유전자인지의 유무를 나타내는 이항 표시 변수. "홀마크" 종양 억제자 유전자는 종양 발생 초기에 돌연변이될 가능성이 더 높은 매우 잘 검증된 종양 저해 유전자에 대한 소규모 목록이다. 이들 유전자는 TP53, PTEN, APC, MLL3, MLL2, VHL, CDKN2A 및 RB1이다. 이 열의 1은 이들 홀마크 TSG 중 하나가 해당 SNP와 동일한 염색체에 존재하고 분석한 종양 유형에서 현저하게 돌연변이됨을 의미한다.
- [0798] 용어 "gistic\_deletion\_n\_peaks": SNP가 속하는 염색체의 GISTIC 피크 수. 숫자가 높을수록 이 염색체에서 유전 물질의 소실을 유발하는 선택적인 압력이 더 높다는 것을 나타낸다.
- [0799] 용어 "gistic\_deletion\_best\_q\_value": SNP가 속하는 염색체에서 게놈 소실에 대한 최저 GISTIC  $q$ -값. 매우 낮은  $q$ -값은 염색체 어딘가에서 게놈 물질을 소실할 수 있는 현저한 선택적인 압력이 존재함을 의미한다.
- [0800] 용어 "proportion\_of\_patients\_eligible": i) SNP의 생식계열 이형접합성 및 ii) 종양에서의 SNP의 LOH를 가진 환자에 대한 추정 비율. SNP의 생식계열 이형접합성을 가진 환자 비율에 대한 추정치는 이형접합체 비율 등식 =  $2pq$ 를 사용해 하디-바인베르크 평형 (Hardy-Weinberg equilibrium)으로 구한다. 여기서  $p$ 는 SNP의 전체 대립유전자 비율이며  $q = 1-p$ 이다.
- [0801] 용어 "proportion\_of\_patients\_eligible\_max\_ethnicity\_targeted": i) SNP의 생식계열 이형접합성 및 ii) 종양에서 SNP의 LOH를 가진 환자의 추정 비율. SNP의 생식계열 이형접합성을 가진 환자 비율의 추정치는 이형접합체 비율 등식 =  $2pq$ 를 사용해 하디-바인베르크 평형 (Hardy-Weinberg equilibrium)으로 구한다. 여기서  $p$ 는 SNP의 최대 집단-제한 대립유전자 비율이며  $q = 1-p$ 이다. 예를 들어, 어떤 경우에는 사용된 집단이 아프리카계일 수 있고, 어떤 경우에는 남아시아계일 수 있다.
- [0802] 용어 "cumulative\_score": SNP가 iCAR 표적에 대해 어느 정도 양호한 후보인지 정도를 정량한 점수. 점수는 0에서부터 이론적으로 1까지의 범위이다. 이 점수의 계산에 대한 자세한 정보는 "후보 SNP의 순위를 매기기 위한 누적 점수" 부분을 참조한다.
- [0803] **실시예 1. 암들에서 HLA 유전자의 LOH 비율 평가**
- [0804] **서론:**
- [0805] 암 세포에서 게놈 소실에 의해 발생하는 취약성을 해결하기 위한 치료 전략을 제안한다. 제안된 전략은 활성화-CAR T-세포 (aCAR) 및 저해성-CAR T-세포 (iCAR)의 조합을 이용함으로써, 모계 및 부계 대립유전자에 대해 이형접합성인 세포막 단백질을 코딩하는 게놈 분절이 소실된 표적 종양 (즉, 다형성 단백질 코딩이 달라짐)을 보다 안전하게 표적화한다.
- [0806] iCAR의 표적이 비-종양 조직에 의해서만 발현되는 경우, iCAR은 항종양 효능을 저하하지 않으면서 CAR-T 요법의 오프-종양 독성을 낮출 수 있다. iCAR 표적이 비-종양 세포에 의해서만 발현되는 이러한 시나리오 중 하나는, iCAR 항원이 종양 세포에서 결손된 게놈의 일부에 의해 코딩되는 경우에 발생하는 것이다. 고도의 다형성이고 모든 세포에서 발현되는 것으로 알려진 한가지 유전자 패밀리는 HLA이다.
- [0807] HLA 단백질은 포유류 세포에 의해 거의 보편적으로 발현되어, 면역계의 세포에 비-자기 항원을 제시 가능하게 해준다. HLA 유전자는 또한 정량적으로 고도로 발현되는 경향이 있어, 치료 표적화에 더 적합하다. HLA 유전자의 RNA 발현은 게놈의 다른 단백질 코딩 유전자의 99.3%보다 높다 (도 4). HLA 유전자의 평균 조직 발현 및 게놈에서의 위치는 CD-ROM에 제공된 긴 표뿐만 아니라 표 3에도 수록된다.
- [0808] 이 섹션의 목표는 HLA 유전자가 빈번하게 결손되는 암 유형을 식별하는 것이다. 2차 분석은 HLA 유전자좌에서 게놈 소실의 구동인자를 동정하기 위한 시도를 포함한다.
- [0809] 본 발명자들은 HLA 유전자의 빈번한 카피-소실을 유발한 선택압을 가진 암을 식별하기 위한 세부 계획을 실행하

였다 (도 5).

**[0810] ABSOLUTE 데이터를 이용한 종양 유형들에서 HLA 소실 빈도:**

**[0811]** 본 발명자들은 ABSOLUTE 알고리즘에 의해 처리된 TCGA의 카피 수 프로파일을 이용해, HLA-A의 대립유전자 소실률의 실측 추정치를 분석하였다. 공개적으로 이용가능한 ABSOLUTE 분할된 카피-수 데이터를 (<https://www.synapse.org/#!Synapse:syn1710464.2>)<sup>1</sup>로부터 내려받았다. ABSOLUTE 알고리즘은 단일 암 게놈에서 각각의 대립유전자 분절의 정수 카피 수준을 산출한다. 6번 염색체 (HLA 유전자좌가 존재함)의 단일 카피가 소실되는 경우, 대립유전자 카피 수는 유지된 분절의 경우 1이고, 소실된 분절의 경우에는 0일 것이다. 카피-중성의 이형접합성 소실의 경우, 유지된 분절은 카피 수가 2개이고, 소실된 분절은 카피 수가 0일 것이다. ABSOLUTE에 의해 처리된 공개적으로 이용가능한 카피 수 데이터는 종양 유형 12종에 대해 입수가 가능하였다 (표 4). 폐 편평 세포암 (LUSC)은 다른 종양 유형과 비교해 HLA-A LOH 빈도가 가장 높았다 (도 6). 자궁/자궁내막암 (UCEC)은 모든 평가가능한 종양들 중에서 HLA-A LOH 빈도가 가장 낮았다 (AML 샘플은 ABSOLUTE 데이터를 입수할 수 없어 포함되지 않음). HLA-A 유전자의 결손 588개 중, 어느 것에도 유전자내 절단점 (intragenic breakpoint)은 존재하지 않았다 (도 7). HLA-A 유전자의 대부분의 결손은 염색체의 넓은 영역들을 포괄하였다 (도 8). AML 샘플의 경우 ABSOLUTE 카피 수 데이터를 이용할 수 없었지만, 이들 샘플에서의 상대적인 카피 수 데이터를 수동 조사한 바, 결손은 관찰되지 않았다 (도 11).

**[0812] ABSOLUTE 카피 수 데이터와 비교하여 상대적인 카피 수 데이터의 검증:**

**[0813]** 본 발명자들은 공개적으로 이용가능한 많은 종양 유형들에서 LOH 빈도를 획득하고자 하였다. 그러나 이들 데이터는 ABSOLUTE에 의해 처리되지 않았으며, ABSOLUTE에 의해 처리할 원 데이터가 공개적으로 이용가능하지 않았다. 대신, 본 발명자들은 TCGA로부터 종양 유형 32종에 대한 상대적인 카피 수 데이터를 이용하였다 (도 13). 이들 데이터는 cbiportal ([cbiportal.org/data\\_sets.jsp](http://cbiportal.org/data_sets.jsp))로부터 내려받았다. 상대적인 카피 수 데이터는 종양 샘플의 Affymetrix SNP 6.0 어레이로부터 획득하였다.

**[0814]** 상대적인 카피 수 데이터에서 정확한 LOH 추정치를 획득할 수 있는지를 확인하기 위해, 본 발명자들은 ABSOLUTE에서 LOH 데이터를 이미 가지고 있는 종양들에 대한 상대적인 데이터를 이용하여 LOH의 비율을 전산 처리하였다. 이들 데이터는 분절된 카피 수 파일로 이루어져 있다. 각 분절에는 상대적인 카피-비가 할당된다. 카피 비는 일치되는 정상 세포 대비 종양에서 신호 세기의 비의 로그로 정의된다 (Affymetrix 어레이). 일치되는 대조군 (일반적으로 말초혈 유래)으로 표준화하는 것은, 생식계열 카피-수 변이체가 체세포로 잘못 해석되는 것을 배제하는데 유익하다. 해당 게놈 분절의 상대적인 카피 수가 소정의 임계값 미만인 경우, 그 분절은 게놈 소실을 겪은 것으로 본다. 예를 들어, 321번 분절의 상대적인 카피 수가 -0.4이고 카피-소실에 대한 임계값이 -0.3인 경우, 321번 분절은 카피-소실을 겪은 것으로 보며, 직접적인 대립유전자 정보가 결핍되어 있어, 이는 또한 LOH를 겪은 것으로 본다.

**[0815]** 본 발명자들은 먼저 LOH를 겪은 것으로 상대 카피 수 분절을 표지하기 위한 최적 카피 수 컷오프를 결정하고자 하였다. LOH의 ABSOLUTE 및 상대적인 카피 수 추정치의 일치는 상대적인 카피 수에 대한 컷오프 -0.1에서 가장 높았다 (표 5 및 도 9). 이 임계값은 또한 TCGA Tumorscape 포털 (<http://portals.broadinstitute.org/tcga/home>)에서 카피-소실을 정의하기 위해 TCGA 카피 수 군에 의해 사용되는 임계값이다. 상대적인 데이터 대 ABSOLUTE 데이터에서 HLA-A LOH를 가진 개체 비율의 상관 관계는 0.55였다. 이러한 상당히 높은 상관관계는 입수가 가능한 상대적인 카피 수 데이터를 이용해 모든 종양 유형을 분석할 수 있게 해주었다.

**[0816] 상대적인 카피 수 데이터를 이용한 종양 유형 32종에서 HLA-LOH인 환자의 비율**

**[0817]** HLA-A의 LOH를 가진 환자의 비율을 TCGA로부터 이용가능한 종양 32종 모두에 대해 계산하였다 (도 10a; COAD 및 READ를 함께 분석함). HLA-A LOH 비율이 가장 높은 종양은 신장 험색소성 암이었다. HLA-A LOH 비율이 가장 낮은 종양은 포도막 흑색종이었다 (표 6). 본 발명자들은, 이러한 분석에서 도출된 LOH 비율이, 소폭의 게놈 위치 변동에 견고하다는 것을 보장하기 위해, HLA-A의 상류 및 하류 유전자의 LOH 비율을 분석하여, 이들의 HLA-LOH 비율이 HLA-A와 유사한지를 확인하였다. 예상된 바와 같이, 상류 및 하류 유전자인 HLA-G 및 ZNRD1 각각의 LOH 비율은 HLA-A에서와 정확하게 일치하였다 (도 3a-c). 이들 데이터는 HLA-A LOH 호출 (call)이 게놈 위치에서의 소폭 변동에 강하다는 것을 입증해준다. 다음으로, 본 발명자들은 다른 HLA 유전자들 (A, B, C)이 HLA-A와 비교해 유사한 LOH 비율을 가지고 있는지를 측정하고자 하였다. 이들 유전자는 모두 6p 염색체의 1.3Mb 영역에 속한다. 게놈 거리 상 짧은 영역이다. 본 발명자들은 HLA-B 및 HLA-C에 대해서도 HLA-A 분석을 반복하였다. 분석한

종양 32종에서 LOH 패턴은 3가지 HLA 유전자 모두 거의 동일하였다 (도 10a-c).

[0818] HLA-A LOH 비율에 선택압 추가

[0819] 종양에서의 게놈 이형접합성은 지금까지 분석된 거의 모든 인간 암들에서 최근 파악된 특징이다<sup>2, 3</sup>. 종양 세포의 일부에만 존재하는 유전자 변형을 표적화하는 요법은 이러한 변형을 가진 종양 세포에만 영향을 미칠 수 있다. 종양 세포 상에 존재하지 않는 항원을 표적화하는 iCAR 전략은, 항원이 클론 결손되지 않는다면 일부 종양 세포를 aCAR 공격으로부터 보호할 수 있다. 이에, 본 발명자들은 HLA 유전자가 클론 LOH를 겪을 가능성이 있는 종양을 식별하고자 하였다. 진화 초기에 발생하는 LOH는 종양 개시 및/또는 유지에서 선택압에 의해 유발될 가능성이 있다. 따라서, 본 발명자들은 3가지 방식으로 6번 염색체 (HLA 유전자좌를 존재)에서 종양 억제인자를 검색하였다. 먼저, 분석한 각각의 종양 유형에서 6번 염색체에서 현저하게 돌연변이된 유전자를 탐색하였다<sup>4</sup>. 스프레드시트는 "chr6\_mutsig\_sig\_genes" 열에 6번 염색체에 현저한 돌연변이가 존재하는 유전자를 표시한다.

[0820] 2번째로, 본 발명자들은 결손된 종양 억제인자일 가능성이 있는 현저하게 결손된 유전자의 영역을 탐색하였다. 이들 데이터에 대한 GISTIC2.0 실행 결과를 이용하였다. 스프레드시트에는 6번 염색체에서 GISTIC 결손 피크 개수 ( $q < 0.25$ )와 이들 결손 피크들의 최저 q-값을 기재한다. 일반적으로, GISTIC 결손 피크가 많고 q-값이 낮을수록 선택압은 강해진다. 그러나, 하나의 매우 강한 GISTIC 피크가 우세하고 피크 개수가 적은 시나리오 역시 가능하지만, 구동체 (driver)의 유의성은 명확하다. 일반적으로, 최저 q-값은 소정의 염색체에서 종양 억제인자 구동체의 존재에 대해 가장 높은 상관 관계이어야 한다.

[0821] 3번째로, 본 발명자들은 각각의 종양에서 현저하게 돌연변이된 유전자 세트를 공지된 종양 억제자 유전자 목록과 겹쳐, 임의의 돌연변이된 유전자가 6번 염색체의 소실을 구동할 가능성이 있는지를 확인하였다<sup>5</sup>. 본 발명자들은 가능한 돌연변이 구동체를 가진 2종의 종양 유형을 식별할 수 있었다. 부신피질 암종에서, DAXX 유전자가 유의하게 돌연변이되었고 ( $q = 0.0571$ ), 미만성 거대 B 세포 림프종에서는 TNFAIP3 유전자가 유의하게 돌연변이되었다 ( $q = 0.00278$ ). DAXX는 히스톤 사페론을 코딩하며, 이의 돌연변이는 부신피질 암종에서 더 긴 텔로미어와 관련 있다<sup>6</sup>. TNFAIP3는 NF- $\kappa$ B 신호전달의 네거티브 조절인자를 코딩한다. 따라서, DLBCL에서 발생하는 유전자의 돌연변이는 NF- $\kappa$ B의 신호전달을 증가시키는 것으로 밝혀졌다<sup>7</sup>.

[0822] 표 3. LOH 분석된 게놈 유전자좌. 게놈 좌표는 hg19 인간 게놈 어셈블리에 위치한다.

표 3

유전자	단백질	염색체	시작 위치	종료 위치	RNA 발현 (RPKM)
HLA-A	HLA-A	6	29941260	29945884	226.6
HLA-B	HLA-B	6	31353872	31357188	422.4
HLA-C	HLA-C	6	31268749	31272130	193.4

[0824] 표 4. ABSOLUTE 데이터가 존재하는 종양 유형

표 4

질환 명	TCGA 약어	샘플 수	ABSOLUTE 완료된 샘플 수
방광 요로상피 암종	BLCA	138	90
유방 침윤성 암종	BRCA	880	750
결장 선암종	COAD	422	349
다형성 교모세포종	GBM	580	485
두경부 편평 세포암	HNSC	310	270
신장 투명 신세포 암종	KIRC	497	373
급성 골수성 백혈병	LAML	200	0
폐 선암종	LUAD	357	292
폐 편평 세포암	LUSC	344	261
난소 장액성 난성암종	OV	567	457
직장 선암종	READ	164	147
자궁 체부 자궁내막 암종	UCEC	498	378

[0826] 표 5. 상대적인 카피수 데이터 대 ABSOLUTE 카피수 데이터의 LOH 상관관계 (피어슨). 임계값 -0.1에 대한 상관관계 피크.

표 5

[0827]

결손 임계값	상관 관계( $r^2$ )
0	0.01
-0.05	0.49
-0.1	0.55
-0.15	0.53
-0.2	0.46
-0.25	0.44
-0.3	0.21
-0.35	0.10
-0.4	0.07
-0.45	0.09
-0.5	0.08

[0828] 표 6. TCGA 데이터베이스에서 암 32종 전체에서 LOH 개수 및 비율

표 6

[0829]

TCGA 약어	총 샘플 (n)	LOH 개수 (n)	LOH 비율
KICH	66	57	0.863636364
ACC	90	46	0.511111111
PAAD	184	51	0.277173913
KIRP	288	73	0.253472222
LUSC	501	124	0.24750499
SARC	257	63	0.245136187
ESCA	184	45	0.244565217
KIRC	528	98	0.185606061
BLCA	408	73	0.178921569
OV	579	96	0.165803109
THYM	123	20	0.162601626
HNSC	522	81	0.155172414
CECSC	295	45	0.152542373
STAD	441	66	0.149659864
BRCA	1080	159	0.147222222
DLBC	48	7	0.145833333
LUAD	516	65	0.125968992
COADREAD	616	77	0.125
GBM	577	72	0.124783362
TGCT	150	18	0.12
CHOL	36	4	0.111111111
MESO	87	9	0.103448276
UCS	56	5	0.089285714
UCEC	539	31	0.057513915
LGG	513	24	0.046783626
PRAD	492	19	0.038617886
SKCM	104	4	0.038461538
LIHC	370	14	0.037837838
PCPG	162	3	0.018518519
THCA	499	9	0.018036072
UVM	80	0	0
LAML	0	0	NA

- [0830] 상기 내용에 근거하여, 본 발명자들은 다수 종양들에서 HLA 영역 LOH가 공통적인 현상이지만, LOH 백분율이 종양 유형에 따라 차이가 있는 것으로 결론 내렸다. 이에, HLA 유전자는 iCAR 표적에 대한 양호한 후보이다.
- [0831] **실시예 1에 대한 참조문헌:**
- [0832] 1. Zack TI, Schumacher SE, Carter SL, Cherniack AD, Saksena G, Tabak B, Lawrence MS, Zhsng CZ, Wala J, Mermel CH, Sougnez C, Gabriel SB, Hernandez B, Shen H, Laird PW, Getz G, Meyerson M, Beroukchim R. Pan-cancer patterns of somatic copy number alteration. *Nature genetics*. 2013;45:1134-1140
- [0833] 2. Gibson WJ, Hoivik EA, Halle MK, Taylor-Weiner A, Cherniack AD, Berg A, Holst F, Zack TI, Werner HM, Staby KM, Rosenberg M, Stefansson IM, Kusonmano K, Chevalier A, Mauland KK, Trovik J, Krakstad C, Giannakis M, Hodis E, Woie K, Bjorge L, Vintermyr OK, Wala JA, Lawrence MS, Getz G, Carter SL, Beroukchim R, Salvesen HB. The genomic landscape and evolution of endometrial carcinoma progression and abdominopelvic metastasis. *Nature genetics*. 2016;48:848-855
- [0834] 3. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, Martinez P, Matthews N, Stewart A, Tarpey P, Varela I, Phillimore B, Begum S, McDonald NQ, Butler A, Jones D, Raine K, Latimer C, Santos CR, Nohadani M, Eklund AC, Spencer-Dene B, Clark G, Pickering L, Stamp G, Gore M, Szallasi Z, Downward J, Futreal PA, Swanton C. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *The New England journal of medicine*. 2012;366:883-892
- [0835] 4. Lawrence MS, Stojanov P, Mermel CH, Robinson JT, Garraway LA, Golub TR, Meyerson M, Gabriel SB, Lander ES, Getz G. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature*. 2014;505:495-501
- [0836] 5. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Jr., Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013;339:1546-1558
- [0837] 6. Zheng S, Cherniack AD, Dewal N, Moffitt RA, Danilova L, Murray BA, Lerario AM, Else T, Knijnenburg TA, Ciriello G, Kim S, Assie G, Morozova O, Akbani R, Shih J, Hoadley KA, Choueiri TK, Waldmann J, Mete O, Robertson AG, Wu HT, Raphael BJ, Shao L, Meyerson M, Demeure MJ, Beuschlein F, Gill AJ, Sidhu SB, Almeida MQ, Fragoso M, Cope LM, Kebebew E, Habra MA, Whitsett TG, Bussey KJ, Rainey WE, Asa SL, Bertherat J, Fassnacht M, Wheeler DA, Cancer Genome Atlas Research N, Hammer GD, Giordano TJ, Verhaak RGW. Comprehensive pan-genomic characterization of adrenocortical carcinoma. *Cancer cell*. 2016;29:723-736
- [0838] 7. Compagno M, Lim WK, Grunn A, Nandula SV, Brahmachary M, Shen Q, Bertoni F, Ponzoni M, Scandurra M, Califano A, Bhagat G, Chadburn A, Dalla-Favera R, Pasqualucci L. Mutations of multiple genes cause deregulation of nf-kappab in diffuse large b-cell lymphoma. *Nature*. 2009;459:717-721.
- [0839] **실시예 2. 이형접합성 소실을 겪는, 발현된 세포-표면 단백질을 코딩하는 생식계열 대립유전자의 전장 계층 동정**
- [0840] **서론:**
- [0841] iCAR의 표적이 비-종양 조직에 의해서만 발현된다면, 저해성-CAR-T 세포는 항-종양 효과를 감소시키지 않으면서 CAR-T 요법의 오프-종양 독성을 줄일 수 있다. iCAR 표적이 비-종양 세포에 의해서만 발현되는 이러한 한가지 시나리오, iCAR 항원이 종양 세포에서 결손된 계층의 일부에 의해 코딩되는 경우이다. 이 워크플로우 섹션의 목표는 이러한 대립유전자를 식별하는 것이다.
- [0842] **대립유전자 식별:**
- [0843] 본 발명자들은 진유전체 통합 컨소시엄 (ExAC) 데이터베이스를 분석의 입력값으로 사용하였다 (exac.broadinstitute.org). ExAC 데이터베이스는 다양한 집단-수준 서열분석 연구로부터의 진유전체 총 60,706개를 수록한 것이다<sup>1</sup>. ExAC는 대체 대립유전자와 비교하여 기준 대립유전자의 개수 (대립유전자 빈도)를 비롯한 각각의 변이체에 대한 정보를 포함한다. 대립유전자 빈도 정보는 표 7에 구체적으로 기술된 바와 같이

데이터베이스의 소집단으로 확장된다.

[0844] 표 7. ExAC 데이터베이스의 소집단들. 참조: 게놈의 모든 위치들이 표의 개체들 모두 표시하도록 충분한 진유전체 커버리지를 가지는 것은 아니다. 출처: <http://exac.broadinstitute.org/faq>

표 7

집단 혈통	집단 약어	개체 수
아프리카계	AFR	5,203
라틴계	AMR	5,789
동아시아계	EAS	4,327
핀란드계	FIN	3,307
비-핀란드계	NFE	33,370
남아시아계	SAS	8,256
기타	OTH	454

[0846] 다음과 같은 필터를 ExAC 데이터베이스의 변이체에 적용하였다: i) 변이체는 코딩된 단백질의 아미노산 조성에 영향을 미쳐야 한다; ii) 변이체는 표 6의 하나 이상의 집단에서 0.05 (5%)를 초과하는 마이너 대립유전자 빈도를 가져야 한다. 분석에서 마이너 대립유전자의 대립유전자 비율이 0.5 (50%)를 넘는 경우 시나리오를 정정하였다. 한 부위에서 대립유전자가 4개 이상 관찰되면, 가장 우세한 치환을 사용하였다 (이들 부위는 종종 서열분석 오류 부위이므로 해석시 주의하여야 한다).

[0847] 임의의 SNP가 다음과 같은 변이체 클래스에서 발생한다면, SNP가 단백질의 구성에 영향을 미치는 것으로 카운팅하였다: 'missense\_variant', 'inframe\_deletion', 'start\_lost', 'stop\_gained', 'inframe\_insertion', 'stop\_retained\_variant', 'frameshift\_variant', 'stop\_lost', 'coding\_sequence\_variant', 'protein\_altering\_variant'.

[0848] 분석은 변이체 9,362,319개로 시작하였으며, 이중 변이체 29,904개가 이들 2가지 필터를 통과하였다. 이들 변이체는 유전자 10,302개에 속한다. 이들 2가지 필터에 매칭되는 대립유전자들 모두 분석에 포함시켰다.

[0849] **발현된 유전자 식별:**

[0850] 본 발명자들은 다양한 조직 유형들에서 발현되는 유전자를 식별하기 위해 유전자형-조직 발현 (GTEx) 데이터베이스 v6p (dbGaP Accession phs000424.v6.p1)를 이용하였다 (<https://gtexportal.org/home/>)<sup>2</sup>. GTEx 데이터베이스는 다양한 건강한 조직 유형들로부터 수득한 인간 샘플 8,555개에 대한 RNA-서열분석으로 구성된다. 이 데이터베이스로부터 여러 주석을 입수하였다. 먼저, 본 발명자들은 전체 조직들에서 각각의 유전자의 평균 발현을 측정하였다. 각각의 유전자에 대한 평균 발현은 조직별 중앙값 발현 데이터를 취하고 조직 전체들에 대한 이들 값의 평균을 계산함으로써 계산하였다. 이들 데이터는 <https://gtexportal.org/home/datasets>에서 이용가능한 GTEx\_Analysis\_v6p\_RNA-seq\_RNA-SeQCv1.1.8\_gene\_median\_rpkm.gct 파일로부터 입수하였다.

[0851] 각각의 중앙 유형에 상응하는 각 유전자의 평균 발현도 포함시켰다. 이들 데이터를 입수하기 위해, 본 발명자들은 중앙 유형을 상응하는 정상 조직으로 맵핑하였다. 예를 들어, 췌장암 TCGA 데이터는 GTEx에서 췌장 조직으로 주석에 표시될 것이다. 일부 경우에, 맵핑은 보다 대략적이다. 예를 들어, 교모세포종 발현 데이터는 GTEx에서 뇌로 주석이 달린 모든 조직들로부터 맵핑하였다. 이들 맵핑이 포함된 표 (제목: tcga\_disease\_tissue\_lookup.txt)를 첨부하였다. 각 조직/중앙 유형에서 각각의 유전자의 동종성 또는 과다발현을 분석하기 위해 수개의 측정값을 계산하였다. 각각의 중앙 유형에서, 유전자의 가능성 있는 과다발현을 확립하기 위해 코헨의 D 점수를 계산하였다. 특정 조직에서 과다 발현된 유전자는 양호한 aCAR 표적일 가능성이 있다. 반대로, 본 발명자들은 조직들에서 유전자 발현의 표준 편차를 구하였으며, 이를 전체 조직들에서 평균 발현과 비교하였다. 이 비율이 낮으면, 해당 유전자가 모든 조직들에서 균일하게 발현되는 것이다. 모든 조직들에서 균일하게 발현되는 유전자는 보다 양호한 iCAR 표적일 가능성이 있다.

[0852] 유전자가 하기 기준을 충족한다면 "보편적으로 발현되"는 것으로 본다: (i) 조직들에서의 평균 발현이 10 RPKM 보다 높다. (ii) 발현이 가장 낮은 조직은 RPKM이 1보다 크다. (iii) 평균 RPKM과 비교해, 조직들에서 중앙값 RPKM의 표준 편차의 비는 1 미만이다. 유전자 1,092개만 보편적으로 발현되는 것으로 주석이 기재되었다.

[0853] 후보는 UniProt 주석에만 기반하여 선택하였다. 막관통 단백질의 경우, 일반적으로 세포의 단백질 분절이 명확

하게 예측된다.

[0854] 표 8은 염색체 위치에 따라 분류한 세포의 다형성 에피토프를 가진 상기 방법에 의해 식별된 양호한 후보 유전자 1167종의 목록을 제시한다. 대립유전자 빈도 (AF) >10% 및 LOH > 20% 필터를 적용하면, 유전자는 598종이다. 도 22를 참조한다.

[0855] **대립유전자의 주석**

[0856] **단백질 기능에 대한 대립유전자의 영향:**

[0857] iCAR이 막 단백질의 하나의 대립유전자를 소실한 암 세포만 효과적으로 인지하기 위해서는, 어느 대립유전자에 의해 코딩되는지에 따라 단백질의 구조가 충분히 달라야 한다. 생성된 단백질에 대한 각각의 SNP의 효과를 정량하기 위해 몇 가지 측정을 수행하였다. 먼저, 보고된 SNP 변이체 유형 (예를 들어, 미스센스, 넌센스)을 'consequence' 열에 기록하였다. 컨센서스 단백질 번역에 대한 효과는 'protein\_consequence' (예, p.Arg482Gln) 열에 기재하였다. SIFT 알고리즘으로 단백질 변이체가 단백질 구조에 영향을 미칠지를 예측하고자 하였다<sup>6</sup>. 점수는 0 (유해)에서 1 (무해)의 범위일 수 있다. SIFT 점수 (sift5.2.2 버전)는 점수를 입수가능한 모든 SNP들에 기재하였다. 예를 들어, 프레임시프트 돌연변이는 점수를 입수할 수 없다. PolyPhen (v2.2.2)으로 변이체가 단백질 구조 및 기능에 영향을 미칠 가능성을 예측하였다. Polyphen 알고리즘은 SIFT와는 대비되는 방식으로 점수를 기록하며, 점수 0은 무해함에 해당하고 점수 1은 유해함에 해당한다.

[0858] 아미노산 치환이 구조적 변화를 유도할 가능성에 대한 하나의 고전적인 척도는 BLOSUM62 치환 매트릭스를 사용하는 것이다. 본 발명자들은 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C\\_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62)로부터 BLOSUM62 매트릭스를 내려받았다. 각각의 SNP에는 이의 치환에 상응하는 BLOSUM62 점수는 주석에 표시된다.

[0859] **단백질의 세포의 영역에 속하는 대립유전자의 분류:**

[0860] iCAR이 대립유전자를 인지하기 위해서는, 대립유전자는 단백질의 세포의 영역에 해당하여야 한다. 각각의 SNP에 대해, 본 발명자들은 컨센서스 번역에서 영향을 받는 아미노산 위치를 추출하고, 이를 Uniprot 데이터베이스에서 세포외로 주석이 표시된 도메인과 비교하였다. Uniprot 데이터베이스는 [www.uniprot.org/downloads](http://www.uniprot.org/downloads)로부터 내려받았다. 전체 단백질들에서 단백질에 대한 특정화 부족으로 인해 다수의 위 음성 결과가 발생할 수 있다. 유전자 1167종에서 SNP 총 3288개에 주석에 세포외가 표시되었다 (표 8). AF 및 LOH 필터를 적용하면, 유전자 598종에서 SNP는 1306개였다 (표 13).

[0861] **SNP의 펩타이드 컨텍스트의 주석:**

[0862] 분석한 대립유전자의 펩타이드 컨텍스트는 이들 서열을 인지하는 항체를 구축하고자 할 경우 중요할 가능성이 있다. 본 발명자들은 SNP에 의해 코딩되는 아미노산 앞에 놓인 아미노산 10개를 참조로 포함시켰다 (아미노산 서열 총 21개). 컨센서스 아미노산 서열에 대해서는 uniprot 데이터베이스를 이용하였다. 본 발명자들은, 임의의 거짓 서열이 포함되지 않도록 하기 위해, uniprot 데이터베이스의 서열이 예측된 위치에서 SNP에 의해 코딩되는 아미노산과 일치하지 않을 경우, 임의의 상충되는 것으로 주석을 달았다. 이들 아미노산 서열 21개는 Bepipred와 같은 B-세포 에피토프 예측 프로그램에 대한 입력값으로서 사용할 수 있다.

[0863] **암-특이 주석:**

[0864] **LOH를 겪는 종양의 비율**

[0865] 제안된 요법이 유용할 수 있는 종양 환자를 탐색하기 위해, 높은 종양 비율로 이형접합성 소실 (LOH)되는 SNP가 iCAR 타겟이어야 할 것이다. 본질 카피 수 파일은 cbio 암 게놈학 포털 <http://www.cbioportal.org/>에서 내려받았다<sup>8</sup>. 예를 들어, 전체 SNP에서 LOH를 겪는 포도막 흑색종 종양의 비율을 도 12에 도시한다.

[0866] **후보 SNP를 보유한 염색체에서 잠재적인 구동체 변경**

[0867] 게놈 표적 요법의 가능성있는 한가지 내성 기전은, 의도된 게놈 변형들 중 하나가 암 세포의 일부에만 존재하는 것이다. 종양 발생의 초기 단계에 존재할 가능성이 있는 표적을 식별하기 위한 한가지 기전은 각 종양에 대한 구동 현상을 식별하는 것이다. 종양 억제자 유전자 불활성화의 가장 빈번한 기전은 돌연변이이고, 그 다음으로 비-돌연변이 염색체의 LOH이다. 본 발명자들은 각각의 종양 유형에서 이러한 과정을 겪을 가능성이 있는 구동체 유전자, 특히 종양 억제자 유전자 (TSG)를 탐색하고자 하였다. 본 발명자들은 이 분석에서의 전체 종양에 대한 MUTSIG 2.0 실행 결과를 이용해, 각각의 종양 유형에서 유의하게 돌연변이된 유전자들을 식별하였다. 본 발명자

들은 유의하게 돌연변이된 유전자들 중 하나가 TP53, PTEN, APC, MLL3, MLL2, VHL, CDKN2A, RB1 등의 "홀마크" 종양 억제자 유전자의 목록에 포함되었는지를 주석으로 표시하였다. 마지막으로, 구동체 유전자, TSG 및 "홀마크" TSG의 목록에서는, 이들 유전자가 SNP와 동일한 염색체에 위치한다면, SNP에 주석을 표시하였다.

[0868] 후속적으로 LOH를 겪는 구동체 유전자의 돌연변이는 종양 진화 초기에 발생하기 쉬운 현상을 나타낼 수 있는 한 가지 기전이고, 종양 억제자 유전자를 포함한 게놈 분절의 국소 결손 (focal deletion)은 또 다른 기전이다. 본 발명자들은 GISTIC 알고리즘을 사용해, 평균보다 높은 비율로 게놈 결손이 진행된 DNA 영역을 식별하였다. GISTIC 알고리즘은 염색체 아암에서 이들 영역에 대한 네거티브 선택압을 시사하는 통계적 유의성의 "피크"를 동정한다. 각각의 SNP에서, 본 발명자들은 SNP가 위치한 염색체에서의 결손 피크 수를 기록하였다. 또한, 본 발명자들은 이들 피크들 중 임의의 피크에서 최저 q-값을 기록하였다. q-값이 낮을수록 선택압이 높다는 것을 의미한다.

[0869] 후보 SNP의 순위를 매기기 위한 누적 점수:

[0870] 후보 SNP에 대한 연속적인 "점수"를 제공하기 위한 시도로, 본 발명자들은 더 양호한 SNP 후보와 관련이 있는 몇 가지 지표 (metrics)를 조합하였다. 점수는 하기 각각에 대한 백분위수의 곱으로 이루어진다:

- [0871] 1. 해당 SNP에 LOH가 존재하는 종양의 비율 (높을수록 양호함). 2. 대립유전자의 출현률 (높을수록 양호함). 3. 종양값에 대한 조직들에서의 발현 값의 표준 편차의 비 (낮을수록 양호하고, 일관성이 높음). 4. 염색체에 종양 억제자 유전자의 존재 유무 (존재하는 것이 부재하는 것보다 유리함).

[0872] 예시하기 위해, 이론적 SNP에 대해 점수를 계산한다. SNP들 중 32%만 염색체에 종양 억제자 유전자를 가진다면, 이의 백분위 점수는 0.68일 것이다. 대립유전자의 마이너 대립유전자 비율이 0.49 (가능한 최고치는 0.5임)라면, 백분위 점수는 0.99일 것이다. LOH의 비율이 0.10이고 SNP들 중 75%가 이보다 많은 LOH를 가진다면, 백분위 점수는 0.25일 것이다. 이 SNP를 가진 유전자의 종양값에 대한 조직들에서 발현 값의 표준 편차의 비가 1.3이고, 다른 유전자들 90%보다 우수하다면, 백분위 점수는 0.9이다. 이 SNP에 대한 총 점수는  $0.68 \times 0.99 \times 0.25 \times 0.9 = 0.15$ 일 것이다.

[0873] 점수가 0.4보다 높은 SNP는 "탑 히트 (top-hit)"로 간주하였다.

[0874] 표 8. 예시적인 iCAR 표적들

표 8

[0875]

염색체 번호	유전자
1	ABCA4
1	ADAM30
1	ASTN1
1	Clorf101
1	CACNA1S
1	CATSPER4
1	CD101
1	CD164L2
1	CD1A
1	CD1C
1	CD244
1	CD34
1	CELSR2
1	CHRN2
1	CLCA2
1	CLSTN1
1	CR1
1	CR2
1	CRB1
1	CSF3R
1	CSMD2
1	ECE1
1	ELTD1
1	EMC1

1	EPHA10
1	EPHA2
1	ERMAP
1	FCAMR
1	FCER1A
1	FCGR1B
1	FCGR2A
1	FCGR2B
1	FCGR3A
1	FCRL1
1	FCRL3
1	FCRL4
1	FCRL5
1	FCRL6
1	GJB4
1	GPA33
1	GPR157
1	GPR37L1
1	GPR88
1	HCRTR1
1	IGSF3
1	IGSF9
1	IL22RA1
1	ITGA10
1	KIAA1324
1	KIAA2013
1	LDLRAD2
1	LEPR
1	LRIG2
1	LRP8
1	LRRC52
1	LRRC8B
1	LRRN2
1	LY9
1	MR1
1	MUC1
1	MXRA8
1	NCSTN
1	NFASC
1	NOTCH2
1	NPR1
1	NTRK1
1	OPN3
1	OR10J1
1	OR10J4
1	OR10K1
1	OR10R2
1	OR10T2
1	OR10X1
1	OR11L1
1	OR14A16
1	OR14I1
1	OR14K1
1	OR2AK2
1	OR2C3
1	OR2G2
1	OR2G3
1	OR2L2

1	OR2M7
1	OR2T1
1	OR2T12
1	OR2T27
1	OR2T29
1	OR2T3
1	OR2T33
1	OR2T34
1	OR2T35
1	OR2T4
1	OR2T5
1	OR2T6
1	OR2T7
1	OR2T8
1	OR2W3
1	OR6F1
1	OR6K2
1	OR6K3
1	OR6K6
1	OR6N1
1	OR6P1
1	OR6Y1
1	PEAR1
1	PIGR
1	PLXNA2
1	PTCH2
1	PTCHD2
1	PTGFRN
1	PTPRC
1	PTPRF
1	PVRL4
1	RXFP4
1	S1PR1
1	SCNN1D
1	SDC3
1	SELE
1	SELL
1	SELP
1	SEMA4A
1	SEMA6C
1	SLAMF7
1	SLAMF9
1	SLC2A7
1	SLC5A9
1	TACSTD2
1	TAS1R2
1	TIE1
1	TLR5
1	TMEM81
1	TNFRSF14
1	TNFRSF1B
1	TRABD2B
1	USH2A
1	VCAM1
1	ZP4
2	ABCG5
2	ALK
2	ASPRV1

2	ATRAID
2	CD207
2	CHRNA1
2	CLEC4E
2	CNTNAP5
2	CRIM1
2	CXCR1
2	DNER
2	DPP10
2	EDAR
2	EPCAM
2	GPR113
2	GPR148
2	GPR35
2	GPR39
2	IL1RL1
2	ITGA4
2	ITGA6
2	ITGAV
2	LCT
2	LHCGR
2	LRP1B
2	LRP2
2	LY75
2	MARCO
2	MERTK
2	NRP2
2	OR6B2
2	PLA2R1
2	PLB1
2	PROKR1
2	PROM2
2	SCN7A
2	SDC1
2	TGOLN2
2	THSD7B
2	TMEFF2
2	TMEM178A
2	TPO
2	TRABD2A
3	ACKR2
3	ALCAM
3	ANO10
3	ATP13A4
3	CACNA1D
3	CACNA2D2
3	CACNA2D3
3	CASR
3	CCRL2
3	CD200
3	CD200R1
3	CD86
3	CD96
3	CDCP1
3	CDHR4
3	CELSR3
3	CHL1
3	CLDN11

3	CLDN18
3	CLSTN2
3	CSPG5
3	CX3CR1
3	CXCR6
3	DCBLD2
3	DRD3
3	EPHB3
3	GABRR3
3	GP5
3	GPR128
3	GPR15
3	GPR27
3	GRM2
3	GRM7
3	HEG1
3	HTR3C
3	HTR3D
3	HTR3E
3	IGSF11
3	IL17RC
3	IL17RD
3	IL17RE
3	IL5RA
3	IMPG2
3	ITGA9
3	ITGB5
3	KCNMB3
3	LRIG1
3	LRRC15
3	LRRN1
3	MST1R
3	NAALADL2
3	NRROS
3	OR5AC1
3	OR5H1
3	OR5H14
3	OR5H15
3	OR5H6
3	OR5K2
3	OR5K3
3	OR5K4
3	PLXNB1
3	PLXND1
3	PRRT3
3	PTPRG
3	ROBO2
3	RYK
3	SEMA5B
3	SIDT1
3	SLC22A14
3	SLC33A1
3	SLC4A7
3	SLITRK3
3	STAB1
3	SUSD5
3	TFRC
3	TLR9

3	TMEM44
3	TMPRSS7
3	TNFSF10
3	UPK1B
3	VIPR1
3	ZPLD1
4	ANTXR2
4	BTC
4	CNGA1
4	CORIN
4	EGF
4	EMCN
4	ENPEP
4	EPHA5
4	ERVMER34-1
4	EVC2
4	FAT1
4	FAT4
4	FGFRL1
4	FRAS1
4	GPR125
4	GRID2
4	GYPA
4	GYPB
4	KDR
4	KIAA0922
4	KLB
4	MFSD8
4	PARM1
4	PDGFRA
4	RNF150
4	TENM3
4	TLR1
4	TLR10
4	TLR6
4	TMEM156
4	TMPRSS11A
4	TMPRSS11B
4	TMPRSS11E
4	TMPRSS11F
4	UNC5C
5	ADAM19
5	ADRB2
5	BTNL3
5	BTNL8
5	BTNL9
5	C5orf15
5	CATSPER3
5	CD180
5	CDH12
5	CDHR2
5	COL23A1
5	CSF1R
5	F2RL2
5	FAM174A
5	FAT2
5	FGFR4
5	FLT4

5	GABRA6
5	GABRG2
5	GPR151
5	GPR98
5	GRM6
5	HAVCR1
5	HAVCR2
5	IL31RA
5	IL6ST
5	IL7R
5	ITGA1
5	ITGA2
5	KCNMB1
5	LIFR
5	LNPEP
5	MEGF10
5	NIPAL4
5	OR2V1
5	OR2Y1
5	OSMR
5	PCDH1
5	PCDH12
5	PCDHA1
5	PCDHA2
5	PCDHA4
5	PCDHA8
5	PCDHA9
5	PCDHB10
5	PCDHB11
5	PCDHB13
5	PCDHB14
5	PCDHB15
5	PCDHB16
5	PCDHB2
5	PCDHB3
5	PCDHB4
5	PCDHB5
5	PCDHB6
5	PCDHGA1
5	PCDHGA4
5	PDGFRB
5	PRLR
5	SEMA5A
5	SEMA6A
5	SGCD
5	SLC1A3
5	SLC22A4
5	SLC22A5
5	SLC36A3
5	SLC6A18
5	SLC6A19
5	SLCO6A1
5	SV2C
5	TENM2
5	TIMD4
5	UGT3A1
6	BAI3
6	BTN1A1

6	BTN2A1
6	BTN2A2
6	BTN3A2
6	BTNL2
6	CD83
6	DCBLD1
6	DLL1
6	DPCR1
6	ENPP1
6	ENPP3
6	ENPP4
6	EPHA7
6	GABBR1
6	GABRR1
6	GCNT6
6	GFRAL
6	GJB7
6	GLP1R
6	GPR110
6	GPR111
6	GPR116
6	GPR126
6	GPR63
6	GPRC6A
6	HFE
6	HLA-A
6	HLA-B
6	HLA-C
6	HLA-DPA1
6	HLA-DPB1
6	HLA-DQA1
6	HLA-DQA2
6	HLA-DQB1
6	HLA-DQB2
6	HLA-DRB1
6	HLA-DRB5
6	HLA-E
6	HLA-F
6	HLA-G
6	IL20RA
6	ITPR3
6	KIAA0319
6	LMBRD1
6	LRFN2
6	LRP11
6	MAS1L
6	MEP1A
6	MICA
6	MICB
6	MUC21
6	MUC22
6	NCR2
6	NOTCH4
6	OPRM1
6	OR10C1
6	OR12D2
6	OR12D3
6	OR14J1

6	OR2B2
6	OR2B6
6	OR2J1
6	OR2W1
6	OR5V1
6	PKHD1
6	PTCRA
6	RAET1E
6	RAET1G
6	ROS1
6	SDIM1
6	SLC22A1
6	SLC44A4
6	TAAR2
6	TREM1
6	TREML1
6	TREML2
7	AQP1
7	CD36
7	CDHR3
7	CNTNAP2
7	DPP6
7	EGFR
7	EPHA1
7	EPHB6
7	ERVW-1
7	GHRHR
7	GJC3
7	GPNMB
7	GRM8
7	HYAL4
7	KIAA1324L
7	LRRN3
7	MET
7	MUC12
7	MUC17
7	NPC1L1
7	NPSR1
7	OR2A12
7	OR2A14
7	OR2A2
7	OR2A25
7	OR2A42
7	OR2A7
7	OR2AE1
7	OR2F2
7	OR6V1
7	PILRA
7	PKD1L1
7	PLXNA4
7	PODXL
7	PTPRN2
7	PTPRZ1
7	RAMP3
7	SLC29A4
7	SMO
7	TAS2R16
7	TAS2R4

7	TAS2R40
7	TFR2
7	THSD7A
7	TMEM213
7	TTYH3
7	ZAN
7	ZP3
8	ADAM18
8	ADAM28
8	ADAM32
8	ADAM7
8	ADAM9
8	CDH17
8	CHRNA2
8	CSMD1
8	CSMD3
8	DCSTAMP
8	FZD6
8	GPR124
8	NRG1
8	OR4F21
8	PKHD1L1
8	PRSS55
8	SCARA3
8	SCARA5
8	SDC2
8	SLC10A5
8	SLC39A14
8	SLC39A4
8	SLC05A1
8	TNFRSF10A
8	TNFRSF10B
9	ABCA1
9	AQP7
9	C9orf135
9	CA9
9	CD72
9	CNTNAP3
9	CNTNAP3B
9	ENTPD8
9	GPR144
9	GRIN3A
9	IZUMO3
9	KIAA1161
9	MAMDC4
9	MEGF9
9	MUSK
9	NOTCH1
9	OR13C2
9	OR13C3
9	OR13C5
9	OR13C8
9	OR13C9
9	OR13D1
9	OR13F1
9	OR1B1
9	OR1J2
9	OR1K1

9	OR1L1
9	OR1L3
9	OR1L6
9	OR1L8
9	OR1N1
9	OR1N2
9	OR1Q1
9	OR2S2
9	PCSK5
9	PLGRKT
9	PTPRD
9	ROR2
9	SEMA4D
9	SLC31A1
9	TEK
9	TLR4
9	TMEM2
9	VLDLR
10	ABCC2
10	ADAM8
10	ADRB1
10	ANTXRL
10	ATRNL1
10	C10orf54
10	CDH23
10	CDHR1
10	CNNM2
10	COL13A1
10	COL17A1
10	ENTPD1
10	FGFR2
10	FZD8
10	GPR158
10	GRID1
10	IL15RA
10	IL2RA
10	ITGA8
10	ITGB1
10	MRC1
10	NPFGR1
10	NRP1
10	OPN4
10	PCDH15
10	PKD2L1
10	PLXDC2
10	PRLHR
10	RGR
10	SLC29A3
10	SLC39A12
10	TACR2
10	TCTN3
10	TSPAN15
10	UNC5B
10	VSTM4
11	AMICA1
11	ANO3
11	APLP2
11	C11orf24

11	CCKBR
11	CD248
11	CD44
11	CD5
11	CD6
11	CDON
11	CLMP
11	CRTAM
11	DCHS1
11	DSCAML1
11	FAT3
11	FOLH1
11	GDPD4
11	GDPD5
11	GRK4
11	HEPHL1
11	HTR3B
11	IFITM10
11	IL10RA
11	KIRREL3
11	LGR4
11	LRP4
11	LRP5
11	LRRC32
11	MCAM
11	MFRP
11	MPEG1
11	MRGPRE
11	MRGPRF
11	MRGPRG
11	MRGPRX2
11	MRGPRX3
11	MRGPRX4
11	MS4A4A
11	MTNR1B
11	MUC15
11	NAALAD2
11	NAALADL1
11	NCAM1
11	NRXN2
11	OR10A2
11	OR10A5
11	OR10A6
11	OR10D3
11	OR10G4
11	OR10G7
11	OR10G8
11	OR10G9
11	OR10Q1
11	OR10S1
11	OR1S1
11	OR2AG1
11	OR2AG2
11	OR2D2
11	OR4A15
11	OR4A47
11	OR4A5
11	OR4A8P

11	OR4C11
11	OR4C13
11	OR4C15
11	OR4C16
11	OR4C3
11	OR4C46
11	OR4C5
11	OR4D6
11	OR4D9
11	OR4S2
11	OR4X1
11	OR51E1
11	OR51L1
11	OR52A1
11	OR52E1
11	OR52E2
11	OR52E4
11	OR52E6
11	OR52I1
11	OR52I2
11	OR52J3
11	OR52L1
11	OR52N1
11	OR52N2
11	OR52N4
11	OR52W1
11	OR56B1
11	OR56B4
11	OR5A1
11	OR5A2
11	OR5AK2
11	OR5AR1
11	OR5B17
11	OR5B3
11	OR5D14
11	OR5D16
11	OR5D18
11	OR5F1
11	OR5I1
11	OR5L2
11	OR5M11
11	OR5M3
11	OR5P2
11	OR5R1
11	OR5T2
11	OR5T3
11	OR5W2
11	OR6A2
11	OR6T1
11	OR6X1
11	OR8A1
11	OR8B12
11	OR8B2
11	OR8B3
11	OR8B4
11	OR8D1
11	OR8D2
11	OR8H1

11	OR8H2
11	OR8H3
11	OR8I2
11	OR8J1
11	OR8J2
11	OR8J3
11	OR8K1
11	OR8K3
11	OR8K5
11	OR8U1
11	OR9G1
11	OR9G4
11	OR9Q2
11	P2RX3
11	PTPRJ
11	ROBO3
11	SIGIRR
11	SLC22A10
11	SLC3A2
11	SLC5A12
11	SLCO2B1
11	SORL1
11	ST14
11	SYT8
11	TENM4
11	TMEM123
11	TMPRSS4
11	TMPRSS5
11	TRPM5
11	TSPAN18
11	ZP1
12	ANO4
12	AVPR1A
12	CACNA2D4
12	CD163
12	CD163L1
12	CD27
12	CD4
12	CLEC12A
12	CLEC2A
12	CLEC4C
12	CLEC7A
12	CLECL1
12	CLSTN3
12	GPR133
12	GPRC5D
12	ITGA7
12	ITGB7
12	KLRB1
12	KLRC2
12	KLRC3
12	KLRC4
12	KLRF1
12	KLRF2
12	LRP1
12	LRP6
12	MANSC1
12	MANSC4

12	OLR1
12	OR10AD1
12	OR10P1
12	OR2AP1
12	OR6C1
12	OR6C2
12	OR6C3
12	OR6C4
12	OR6C6
12	OR6C74
12	OR6C76
12	OR8S1
12	OR9K2
12	ORAI1
12	P2RX4
12	P2RX7
12	PTPRB
12	PTPRQ
12	SCNN1A
12	SELPLG
12	SLC38A4
12	SLC5A8
12	SLC6A15
12	SLC8B1
12	SLCO1B1
12	SLCO1B7
12	SSPN
12	STAB2
12	TAS2R10
12	TAS2R13
12	TAS2R20
12	TAS2R30
12	TAS2R31
12	TAS2R42
12	TAS2R43
12	TAS2R46
12	TAS2R7
12	TMEM119
12	TMEM132B
12	TMEM132C
12	TMEM132D
12	TMPRSS12
12	TNFRSF1A
12	TSPAN8
12	VSIG10
13	ATP4B
13	ATP7B
13	FLT3
13	FREM2
13	KL
13	PCDH8
13	SGCG
13	SHISA2
13	SLC15A1
13	SLITRK6
13	TNFRSF19
14	ADAM21
14	BDKRB2

14	C14orf37
14	CLEC14A
14	DLK1
14	FLRT2
14	GPR135
14	GPR137C
14	JAG2
14	LTB4R2
14	MMP14
14	OR11G2
14	OR11H12
14	OR11H6
14	OR4K1
14	OR4K15
14	OR4K5
14	OR4L1
14	OR4N2
14	OR4N5
14	OR4Q2
14	SLC24A4
14	SYNDIG1L
15	ANPEP
15	CD276
15	CHRNA7
15	CHRNB4
15	CSPG4
15	DUOX1
15	DUOX2
15	FAM174B
15	GLDN
15	IGDCC4
15	ITGA11
15	LCTL
15	LTK
15	LYSMD4
15	MEGF11
15	NRG4
15	OCA2
15	OR4F4
15	OR4M2
15	OR4N4
15	PRTG
15	RHCG
15	SCAMP5
15	SEMA4B
15	SEMA6D
15	SLC24A1
15	SLC28A1
15	TRPM1
15	TYRO3
16	ATP2C2
16	CACNA1H
16	CD19
16	CDH11
16	CDH16
16	CDH3
16	CDH5
16	CNGB1

16	CNTNAP4
16	GDPD3
16	GPR56
16	GPR97
16	IL4R
16	ITFG3
16	ITGAL
16	ITGAM
16	ITGAX
16	KCNG4
16	MMP15
16	MSLNL
16	NOMO1
16	NOMO3
16	OR2C1
16	PKD1
16	PKD1L2
16	SCNN1B
16	SEZ6L2
16	SLC22A31
16	SLC5A11
16	SLC7A6
16	SPN
16	TMC5
16	TMC7
16	TMEM204
16	TMEM219
16	TMEM8A
17	ABCC3
17	ACE
17	AOC3
17	ASGR2
17	C17orf80
17	CD300A
17	CD300C
17	CD300E
17	CD300LG
17	CHRN1
17	CLEC10A
17	CNTNAP1
17	CPD
17	CXCL16
17	FAM171A2
17	GCCR
17	GLP2R
17	GP1BA
17	GPR142
17	GUCY2D
17	ITGA2B
17	ITGA3
17	ITGAE
17	ITGB3
17	KCNJ12
17	LRRC37A
17	LRRC37A2
17	LRRC37A3
17	LRRC37B
17	MRC2

17	NGFR
17	OR1A2
17	OR1D2
17	OR1G1
17	OR3A1
17	OR3A2
17	OR4D1
17	OR4D2
17	RNF43
17	SCN4A
17	SDK2
17	SECTM1
17	SEZ6
17	SLC26A11
17	SPACA3
17	TMEM102
17	TMEM132E
17	TNFSF12
17	TRPV3
17	TTYH2
17	TUSC5
18	APCDD1
18	CDH19
18	CDH20
18	CDH7
18	COLEC12
18	DCC
18	DSC1
18	DSG1
18	DSG3
18	DYNAP
18	MEP1B
18	PTPRM
18	SIGLEC15
18	TNFRSF11A
19	ABCA7
19	ACPT
19	BCAM
19	C19orf38
19	C19orf59
19	C5AR1
19	CATSPERD
19	CATSPERG
19	CD320
19	CD33
19	CD97
19	CEACAM1
19	CEACAM19
19	CEACAM21
19	CEACAM3
19	CEACAM4
19	CLEC4M
19	DLL3
19	EMR1
19	EMR2
19	EMR3
19	ERVV-1
19	ERVV-2

19	FAM187B
19	FCAR
19	FFAR3
19	FPR1
19	GFY
19	GP6
19	GPR42
19	GRIN3B
19	ICAM3
19	IGFLR1
19	IL12RB1
19	IL27RA
19	KIR2DL1
19	KIR2DL3
19	KIR2DL4
19	KIR3DL1
19	KIR3DL2
19	KIR3DL3
19	KIRREL2
19	KISS1R
19	LAIR1
19	LDLR
19	LILRA1
19	LILRA2
19	LILRA4
19	LILRA6
19	LILRB1
19	LILRB2
19	LILRB3
19	LILRB4
19	LILRB5
19	LINGO3
19	LPHN1
19	LRP3
19	MADCAM1
19	MAG
19	MEGF8
19	MUC16
19	NCR1
19	NOTCH3
19	NPHS1
19	OR10H1
19	OR10H2
19	OR10H3
19	OR10H4
19	OR111
19	OR2Z1
19	OR7A10
19	OR7C1
19	OR7D4
19	OR7E24
19	OR7G1
19	OR7G2
19	OR7G3
19	PLVAP
19	PTGIR
19	PTPRH
19	PTPRS

19	PVR
19	SCN1B
19	SHISA7
19	SIGLEC10
19	SIGLEC11
19	SIGLEC12
19	SIGLEC5
19	SIGLEC6
19	SIGLEC8
19	SIGLEC9
19	SLC44A2
19	SLC5A5
19	SLC7A9
19	TARM1
19	TGFBR3L
19	TMC4
19	TMEM91
19	TMPRSS9
19	TNFSF14
19	TNFSF9
19	TRPM4
19	VN1R2
19	VSIG10L
19	VSTM2B
20	ABHD12
20	ADAM33
20	ADRA1D
20	APMAP
20	ATRN
20	CD40
20	CD93
20	CDH22
20	CDH26
20	CDH4
20	FLRT3
20	GCNT7
20	GGT7
20	JAG1
20	LRRN4
20	NPBWR2
20	OCSTAMP
20	PTPRA
20	PTPRT
20	SEL1L2
20	SIGLEC1
20	SIRPA
20	SIRPB1
20	SIRPG
20	SLC24A3
20	SLC2A10
20	SSTR4
20	THBD
21	CLDN8
21	DSCAM
21	ICOSLG
21	IFNAR1
21	IFNGR2
21	IGSF5

21	ITGB2
21	KCNJ15
21	NCAM2
21	TMPRSS15
21	TMPRSS2
21	TMPRSS3
21	TRPM2
21	UMODL1
22	CACNA1I
22	CELSR1
22	COMT
22	CSF2RB
22	GGT1
22	GGT5
22	IL2RB
22	KREMEN1
22	MCHR1
22	OR11H1
22	P2RX6
22	PKDREJ
22	PLXNB2
22	SCARF2
22	SEZ6L
22	SSTR3
22	SUSD2
22	TMPRSS6
22	TNFRSF13C
X	ATP6AP2
X	ATP7A
X	EDA2R
X	FMR1NB
X	GLRA4
X	GPR112
X	GUCY2F
X	HEPH
X	P2RY10
X	P2RY4
X	PLXNA3
X	PLXNB3
X	VSIG4
X	XG

[0876] 표 9 - AF 및 LOH 필터 적용 후 유전자 598종

표 9

[0877]

염색체 번호	유전자
1	ABCA4
1	ADAM30
1	CACNA1S
1	CD101
1	CD164L2
1	CD1A
1	CLCA2
1	CLSTN1
1	CR1
1	CR2
1	CSMD2

1	ELTD1
1	EMC1
1	EPHA10
1	FCGR2A
1	FCGR2B
1	FCGR3A
1	FCRL3
1	FCRL4
1	FCRL5
1	GPR37L1
1	GPR88
1	IGSF3
1	IL22RA1
1	ITGA10
1	LDLRAD2
1	LEPR
1	LRP8
1	MR1
1	NFASC
1	NOTCH2
1	OR10J1
1	OR10R2
1	OR10T2
1	OR2G2
1	OR6K3
1	OR6N1
1	PIGR
1	PLXNA2
1	PTCHD2
1	SDC3
1	SELE
1	SELL
1	SELP
1	SEMAGC
1	TAS1R2
1	TLR5
1	TMEM81
1	TNFRSF1B
1	USH2A
2	DPP10
2	GPR35
2	ITGA4
2	ITGA6
2	LCT
2	LRP1B
2	LRP2
2	LY75
2	OR6B2
2	PLA2R1
2	SCN7A
2	THSD7B
3	ALCAM
3	ANO10
3	ATP13A4
3	CCRL2
3	CD200
3	CD200R1
3	CDCP1

3	CDHR4
3	CELSR3
3	CLDN18
3	CLSTN2
3	CSPG5
3	CX3CR1
3	DRD3
3	EPHB3
3	GABRR3
3	GPR128
3	GRM7
3	HEG1
3	HTR3C
3	HTR3D
3	IGSF11
3	IL17RC
3	IL17RD
3	IL5RA
3	IMPG2
3	ITGA9
3	LRIG1
3	LRRC15
3	MST1R
3	NAALADL2
3	OR5AC1
3	OR5H1
3	OR5H14
3	OR5H15
3	OR5H6
3	PLXND1
3	PRRT3
3	PTPRG
3	ROBO2
3	RYK
3	SEMA5B
3	SLC22A14
3	SLC4A7
3	SUSD5
3	TFRC
3	TMEM44
3	ZPLD1
4	CNGA1
4	CORIN
4	EGF
4	EMCN
4	ENPEP
4	EPHA5
4	EVC2
4	FAT1
4	FAT4
4	FRAS1
4	GYP A
4	GYP B
4	KDR
4	KIAA0922
4	KLB
4	PARM1
4	PDGFRA

4	TLR1
4	TLR10
4	TLR6
4	TMEM156
4	TMPRSS11A
4	TMPRSS11B
4	TMPRSS11E
5	ADAM19
5	ADRB2
5	CDH12
5	CDHR2
5	COL23A1
5	FAT2
5	FGFR4
5	GABRG2
5	GPR98
5	GRM6
5	HAVCR1
5	HAVCR2
5	IL6ST
5	LNPEP
5	MEGF10
5	PCDH12
5	PCDHA2
5	PCDHA4
5	PCDHA8
5	PCDHA9
5	PCDHB10
5	PCDHB11
5	PCDHB13
5	PCDHB15
5	PCDHB16
5	PCDHB3
5	PCDHB4
5	PCDHB6
5	SLCO6A1
5	SV2C
6	BAI3
6	BTN1A1
6	BTN3A2
6	BTNL2
6	ENPP1
6	ENPP3
6	GABRR1
6	GFRAL
6	GPR111
6	GPR116
6	GPR126
6	GPRCGA
6	HFE
6	HLA-A
6	HLA-B
6	HLA-C
6	HLA-DPA1
6	HLA-DQA1
6	HLA-DQB1
6	HLA-DQB2
6	HLA-DRB1

6	HLA-DRB5
6	HLA-E
6	HLA-F
6	HLA-G
6	ITPR3
6	LMBRD1
6	LRFN2
6	LRP11
6	MEP1A
6	MICA
6	MICB
6	MUC21
6	MUC22
6	NCR2
6	NOTCH4
6	OPRM1
6	OR10C1
6	OR12D2
6	OR14J1
6	OR2J1
6	OR5V1
6	PKHD1
6	PTCRA
6	RAET1E
6	RAET1G
6	ROS1
6	SDIM1
6	SLC44A4
6	TREM1
6	TREML2
7	AQP1
7	CDHR3
7	CNTNAP2
7	DPP6
7	EGFR
7	ERVW-1
7	GRM8
7	HYAL4
7	MUC12
7	MUC17
7	NPSR1
7	OR2A12
7	OR2A14
7	OR2A2
7	OR2A25
7	OR2F2
7	PKD1L1
7	PODXL
7	PTPRN2
7	PTPRZ1
7	TAS2R4
7	THSD7A
7	TMEM213
7	ZAN
7	ZP3
8	ADAM7
8	CHRNA2
8	CSMD1

8	CSMD3
8	NRG1
8	PRSS55
8	SLC39A14
8	TNFRSF10A
8	TNFRSF10B
9	ABCA1
9	AQP7
9	CNTNAP3
9	CNTNAP3B
9	GPR144
9	GRIN3A
9	KIAA1161
9	MUSK
9	OR13C2
9	OR13C5
9	OR13C8
9	OR13C9
9	OR13D1
9	OR13F1
9	OR1B1
9	OR1L6
9	OR1N1
9	OR1N2
9	OR1Q1
9	OR2S2
9	PCSK5
9	ROR2
9	SEMA4D
9	TMEM2
10	ADRB1
10	ANTXRL
10	ATRNL1
10	C10orf54
10	CDH23
10	COL17A1
10	IL15RA
10	MRC1
10	NRP1
10	OPN4
10	PCDH15
10	PKD2L1
10	PLXDC2
10	SLC29A3
10	SLC39A12
10	TACR2
10	VSTM4
11	AMICA1
11	C11orf24
11	CD248
11	CD44
11	CD5
11	CD6
11	CDON
11	DCHS1
11	DSCAML1
11	FAT3
11	FOLH1

11	GDPD4
11	GDPD5
11	HTR3B
11	IL10RA
11	LRP4
11	LRP5
11	MFRP
11	MPEG1
11	MRGPRE
11	MRGPRF
11	MRGPRX3
11	MRGPRX4
11	MS4A4A
11	MUC15
11	NAALAD2
11	OR10A2
11	OR10D3
11	OR10G4
11	OR10G7
11	OR10G9
11	OR10Q1
11	OR10S1
11	OR1S1
11	OR2AG1
11	OR2AG2
11	OR2D2
11	OR4A15
11	OR4A5
11	OR4C11
11	OR4C16
11	OR4C3
11	OR4C5
11	OR4D6
11	OR4X1
11	OR51L1
11	OR52A1
11	OR52E1
11	OR52E2
11	OR52E4
11	OR52E6
11	OR52J3
11	OR52L1
11	OR52N1
11	OR52N2
11	OR56B4
11	OR5A1
11	OR5A2
11	OR5AK2
11	OR5AR1
11	OR5B17
11	OR5B3
11	OR5D18
11	OR5M11
11	OR5R1
11	OR5T2
11	OR6A2
11	OR6X1
11	OR8A1

11	OR8B2
11	OR8B3
11	OR8B4
11	OR8D1
11	OR8D2
11	OR8H1
11	OR8H3
11	OR8J3
11	OR8K1
11	OR8U1
11	OR9G1
11	OR9G4
11	OR9Q2
11	PTPRJ
11	ROB03
11	SLC22A10
11	TMPRSS5
11	TSPAN18
11	ZP1
12	CD163
12	CD27
12	CLEC12A
12	CLEC2A
12	CLEC4C
12	ITGA7
12	KLRB1
12	KLRC2
12	KLRC4
12	KLRF2
12	LRP6
12	MANSC4
12	OLR1
12	OR10AD1
12	OR10P1
12	OR6C1
12	OR6C74
12	OR8S1
12	OR9K2
12	P2RX4
12	P2RX7
12	PTPRB
12	PTPRQ
12	SELPLG
12	SLC38A4
12	SLC5A8
12	SLC01B1
12	SLC01B7
12	STAB2
12	TAS2R13
12	TAS2R20
12	TAS2R30
12	TAS2R31
12	TAS2R42
12	TAS2R43
12	TAS2R46
12	TMEM119
12	TMEM132B
12	TMEM132C

12	TMPRSS12
13	ATP7B
13	FLT3
13	FREM2
13	KL
13	SGCG
13	SHISA2
13	SLC15A1
13	TNFRSF19
14	ADAM21
14	C14orf37
14	FLRT2
14	GPR135
14	GPR137C
14	JAG2
14	MMP14
14	SYNDIG1L
15	ANPEP
15	CD276
15	CSPG4
15	DUOX2
15	IGDCC4
15	ITGA11
15	LYSMD4
15	MEGF11
15	PRTG
15	SEMA4B
15	SEMA6D
15	SLC24A1
15	SLC28A1
15	TRPM1
15	TYRO3
16	ATP2C2
16	CACNA1H
16	CD19
16	CDH11
16	CDH3
16	CDH5
16	CNGB1
16	CNTNAP4
16	GPR56
16	IL4R
16	ITGAL
16	ITGAM
16	ITGAX
16	KCNG4
16	MMP15
16	NOMO1
16	OR2C1
16	PKD1
16	PKD1L2
16	TMC7
17	ACE
17	ASGR2
17	C17orf80
17	CD300A
17	CD300E
17	CD300LG

17	CHRN1
17	CXCL16
17	GP1BA
17	GUCY2D
17	ITGA2B
17	ITGA3
17	ITGAE
17	ITGB3
17	KCNJ12
17	LRRC37A
17	LRRC37A2
17	LRRC37A3
17	LRRC37B
17	MRC2
17	OR1A2
17	OR3A2
17	OR4D1
17	OR4D2
17	RNF43
17	SCN4A
17	SDK2
17	SEZ6
17	TMEM132E
17	TNFSF12
17	TTYH2
17	TUSC5
18	APCDD1
18	CDH19
18	CDH20
18	CDH7
18	COLEC12
18	DCC
18	DSC1
18	DSG1
18	DYNAP
18	MEP1B
18	TNFRSF11A
19	ABCA7
19	BCAM
19	CATSPERD
19	CATSPERG
19	CD33
19	CD97
19	CEACAM21
19	CLEC4M
19	DLL3
19	EMR1
19	EMR2
19	EMR3
19	ERVV-2
19	FAM187B
19	FFAR3
19	FPR1
19	GFY
19	GRIN3B
19	ICAM3
19	IL12RB1
19	IL27RA

19	KIR2DL3
19	KIR2DL4
19	KIR3DL1
19	KIR3DL2
19	KIR3DL3
19	LAIR1
19	LILRA2
19	LILRB3
19	LILRB4
19	LILRB5
19	MADCAM1
19	MUC16
19	OR10H1
19	OR10H2
19	OR10H3
19	OR7C1
19	OR7D4
19	OR7G1
19	PTPRH
19	SIGLEC10
19	SIGLEC11
19	SIGLEC12
19	SIGLEC5
19	SIGLEC6
19	SIGLEC8
19	SIGLEC9
19	SLC44A2
19	SLC7A9
19	TMPRSS9
19	VN1R2
19	VSIG10L
19	VSTM2B
20	JAG1
20	LRRN4
20	PTPRA
20	SEL1L2
20	SIGLEC1
20	SIRPA
20	SIRPB1
20	SIRPG
20	SLC24A3
21	CLDN8
21	DSCAM
21	ICOSLG
21	IFNAR1
21	IFNGR2
21	IGSF5
21	KCNJ15
21	NCAM2
21	TMPRSS15
21	TMPRSS2
21	TMPRSS3
21	UMODL1
22	CELSR1
22	COMT
22	CSF2RB
22	GGT1
22	GGT5

22	KREMEN1
22	MCHR1
22	P2RX6
22	PKDREJ
22	SCARF2
22	SEZ6L
22	TMPRSS6

[0878] 실시예 2에 대한 참조문헌:

[0879] 1. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, O'Donnell-Luria AH, Ware JS, Hill AJ, Cummings BB, Tukiainen T, Birnbaum DP, Kosmicki JA, Duncan LE, Estrada K, Zhao F, Zou J, Pierce-Hoffman E, Berghout J, Cooper DN, Deflaux N, DePristo M, Do R, Flannick J, Fromer M, Gauthier L, Goldstein J, Gupta N, Howrigan D, Kiezun A, Kurki MI, Moonshine AL, Natarajan P, Orozco L, Peloso GM, Poplin R, Rivas MA, Ruano-Rubio V, Rose SA, Ruderfer DM, Shakir K, Stenson PD, Stevens C, Thomas BP, Tiao G, Tusie-Luna MT, Weisburd B, Won HH, Yu D, Altshuler DM, Ardissino D, Boehnke M, Danesh J, Donnelly S, Elosua R, Florez JC, Gabriel SB, Getz G, Glatt SJ, Hultman CM, Kathiresan S, Laakso M, McCarroll S, McCarthy MI, McGovern D, McPherson R, Neale BM, Palotie A, Purcell SM, Saleheen D, Scharf JM, Sklar P, Sullivan PF, Tuomilehto J, Tsuang MT, Watkins HC, Wilson JG, Daly MJ, MacArthur DG, Exome Aggregation C. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature*. 2016;536:285-291

[0880] 2. Consortium GT. Human genomics. The genotype-tissue expression (gtex) pilot analysis: Multitissue gene regulation in humans. *Science*. 2015;348:648-660

[0881] 3.

[0882] 6. Ng PC, Henikoff S. Sift: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic acids research*. 2003;31:3812-3814

[0883] 7.

[0884] 8. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, Jacobsen A, Byrne CJ, Heuer ML, Larsson E, Antipin Y, Reva B, Goldberg AP, Sander C, Schultz N. The cbio cancer genomics portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer discovery*. 2012;2:401-404.

[0885] 실시예 3. KICH 샘플에서 HLA LOH를 검증하기 위한 DNA 서열 분석

[0886] 라이브러리 제조 및 서열분석

[0887] 목적- 인-실리코 분석에 기초하여, HLA LOH 예측을 습식 검증 (wet verification)하기 위한 첫번째 종양 유형으로 KICH 암을 선정하였다. 목표는 정상 조직 유래 DNA를 토대로 각 환자에 대한 HLA 유전자형을 식별한 다음, HLA 대립유전자들 중 하나의 소실을 식별하기 위한 시도로 암 조직에서 HLA 알로타입을 분석하고자 하였다.

[0888] 이를 위해, 냉동된 KICH 매칭 샘플 6개 (정상 및 암) RC-001-RC003, TNEABA11, TNEABNWE, 2rDFRAUB, 2RDFRNQG, IOWT5AVJ, IOWT5N74로부터 유래한 DNA에서 HLA 알로타입을 확인하였다. 또한, DNA 매칭된 샘플 2종, 즉 OG-001-OG-002 (정상 및 암)을 분석하였다. 샘플의 HLA 타입을 식별하기 위해 DNA 라이브러리를 제조하여 서열 분석을 수행하였다. 냉동된 KICH 매칭 샘플 6종 (정상 및 종양)으로부터 DNA를 추출하고, 후술한 바와 같이 라이브러리를 제작하였다.

[0889] Genotypic Technology Pvt. Ltd. (Bangalore, India) 사에서 TruSight® HLA v2 시퀀싱 패널 (Illumina, San Diego, California, U.S.A.)을 사용해 TruSight HLA 시퀀싱 라이브러리를 제작하였다.

[0890] 간략하게는, TruSight HLA 시퀀싱 키트에 구비된 프라이머를 사용해 HLA 증폭산물을 합성하였다. 증폭산물을 아가로스 겔에서 검증한 다음 키트에 제공된 샘플 정제 비드를 사용해 증폭산물을 세척하였다. 증폭산물을 표준화하고, 단편화 (Tagmentation) 반응에 의해 단편화하였다. 단편화 후 각각의 개별 샘플에 대한 여러가지 증폭산물들을 모아, 농축 PCR을 진행하였다. Nextera XT Index Kit v2 (Illumina)를 사용해 농축 PCR 중에 샘플에 바코드를 표지하였다. 최종 PCR 산물을 샘플 정제 비드를 사용해 정제한 후 라이브러리의 품질 관리를 체크하였다. 라이브러리를 Qubit 플루오로미터 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)에 의해 정량하고, 단편의

크기 분포를 Agilent Bioanalyzer에서 분석하였다.

[0891] Illumina 어댑터 서열:

[0892] 5' - AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC [i5] TCGTCGGCAGCGTC

[0893] 5' - CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT [i7] GTCTCGTGGGCTCGG

[0894] [i5, i7] - 샘플-특이적 시퀀싱 데이터를 식별하기 위한 고유한 이중 인덱스 서열

[0895] 아래 표는 상기한 샘플들의 HLA 유전자형을 나타낸다.

[0896] 후술한 바와 같이, 본 발명자들은 이러한 분석으로부터 소실된 대립유전자를 유추할 수 있었으며, 예를 들어, 환자 #RC001은 종양 샘플에서 HLA-A30 대립유전자가 소실되고 HLA-32는 반접합성이 되고; 환자 #RC003은 종양 샘플에서 HLA-1이 소실되고 HLA-30은 반접합성이 되었다. 식별된 소실 대립유전자는 각각의 환자에서 적절한 iCAR을 결정할 수 있게 해줄 것이다. 종양 샘플이 정상 세포로 오염된 경우에는 이 방법에서 명확한 HLA 대립유전자 소실을 나타낼 수 있다.

[0897] 표 10: 매칭되는 KICH 샘플들의 HLA 유전자형

표 10

샘플_ID	HLA-A	HLA-B	HLA-C
OG_001_NAT_NORMAL	02:06:01:--	7:02:01	03:04:01:--
	24:02:01:--	15:01:01:--	07:02:01:--
OG_001_TUM_TUMOR	02:06:01:--	7:02:01	03:04:01:--
	24:02:01:--	15:01:01:--	07:02:01:--
OG_002_NAT_NORMAL	02:01:01:--	15:01:01:--	3:03:01
	24:02:01:--	55:01:01	X
OG_002_TUM_TUMOR	02:01:01:--	15:01:01:--	3:03:01
	24:02:01:--	55:01:01	X
RC_002_NAT_A_NORMAL	03:01:01:--	7:02:01	06:02:01:--
	68:02:01:--	58:02:01	7:18:00
RC_002_TUM_A_TUMOR	03:01:01:--	7:02:01	06:02:01:--
	68:02:01:--	58:02:01	7:18:00
RC_003_NAT_A_NORMAL	01:01:01:01	7:02:01	07:01:01:--
	30:04:01	49:01:01	07:02:01:--
RC_003_TUM_A_TUMOR	30:04:01	7:02:01	07:01:01:--
	X	49:01:01	07:02:01:--
RC_001_NAT_B_NORMAL	30:04:01	53:01:01	04:01:01:--
	32:01:01	58:02:01	06:02:01:--
RC_001_TUM_B_TUMOR	32:01:01	53:01:01	04:01:01:--
	X	58:02:01	06:02:01:--
2RDFRAUB_ Tumor	03:01:01:--	7:02:01	07:02:01:--
	32:01:01	38:01:01	12:03:01:--

SO_7534_SET3_2RDFRNQG_ Normal	03:01:01:--	7:02:01	07:02:01:--
	32:01:01	38:01:01	12:03:01:--
IOWT5AVJ _Tumor	34:02:01	15:03:01:--	02:10:01:--
	68:01:01:--	81:01:00	8:04:01
IOWT5N74 _Normal	34:02:01	15:03:01:--	02:10:01:--
	68:01:01:--	81:01:00	8:04:01
TNEABIL_ Tumor	02:01:01:--	8:01:01	03:04:01:--
	03:01:01:--	40:01:02	07:01:01:--
TNEABNWE_ Normal	02:01:01:--	8:01:01	03:04:01:--
	03:01:01:--	40:01:02	07:01:01:--
x- 변이체 판독값 없음			

[0899] **진유전체 서열분석**

[0900] HLA 서열분석 외에도, 본 발명자들은 HLA-LOH를 검증하고 게놈 전체에서 추가적인 LOH 현상을 식별하기 위해 진 유전체 서열분석을 수행하였다.

[0901] Illumina 페어드 엔드 원 판독값 (paired end raw read) (150X2, HiSeq)은 FastQC를 사용해 정성적으로 검증하 였다. 최소 판독 길이 50 bp 및 최소 염기 품질 30 파라미터를 적용해, 어댑터 클리핑 (clipping) 및 저급 염기 트리밍 (trimming)을 위한 Trim Galore 소프트웨어로 Illumina 원 판독값을 처리하였다. 처리된 판독값은 Bowtie2를 사용하여 기준 인간 게놈 (hg19)과 정렬하였다. 그런 후, 각각의 샘플에 대한 정렬된 .bam 파일을 처 리하여, 최종 PCR 복제물이 제거된 .bam 파일을 획득하고, Qualimap을 사용하여 정렬 특성 (alignment quality)을 확인하였다.

[0902] SAMtool 및 BCFtool을 사용해 변이체를 식별하였다. 이 경우, 각각의 샘플 쌍 (각각의 정상 및 종양 쌍)에서 변 이체를 식별하기 위해 연합 유전자형 분석 (joint genotyping)을 수행하였다. 따라서, 각각의 쌍에 대해 병합된 .vcf가 생성되었다. 판독 심도 임계 값 > 20 및 매핑 특성 > 30을 적용해 이들 병합된 .vcf 파일 각각으로부터 잠재적인 변이체를 식별하였다. 필터링된 병합된 .vcf의 각각의 쌍으로부터, 샘플별 .vcf 파일을 생성하였다. 필터링된 변이체에 대해, Variant Studio를 사용하여 유전자, 단백질 변화 및 변이 영향에 대해 추가적으로 주 석을 표시하였다.

[0903] 아래 표는 상기 샘플들에 대한 염색체 소실 정도를 나타낸다. RC001, RC002 및 RC003은 HLA 유전자를 코딩하는 6번 염색체를 비롯한 광범위한 염색체 소실을 나타내며, 따라서 이들 샘플의 경우, 1, 2, 3, 4 (RC002의 경우), 5, 6, 8 (RC003의 경우), 9 (RC001, RC002), 10 (RC001, RC003), 11 (RC003), 13 (RC001, RC003), 14 (RC002), 17 (RC001, RC003), 19 (RC001), 21 (RC001, RC003), 22(RC001, RC002)번 염색체에 코딩된 여러가지 기타 표적 뿐 아니라, HLA를 iCAR 표적으로 이용할 수 있다.

[0904] 표 11: 염색체 소실

**표 11**

염색체	RC001	RC002	RC003	OG001	OG002	2RD	IOW	TNE
1	++	++	++					
2	++	+	++			+		
3	++	++				+		
4		++						
5	++	++						
6	++	+	++				+	
7								

8			++					
9	++	++					++	
10	++		++					
11			++					
12							+	
13	++		++					
14		+				+		
15						+		
16								
17	++		++					
18								
19	++							
20								
21	++		++					
22	++	++					++	
+ 세포의 약 50%에서 LOH (염색체 소실) ++ 세포의 거의 100%에서 LOH (염색체 소실)								

[0906] RC001의 경우, 도 14는 17번 염색체에 코딩된 종양 억제자 단백질 TP53에 인접한 염색체 영역의 소실을 나타내었다. iCAR 표적으로 식별된 17번 염색체에 코딩된 유전자를 이용해, 환자 RC001을 치료할 수 있다.

[0907] 약어: ADP, 아테노신 다이포스페이트; ALL, 급성 림프모구성 백혈병; AML, 급성 골수성 백혈병; APRIL, 증식-유도 리간드; BAFF, TNF 패밀리의 B 세포 활성화 인자; BCMA, B 세포 성숙 항원; BCR, B 세포 수용체; BM, 골수; CAIX, 탄산 탈수 효소 IX; CAR, 키메라 항원 수용체; CEA, 암태아성 항원; CLL, 만성 림프성 백혈병; CNS, 중추신경계; CSPG4, 콘드로이틴 설페이트 프로테오글리칸 4; DC, 수지상 세포; ECM, 세포의 매트릭스; EGFR, 표피 성장 인자 수용체; EGFRvIII, EGFR의 변이체 III; EphA2, 에리트르포이에틴-생산성 간세포 암종 A2; FAP, 섬유모세포 활성화 단백질; FR- $\alpha$ , 엽산 수용체- $\alpha$ ; GBM, 다형 교모세포종; GPI, 글리코포스파티딜이노시톨; H&N, 두경부; HL, 호지킨 림프종; Ig, 면역글로불린; L1-CAM, L1 세포 부착 분자; MM, 다발성 골수종; NB, 신경모세포종; NF-KB, 핵 인자-KB; NHL, 비호지킨 림프종; NK, 자연 살상; NKG2D-L, NKG2D 리간드; PBMC, 말초혈 단핵 세포; PC, 형질 세포; PLL, 전림프구성 백혈병; PSCA, 전립선 줄기 세포 항원; PSMA, 전립선-특이 막 항원; RCC, 신장 세포 암종; ROR1, 수용체 티로신 키나제-유사 오르판 수용체 1; TCL, T 세포 백혈병/림프종; Th2, T 헬퍼 2; TNBC, 삼중 음성 유방암; TNFR, 종양 괴사 인자 수용체; VEGFR-2, 혈관 내피 성장 인자-2.

[0908] **참조문헌:**

[0909] Abecasis, G.R., Altshuler, D., Auton, A., Brooks, L.D., Durbin, R.M., Gibbs, R.A., Hurles, M.E., and McVean, G.A. (2010). A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 467, 1061-1073.

[0910] Abeyweera, T.P., Merino, E., and Huse, M. (2011). Inhibitory signaling blocks activating receptor clustering and induces cytoskeletal retraction in natural killer cells. *J. Cell Biol.* 192, 675-690.

[0911] Auton, A., Abecasis, G.R., Altshuler, D.M., Durbin, R.M., Bentley, D.R., Chakravarti, A., Clark, A.G., Donnelly, P., Eichler, E.E., Flicek, P., et al. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature* 526, 68-74.

[0912] Barbas, Carlos F., Dennis R. Burton, Jamie K. Scott, G. J. S. 2004. *Phage display: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

[0913] Bausch-Fluck, D., Hofmann, A., Bock, T., Frei, A.P., Cerciello, F., Jacobs, A., Moest, H., Omasits, U., Gundry, R.L., Yoon, C., et al. (2015). A mass spectrometric-derived cell surface protein atlas. *PLoS One* 10.

[0914] Bayle, J.H., Grimley, J.S., Stankunas, K., Gestwicki, J.E., Wandless, T.J., and Crabtree, G.R. (2006). Rapamycin analogs with differential binding specificity permit orthogonal control of protein activity. *Chem. Biol.* 13, 99-107.

- [0915] Bergbold, N., and Lemberg, M.K. (2013). Emerging role of rhomboid family proteins in mammalian biology and disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1828, 2840-2848.
- [0916] Blankenstein, T., Leisegang, M., Uckert, W., and Schreiber, H. (2015). Targeting cancer-specific mutations by T cell receptor gene therapy. *Curr. Opin. Immunol.* 33, 112-119.
- [0917] Boczkowski, D., S. K. Nair, J. H. Nam, H. K. Lyerly, and E. Gilboa. 2000. Induction of tumor immunity and cytotoxic T lymphocyte responses using dendritic cells transfected with messenger RNA amplified from tumor cells. *Cancer Res* 60: 1028-34.
- [0918] Barrett, M.T., Sanchez, C.A., Prevo, Burrell, R.A., McGranahan, N., Bartek, J., and Swanton, C. (2013). The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature* 501, 338-345.
- [0919] Van Buuren, M.M., Calis, J.J.A., and Schumacher, T.N.M. (2014). High sensitivity of cancer exome-based CD8 T cell neo-antigen identification. *Oncoimmunology* 3.
- [0920] Caescu, C.I., Jeschke, G.R., and Turk, B.E. (2009). Active-site determinants of substrate recognition by the metalloproteinases TACE and ADAM10. *Biochem. J.* 424, 79-88.
- [0921] Carney, W.P., Petit, D., Hamer, P., Der, C.J., Finkel, T., Cooper, G.M., Lefebvre, M., Mobtaker, H., Delellis, R., and Tischler, A.S. (1986). Monoclonal antibody specific for an activated RAS protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83, 7485-7489.
- [0922] Cerami E, et al. The cBio cancer genomics portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer discovery.* 2012;2:401-404.
- [0923] Chao, G., W. L. Lau, B. J. Hackel, S. L. Sazinsky, S. M. Lippow, and K. D. Wittrup. 2006. Isolating and engineering human antibodies using yeast surface display. *Nat. Protoc.* 1.
- [0924] Chess, A. (2012). Mechanisms and consequences of widespread random monoallelic expression. *Nat. Rev. Genet.* 13, 421-428.
- [0925] Chicaybam, L., and Bonamino, M.H. (2014). Abstract 2797: Construction and validation of an activating and inhibitory chimeric antigen receptor (CAR) system. *Cancer Res.* 74, 2797-2797.
- [0926] Chicaybam, L., and Bonamino, M.H. (2015). Abstract 3156: Construction and validation of an activating and inhibitory chimeric antigen receptor (CAR) system. *Cancer Res.* 75, 3156-3156.
- [0927] Consortium GT. Human genomics. The genotype-tissue expression (gtex) pilot analysis: Multitissue gene regulation in humans. *Science.* 2015;348:648-660.
- [0928] Da Cunha, J.P.C., Galante, P.A.F., De Souza, J.E., De Souza, R.F., Carvalho, P.M., Ohara, D.T., Moura, R.P., Oba-Shinja, S.M., Marie, S.K.N., Silva Jr., W.A., et al. (2009). Bioinformatics construction of the human cell surfaceome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 16752-16757.
- [0929] Devilee, P., Cleton-Jansen, A.-M., and Cornelisse, C.J. (2001). Ever since Knudson. *Trends Genet.* 17, 569-573.
- [0930] Dotti, G., Gottschalk, S., Savoldo, B., and Brenner, M.K. (2014). Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells. *Immunol. Rev.* 257, 107-126.
- [0931] Ebsen, H., Schroder, A., Kabelitz, D., and Janssen, O. (2013). Differential surface expression of ADAM10 and ADAM17 on human T lymphocytes and tumor cells. *PLoS One* 8, e76853.
- [0932] Eriksson, M., Leitz, G., Fallman, E., Axner, O., Ryan, J.C., Nakamura, M.C., and Sentman, C.L. (1999). Inhibitory receptors alter natural killer cell interactions with target cells yet allow simultaneous killing of susceptible targets. *J. Exp. Med.* 190, 1005-1012.
- [0933] Fedorov, V.D., Themeli, M., and Sadelain, M. (2013a). PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses. *Sci. Transl. Med.* 5, 215ra172.
- [0934] Fedorov, V.D., Themeli, M., and Sadelain, M. (2013b). PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric

antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses. In *Science Translational Medicine*, (Affiliation: Center for Cell Engineering, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC), New York, NY 10065, United States; Affiliation: Tri-Institutional MSTP Program (MSKCC, Rockefeller University, Weill-Cornell Medical College), New York, NY 10065, Un),.

- [0935] Feenstra, M., Veltkamp, M., van Kuik, J., Wiertsema, S., Slootweg, P., van den Tweel, J., de Weger, R., and Tilanus, M. (1999). HLA class I expression and chromosomal deletions at 6p and 15q in head and neck squamous cell carcinomas. *Tissue Antigens* *54*, 235-245.
- [0936] Gao J. et al, Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBio Portal. *Sci Signal*. 2013 2:6(269)
- [0937] Gill, S., and June, C.H. (2015). Going viral: chimeric antigen receptor T-cell therapy for hematological malignancies. *Immunol. Rev.* *263*, 68-89.
- [0938] Gordon, W.R., Zimmerman, B., He, L., Miles, L.J., Huang, J., Tiyanont, K., McArthur, D.G., Aster, J.C., Perrimon, N., Loparo, J.J., et al. (2015). Mechanical Allostery: Evidence for a Force Requirement in the Proteolytic Activation of Notch. *Dev. Cell* *33*, 729-736.
- [0939] Graef, I.A., Holsinger, L.J., Diver, S., Schreiber, S.L., and Crabtree, G.R. (1997). Proximity and orientation underlie signaling by the non-receptor tyrosine kinase ZAP70. *EMBO J.* *16*, 5618-5628.
- [0940] Gross, G., and Eshhar, Z. (2016a). Therapeutic Potential of T-Cell Chimeric Antigen Receptors in Cancer Treatment: Counteracting Off-Tumor Toxicities for Safe CAR T-Cell Therapy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2016. 56:59-83.
- [0941] Gross, G., and Eshhar, Z. (2016b). Therapeutic Potential of T Cell Chimeric Antigen Receptors (CARs) in Cancer Treatment: Counteracting Off-Tumor Toxicities for Safe CAR T Cell Therapy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 56, 59-83.
- [0942] Gross, G., Waks, T., and Eshhar, Z. (1989). Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A* *86*, 10024-10028.
- [0943] Haapasalo, A., and Kovacs, D.M. (2011). The many substrates of presenilin/γ-secretase. *J. Alzheimers. Dis.* *25*, 3-28.
- [0944] Hanes, J., and A. Pluckthun. 1997. In vitro selection and evolution of functional proteins by using ribosome display. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *94*.
- [0945] Heemskerk, B., Kvistborg, P., and Schumacher, T.N.M. (2013). The cancer antigenome. *EMBO J.* *32*, 194-203.
- [0946] Hemming, M.L., Elias, J.E., Gygi, S.P., and Selkoe, D.J. (2009). Identification of beta-secretase (BACE1) substrates using quantitative proteomics. *PLoS One* *4*, e8477.
- [0947] Huse, M., Catherine Milanoski, S., and Abeyweera, T.P. (2013). Building tolerance by dismantling synapses: inhibitory receptor signaling in natural killer cells. *Immunol. Rev.* *251*, 143-153.
- [0948] Jimenez, P., Canton, J., Collado, A., Cabrera, T., Serrano, A., Real, L.M., Garcia, A., Ruiz-Cabello, F., and Garrido, F. (1999). Chromosome loss is the most frequent mechanism contributing to HLA haplotype loss in human tumors. *Int. J. Cancer* *83*, 91-97.
- [0949] Klebanoff, C.A., Rosenberg, S.A., and Restifo, N.P. (2016). Prospects for gene-engineered T cell immunotherapy for solid cancers. *Nat. Med.* *22*, 26-36.
- [0950] Kloss, C.C., Condomines, M., Cartellieri, M., Bachmann, M., and Sadelain, M. (2013). Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T cells. *Nat. Biotechnol.* *31*, 71-75.
- [0951] Knudson Jr., A.G. (1971). Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad.*

Sci. U. S. A. 68, 820-823.

- [0952] Lanitis, E., Poussin, M., Klattenhoff, A.W., Song, D., Sandaltzopoulos, R., June, C.H., and Powell Jr, D.J. (2013). Chimeric antigen receptor T cells with dissociated signaling domains exhibit focused anti-tumor activity with reduced potential for toxicity. *Cancer Immunol. Res.* 1, 10.1158/2326-6066.CIR - 13-0008.
- [0953] Lawrence, M.S., Stojanov, P., Polak, P., Kryukov, G. V, Cibulskis, K., Sivachenko, A., Carter, S.L., Stewart, C., Mermel, C.H., Roberts, S.A., et al. (2013). Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* 499, 214-218.
- [0954] Lee, A., Rana, B.K., Schiffer, H.H., Schork, N.J., Brann, M.R., Insel, P.A., and Weiner, D.M. (2003). Distribution analysis of nonsynonymous polymorphisms within the G-protein-coupled receptor gene family. *Genomics* 81, 245-248.
- [0955] Lek M, et al., Exome Aggregation C. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature*. 2016;536:285-291.
- [0956] Lengauer, C., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B. (1998). Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 396, 643-649.
- [0957] Li, H., Yang, B., Xing, K., Yuan, N., Wang, B., Chen, Z., He, W., and Zhou, J. (2014). A preliminary study of the relationship between breast cancer metastasis and loss of heterozygosity by using exome sequencing. *Sci. Rep.* 4.
- [0958] Liberles, S.D., Diver, S.T., Austin, D.J., and Schreiber, S.L. (1997). Inducible gene expression and protein translocation using nontoxic ligands identified by a mammalian three-hybrid screen. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 7825-7830.
- [0959] Lindblad-Toh, K., Tanenbaum, D.M., Daly, M.J., Winchester, E., Lui, W.-O., Villapakkam, A., Stanton, S.E., Larsson, C., Hudson, T.J., Johnson, B.E., et al. (2000). Loss-of-heterozygosity analysis of small-cell lung carcinomas using single-nucleotide polymorphism arrays. *Nat. Biotechnol.* 18, 1001-1005.
- [0960] Lo, K.C., Bailey, D., Burkhardt, T., Gardina, P., Turpaz, Y., and Cowell, J.K. (2008). Comprehensive analysis of loss of heterozygosity events in glioblastoma using the 100K SNP mapping arrays and comparison with copy number abnormalities defined by BAC array comparative genomic hybridization. *Genes Chromosom. Cancer* 47, 221-237.
- [0961] Long, E.O., Sik Kim, H., Liu, D., Peterson, M.E., and Rajagopalan, S. (2013). Controlling natural killer cell responses: Integration of signals for activation and inhibition. *Annu. Rev. Immunol.* 31, 227-258.
- [0962] Maleno, I., Lopez-Nevot, M.A., Cabrera, T., Salinero, J., and Garrido, F. (2002). Multiple mechanisms generate HLA class I altered phenotypes in laryngeal carcinomas: high frequency of HLA haplotype loss associated with loss of heterozygosity in chromosome region 6p21. *Cancer Immunol. Immunother.* 51, 389-396.
- [0963] Maleno, I., Cabrera, C.M., Cabrera, T., Paco, L., Lopez-Nevot, M.A., Collado, A., Ferron, A., and Garrido, F. (2004). Distribution of HLA class I altered phenotypes in colorectal carcinomas: high frequency of HLA haplotype loss associated with loss of heterozygosity in chromosome region 6p21. *Immunogenetics* 56, 244-253.
- [0964] Maleno, I., Romero, J.M., Cabrera, T., Paco, L., Aptsiauri, N., Cozar, J.M., Tallada, M., Lopez-Nevot, M.A., and Garrido, F. (2006). LOH at 6p21.3 region and HLA class I altered phenotypes in bladder carcinomas. *Immunogenetics* 58, 503-510.
- [0965] Maleno, I., Aptsiauri, N., Cabrera, T., Gallego, A., Paschen, A., Lopez-Nevot, M.A., and Garrido, F.

(2011). Frequent loss of heterozygosity in the  $\alpha_2$ -microglobulin region of chromosome 15 in primary human tumors. *Immunogenetics* 63, 65-71.

- [0966] McGranahan, N., Burrell, R.A., Endesfelder, D., Novelli, M.R., and Swanton, C. (2012). Cancer chromosomal instability: Therapeutic and diagnostic challenges. *EMBO Rep.* 13, 528-538.
- [0967] Morsut, L., Roybal, K.T., Xiong, X., Gordley, R.M., Coyle, S.M., Thomson, M., and Lim, W.A. (2016). Engineering Customized Cell Sensing and Response Behaviors Using Synthetic Notch Receptors. *Cell* 164, 780-791.
- [0968] Ng PC, Henikoff S. Sift: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic acids research.* 2003;31:3812-3814.
- [0969] Nirschl, C.J., and Drake, C.G. (2013). Molecular pathways: Coexpression of immune checkpoint molecules: Signaling pathways and implications for cancer immunotherapy. *Clin. Cancer Res.* 19, 4917-4924.
- [0970] O'Keefe, C., McDevitt, M.A., and Maciejewski, J.P. (2010). Copy neutral loss of heterozygosity: A novel chromosomal lesion in myeloid malignancies. *Blood* 115, 2731-2739.
- [0971] Ohgaki, H., Dessen, P., Jourde, B., Horstmann, S., Nishikawa, T., Di Patre, P.-L., Burkhard, C., Schuler, D., Probst-Hensch, N.M., Maiorka, P.C., et al. (2004). Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res.* 64, 6892-6899.
- [0972] Overwijk, W.W., Wang, E., Marincola, F.M., Rammensee, H.G., and Restifo, N.P. (2013). Mining the mutanome: developing highly personalized Immunotherapies based on mutational analysis of tumors. *J. Immunother. Cancer* 1, 11.
- [0973] Rana, B.K., Shiina, T., and Insel, P.A. (2001). Genetic variations and polymorphisms of G protein-coupled receptors: functional and therapeutic implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 41, 593-624.
- [0974] Rawson, R.B. (2013). The site-2 protease. *Biochim. Biophys. Acta* 1828, 2801-2807.
- [0975] Rosenberg, S.A. (2014). Finding suitable targets is the major obstacle to cancer gene therapy. *Cancer Gene Ther.* 21, 45-47.
- [0976] Rosenberg, S.A., and Restifo, N.P. (2015). Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science* 348, 62-68.
- [0977] Roybal, K.T., Rupp, L.J., Morsut, L., Walker, W.J., McNally, K.A., Park, J.S., and Lim, W.A. (2016a). Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. *Cell*.
- [0978] Roybal, K.T., Rupp, L.J., Morsut, L., Walker, W.J., McNally, K.A., Park, J.S., and Lim, W.A. (2016b). Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. *Cell* 164, 770-779.
- [0979] Sathirapongsasuti, J.F., Lee, H., Horst, B.A.J., Brunner, G., Cochran, A.J., Binder, S., Quackenbush, J., and Nelson, S.F. (2011). Exome sequencing-based copy-number variation and loss of heterozygosity detection: ExomeCNV. *Bioinformatics* 27, 2648-2654.
- [0980] Savage, P.A. (2014). Tumor antigenicity revealed. *Trends Immunol.* 35, 47-48.
- [0981] Savova, V., Chun, S., Sohail, M., McCole, R.B., Witwicki, R., Gai, L., Lenz, T.L., Wu, C.-T., Sunyaev, S.R., and Gimelbrant, A.A. (2016). Genes with monoallelic expression contribute disproportionately to genetic diversity in humans. *Nat. Genet.* 48, 231-237.
- [0982] Schumacher, T.N., and Schreiber, R.D. (2015). Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science* (80-. ). 348, 69-74.
- [0983] Sela-Culang, I., Y. Ofran, and B. Peters. 2015a. Antibody specific epitope prediction - Emergence of a

new paradigm. *Curr. Opin. Virol.* 11.

- [0984] Sela-Culang, I., S. Ashkenazi, B. Peters, and Y. Ofran. 2015b. PEASE: Predicting B-cell epitopes utilizing antibody sequence. *Bioinformatics* 31.
- [0985] Skora, A.D., Douglass, J., Hwang, M.S., Tam, A.J., Blosser, R.L., Gabelli, S.B., Cao, J., Diaz, L.A., Papadopoulos, N., Kinzler, K.W., et al. (2015). Generation of MANAbodies specific to HLA-restricted epitopes encoded by somatically mutated genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 9967-9972.
- [0986] Stark, M., and Hayward, N. (2007). Genome-wide loss of heterozygosity and copy number analysis in melanoma using high-density single-nucleotide polymorphism arrays. *Cancer Res.* 67, 2632-2642.
- [0987] Stark, S.E., and Caton, A.J. (1991). Antibodies that are specific for a single amino acid interchange in a protein epitope use structurally distinct variable regions. *J. Exp. Med.* 174, 613- 624.
- [0988] Teo, S.M., Pawitan, Y., Ku, C.S., Chia, K.S., and Salim, A. (2012). Statistical challenges associated with detecting copy number variations with next-generation sequencing. *Bioinformatics* 28, 2711-2718.
- [0989] Thul PJ, et al. A subcellular map of the human proteome. *Science.* 2017;356.
- [0990] Treanor, B., Lanigan, P.M.P., Kumar, S., Dunsby, C., Munro, I., Auksorius, E., Culley, F.J., Purbhoo, M.A., Phillips, D., Neil, M.A.A., et al. (2006). Microclusters of inhibitory killer immunoglobulin-like receptor signaling at natural killer cell immunological synapses. *J. Cell Biol.* 174, 153-161.
- [0991] Uhlen M, et al. Tissue-based map of the human proteome. *Science.* 2015;347:1260419.
- [0992] Vogelstein, B., Fearon, E.R., Kern, S.E., Hamilton, S.R., Preisinger, A.C., Nakamura, Y., and White, R. (1989). Allelotype of colorectal carcinomas. *Science* (80- ). 244, 207-211.
- [0993] Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V.E., Zhou, S., Diaz Jr., L.A., and Kinzler, K.W. (2013). Cancer genome landscapes. *Science* (80- ). 340, 1546-1558.
- [0994] Voss, M., Schroder, B., and Fluhrer, R. (2013). Mechanism, specificity, and physiology of signal peptide peptidase (SPP) and SPP-like proteases. *Biochim. Biophys. Acta* 1828, 2828-2839.
- [0995] Vyas, Y.M., Mehta, K.M., Morgan, M., Maniar, H., Butros, L., Jung, S., Burkhardt, J.K., and Dupont, B. (2001). Spatial organization of signal transduction molecules in the NK cell immune synapses during MHC class I-regulated noncytolytic and cytolytic interactions. *J. Immunol.* 167, 4358-4367.
- [0996] Wang, Z.C., Lin, M., Wei, L.-J., Li, C., Miron, A., Lodeiro, G., Harris, L., Ramaswamy, S., Tanenbaum, D.M., Meyerson, M., et al. (2004). Loss of heterozygosity and its correlation with expression profiles in subclasses of invasive breast cancers. *Cancer Res.* 64, 64-71.
- [0997] Wilkie, S., Van Schalkwyk, M.C.I., Hobbs, S., Davies, D.M., Van, D.S., Pereira, A.C.P., Burbridge, S.E., Box, C., Eccles, S.A., and Maher, J. (2012). Dual targeting of ErbB2 and MUC in breast cancer using chimeric antigen receptors engineered to provide complementary signaling. *J. Clin. Immunol.* 32, 1059-1070.
- [0998] Wu, C.-Y., Roybal, K.T., Puchner, E.M., Onuffer, J., and Lim, W.A. (2015). Remote control of therapeutic T cells through a small molecule-gated chimeric receptor. *Science* (80- ). 350, aab4077.
- [0999] Yeung, J.T., Hamilton, R.L., Ohnishi, K., Ikeura, M., Potter, D.M., Nikiforova, M.N., Ferrone, S., Jakacki, R.I., Pollack, I.F., and Okada, H. (2013). LOH in the HLA class I region at 6p21 is associated with shorter survival in newly diagnosed adult glioblastoma. *Clin. Cancer Res.* 19, 1816-1826.
- [1000] **실시예 4. 단백질 수준에서 LOH 검증**
- [1001] 대립유전자 특이적인 항체를 이용한 정상 세포 대 종양 세포 샘플의 차별적 염색을 통해 단백질 수준에서 LOH를 검출할 수 있다. 예를 들어, 암 샘플에서 HLA-LOH의 검증은 환자의 HLA 알로타입에 특이적인 시판 HLA 항체를 사용하여 수행할 수 있다. 아래 표 11은 이용할 수 있는 시판 대립유전자-특이 항체에 대한 예를 상세히 기술한

다.

[1002] 샘플에 대해 아래 IHC 프로토콜에 기술된 바와 같이 면역 조직 화학 (IHC) 염색을 수행한다.

[1003] 표 12: 대립유전자-특이적인 항-HLA 항체

**표 12**

항체	제조사
항-인간 HLA-A2 APC (BB7.2)	eBiosciences
항-인간 HLA-A2 PE-cy7 (BB7.2)	eBiosciences
항-인간 HLA-A3 FITC (GAP A3)	eBiosciences
항-인간 HLA-A3 PE (GAP A3)	eBiosciences
마우스 항-HLA 클래스 1 항원 A25, A32 항체	US Biological
HLA 클래스 1 항원 A30, A31	MyBioSource
마우스 항-인간 HLA-B7-PE (BB7.1)	Millipore
HLA-A2 항체 (BB7.2)	Novus
HLA B7 항체 (BB7.1)	Novus
마우스 항-인간 HLA-B27-FITC (클론 HLA.ABC.m3)	Millipore

[1005] **IHC 프로토콜**

[1006] 냉동 조직 샘플 -

[1007] 냉동 조직은 흔히 포르말린계 용액에서 고정하고, 시료를 냉동절단할 수 있는 OCT (최적 절단 온도 컴파운드 (Optimal Cutting Temperature compound))에서 포매한다. OCT 중의 조직은 -80℃에서 냉동 상태로 유지한다. 냉동 블록은 단편화하기 전 -80℃에서 꺼내, 저온 챔버에서 평형화한 다음 얇은 절편 (종종 5-15 μm 두께)으로 자른다. 절편을 조직 슬라이드 위에 배치한다. 슬라이드는 -20℃ 내지 -80℃에서 보관할 수 있다. IHC 염색 전에 슬라이드를 실온 (RT)에서 10-20분간 해동한다.

[1008] 파라핀-포매된 조직 -

[1009] 조직을 포르말데히드 고정 용액에서 포매한다. 파라핀 왁스를 첨가하기 전에, RT에서 지정된 횟수와 시간 동안 에탄올의 농도를 증가시키면서 (70%, 90%, 100%) 자일렌과 함께 사용해 점진적으로 침지시켜, 조직을 탈수 처리한다. 그런 후, 조직을 파라핀 왁스에 포매한다.

[1010] 파라핀-포매된 조직을 마이크로톰에서 5-15 μm 두께의 절편으로 자르고, 56℃ 수조에 부유시킨 후 조직 슬라이드 위에 배치한다. 슬라이드는 RT에서 유지할 수 있다.

[1011] IHC 염색하기 전에, 파라핀-포매된 절편은 재수화 단계를 거쳐야 한다. 재수화 - 자일렌에 침지 (2 X 10분)하고 에탄올을 농도를 감소시키면서 첨가하여 절편을 재수화 처리한다 (에탄올 100% X2, 각각 10분씩, 95% 에탄올 - 5분간 70% 에탄올 - 5분간 50% 에탄올 - 5분간 dH2O에서 헹굼).

[1012] **면역 형광 검출:**

[1013] 프로토콜:

[1014] 1. 세척 완충액 (PBS X1)에서 10분 동안 슬라이드를 재수화 처리한다. 세척 완충액을 제거한다.

[1015] 2. 필요한 경우 항원 복구를 수행한다 (열-유도된 항원 복구 또는 효소 복구).

[1016] 3. 세포내 항원의 경우, 투과화를 수행한다 (슬라이드를 PBSX1 중 0.1% 트리톤 X-100에서 RT에서 10분간 인큐베이션한다).

[1017] 4. 차단 - RT에서 30분 동안 차단 완충액에서 조직을 차단 처리한다. 차단 완충액은 검출 방법에 따라 결정되며, 일반적으로 PBSX1 중의 5% 동물 혈청 또는 PBSX1 중의 1% BSA이다.

[1018] 5. 1차 항체 - 항체 제조사의 지침에 따라, 인큐베이션 완충액 (예, PBS 중 1% 당나귀 혈청, 1% BSA, 다른 배양 완충액도 사용가능함)에 1차 항체를 희석한다. 조직을 1차 항체 희석물에서 4℃에서 밤새 인큐베이션한다. 1차 항체는 전술한 단일클론 항-HLA-A, 항-HLA-B 또는 항-HLA-C 대립유전자-특이 항체일 수 있다.

- [1019] · 1차 접합 항체를 사용할 경우, 광차단 처리하고, 단계 8을 진행한다.
- [1020] · 음성 대조군으로서, 조직을 1차 항체 없이 인큐베이션 완충액과 인큐베이션한다.
- [1021] · 또한, 실험에 사용된 단일클론 항체의 이소타입 매칭되는 대조군에 대해서도 수행한다.
- [1022] 6. 세척 - 세척 완충액에서 슬라이드를 세척한다 (3 X 5-15분).
- [1023] 7. 2차 항체 - 항체 제조사의 지침에 따라, 2차 항체를 인큐베이션 완충액으로 희석한다. 조직을 2차 항체 희석물에서 RT에서 30-60분간 인큐베이션한다. 광차단 처리한다.
- [1024] 8. 세척 - 세척 완충액에서 슬라이드를 세척한다 (3 X 5-15분).
- [1025] 9. DAPI 염색 - DAPI를 인큐베이션 완충액으로 희석한다 (약 300 nM - 3 μM). 각각의 절편에 DAPI 용액 300 μl를 첨가한다. RT에서 5-10분간 인큐베이션한다.
- [1026] 10. 세척 - 슬라이드를 X1 PBS로 1회 세척한다.
- [1027] 11. 안티페이드 탑재 매질 (antifade mounting media)을 탑재한다.
- [1028] 12. 슬라이드를 광차단 처리한다.
- [1029] 13. 형광 현미경으로 슬라이드를 가시적으로 검경한다.
- [1030] **발색 검출:**
- [1031] 프로토콜:
- [1032] 1. 슬라이드를 세척 완충액 (PBSX1)에서 10분간 재수화 처리한다. 세척 완충액을 제거한다.
- [1033] 2. 필요한 경우, 항원 복구를 수행한다 (상기 참조).
- [1034] 3. HRP 시약의 경우, 메탄올 중의 3.0% 과산화수소 용액으로 적어도 15분간 내인성 퍼옥시다제 활성을 차단한다.
- [1035] 4. 절편을 dH<sub>2</sub>O에 5분간 침지하여 세척한다.
- [1036] 5. 세포내 항원의 경우, 투과화를 수행한다 - 슬라이드를 PBSX1 중의 0.1% 트리톤 X-100에서 RT에서 10분간 인큐베이션한다.
- [1037] 6. 차단 - 조직을 RT에서 30분간 차단 완충액에서 차단 처리한다. 차단 완충액은 검출 방법에 따라 결정되며, 일반적으로 PBSX1 중의 5% 동물 혈청 또는 PBSX1 중의 1% BSA이다.
- [1038] 7. 1차 항체 - 항체 제조사의 지침에 따라, 1차 항체를 인큐베이션 완충액 (예, PBS 중의 1% 당나귀 혈청, 1% BSA, 다른 배양 완충액도 사용가능함)에 희석한다. 조직을 1차 항체 희석물을 4°C에서 밤새 인큐베이션한다.
- [1039] 8. 세척 - 슬라이드를 세척 완충액에서 세척한다 (3 X 5-15분).
- [1040] 9. 2차 항체 - 조직을 HRP-접합된 2차 항체에서 RT에서 30-60분간 인큐베이션한다.
- [1041] 10. 세척 - 조직을 세척 완충액에서 5-15분간 3회 세척한다.
- [1042] 11. 제조사의 지침에 따라 ABC-HRP 시약을 첨가한다. RT에서 60분간 인큐베이션한다.
- [1043] 12. 제조사의 지침에 따라 DAB 용액 (또는 다른 발색원)을 준비하고, 이를 조직 절편에 적용한다. 발색 반응으로 에피토프 부위가 갈색으로 바뀐다 (일반적으로 수초 내지 10분). 신호 강도가 이미지 촬영하기에 적절할 경우 다음 단계를 진행한다.
- [1044] 13. 세척 - 슬라이드를 세척 완충액에서 세척한다 (3 X 5-15분).
- [1045] 14. 슬라이드를 dH<sub>2</sub>O에서 세척한다 (2 X 5-15분).
- [1046] 15. 핵 염색 - 헤마톡실린 용액을 첨가한다. RT에서 5분간 인큐베이션한다.
- [1047] 16. 조직 절편을 탈수 처리한다 (95% 에탄올 - 2 X 2분. 100% 에탄올 - 2 X 2분. 자일렌 - 2 X 2분).
- [1048] 17. 안티페이드 탑재 매질을 탑재한다.

- [1049] 18. 명시야 조명 (bright-field illumination)을 사용해 슬라이드를 가지적으로 검경한다.
- [1050] **실시예 5. CAR-T 설계 및 구축**
- [1051] 본 실험의 목적은 CAR-T 요법의 온-표적 '오프-종양' 효과를 저해하는 합성 수용체를 구축하는 것이다. 이를 위해 활성화 및 저해성 CAR로 구성된 CAR 구조체 라이브러리를 확립하였다.
- [1052] 구조체의 제1 세트는 HLA I형 서열 (HLA-A2)을 겨냥하는 저해성 CAR 및 종양 항원 (CD19)을 겨냥하는 활성화 CAR을 포함한다. 개념 증명을 위해 사용될 다음 구조체 세트는 CD19, EGFR 또는 HER2를 겨냥하는 활성화 CAR 서열과 CD20을 겨냥하는 저해성 CAR 서열을 포함한다. 향후 생물정보학 분석에 의해 식별되는 표적 항원을 겨냥하는 부가적인 구조체들도 구축한다. 표적 후보는 제시된 기준에 따라 우선 순위가 결정된다 (예시적인 기준은 비-제한적으로 표적 발현 패턴, 표적 발현 수준, 항원성 등을 포함함).
- [1053] iCAR 구조체를 설계하고, 시판 DNA 합성으로 합성하였다. 막관통 및 세포내 도메인에서부터 PD-1 (아미노산 145-288)의 제1 주석이 표시된 세포의 도메인까지 HLA-A2 scFv 하류에 융합하였다 (HLA-A2를 코딩하는 DNA 서열은 항-HLA-A2를 생산하는 하이브리도마 BB7.2 (ATCC cat #: HB-82)로부터 회수).
- [1054] CTLA4 (아미노산 161-223) 또는 추가적인 음성 면역 조절인자 (예, 2B4, LAG-3 및 BTLA-4)로부터 유래되는 다른 서열을 가진 구조체들을 설계하고, 이의 신호전달 서열을 HLA-A2 scFv의 하류에 융합하였다.
- [1055] iCAR 검출 및 분류를 위해, 도 15에 예시한 바와 같이, 리포터 유전자 (예, eGFP)를 IRES 서열을 경유하여 iCAR 서열의 하류에 삽입한 다음 병합한 후, P2A 서열에 의해 이격된 항생제 내성 유전자 (즉, 하이그로마이신)를 삽입하였다.
- [1056] aCAR 구조체의 경우, CD19 scFv, EGFR scFv 또는 HER2 scFv를 CD8 힌지 서열로 구성된 2세대 CAR 구조체에 융합한 후, CD28 막관통 및 41BB 공동-자극성 1 및 CD3 $\zeta$ 를 삽입하였다. 다른 신호전달 또는 구조 인자로 구성된 추가적인 aCAR 구조체 역시 설계 및 구축될 수 있을 것이다 (예, CD28 힌지, CD28 신호전달 도메인 또는 CD28 및 41BB 신호전달 도메인 둘다). aCAR 검출 및 분류를 위해, RFP 리포터 유전자를 IRES 서열을 경유하여 aCAR 서열의 하류에 삽입한 후, P2A 서열에 이격된 항생제 내성 유전자 (즉, 퓨로마이신 내성)를 삽입하였다 (도 15).
- [1057] aCAR 및 iCAR 서열 둘다 렌티바이러스 수송 벡터에 클로닝한 다음 HEK-293T 패키징 세포를 이용한 바이러스 입자 제조에 이용하였다.
- [1058] 각각의 형질도입된 T 세포의 표면 상에 iCAR 단백질의 발현을 보장하기 위해, iCAR 및 aCAR 둘다를 코딩하는 바이-시스템 구조체를 만들었다. 바람직하게는, iCAR 서열은 IRES 서열의 상류에 코딩된다. IRES의 상류 또는 하류에 iCAR 및 aCAR을 클로닝하고, RT qPCR 및 FACS에 의해 발현 수준을 측정함으로써, 발현 수준 차이를 검사하였다. 또한, 바이-시스템 발현을 수행할 수 있는 2A 서열을 검사하고, 이들 서열의 상류 및 하류 유전자의 발현 수준을 측정하였다. 바이러스 벡터를 사용해 전술한 바와 같이 바이러스 입자를 생성하였다.
- [1059] aCAR 및 iCAR 서열을 RNA 전기천공에 의해 PBMC에 도입할 수 있다. 이를 위해, iCAR 및 aCAR 서열 둘다를 mRNA 시험관내 전사가 가능한 pGEM-4Z 벡터에 서브클로닝하였다. CD19 aCAR 및 HLA-A2 iCAR mRNA를 PBMC에 추가적으로 전기천공으로 도입하였다. EGFR aCAR 및 HLA-A2 iCAR mRNA를 PBMC에 추가적으로 전기천공으로 도입하였다. HER2 aCAR 및 HLA-A2 iCAR mRNA를 PBMC에 추가적으로 전기천공으로 도입하였다.
- [1060] iCAR 및 aCAR 둘다를 코딩하는 바이시스템 전사체를 제조하기 위해, 부가적인 구조체를 설계 및 합성하였으며, DNA 서열을 시험관내 전사를 수행할 수 있는 클로닝 벡터에 클로닝하였다. 2개의 CAR 서열은 IRES (벡터 ID PL93) 또는 P2A (벡터 ID PL96)에 의해 떨어져 있다. 아울러, 저해성 신호 도메인이 없는 대조군 iCAR 서열도 준비하였다 (벡터 ID PL65, PL94). CAR을 추가적으로 최적화하기 위해, 다음과 같은 인자들로 구성된 부가적인 구조체도 도 50a 및 도 50b에 따라 설계하였다: 신호 펩타이드, scFv, 힌지, 막관통 도메인 및 세포내 신호전달 도메인.
- [1061] 서열들 모두 pGEM-4Z에 클로닝하고, PBMC에 전기천공한 후 전사되는 mRNA를 비교하고, 표적 및 오프-종양 세포와 공동-배양하여 분석하였다.
- [1062] 전술한 여러가지 iCAR 구조체 외에도, CD28 및 CD3 zeta 신호전달 도메인을 가진 CD19 aCAR도 합성하였으며, 이를 pGEM-4z에 서브클로닝하였다 (벡터 ID PL95).
- [1063] 전술한 여러가지 iCAR 구조체 외에도, CD28 및 CD3 zeta 신호전달 도메인을 가진 EGFR aCAR도 합성하였으며, 이

를 pGEM-4z에 서브클로닝하였다.

- [1064] 전술한 여러가지 iCAR 구조체 외에도, CD28 및 CD3 zeta 신호전달 도메인을 가진 HER2 aCAR도 합성하였으며, 이를 pGEM-4z에 서브클로닝하였다.
- [1065] 제조된 다양한 iCAR 및 aCAR 서열들은 하기에 포함된다:
- [1066] 서열번호 11
- [1067] CD8 SP- 1-63
- [1068] Myc tag - 64-93
- [1069] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1070] CTLA4 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829-1074
- [1071] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTCCAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGCTGGAGATCAAGGGCATCGGCAACGGCACCCAAATCTACGTGATCGACCCAGAGCCTGGCCCTGACAGGATTTCTGCTGTGGATTCTGGCCGCGTGAGCAGCGGCTGTCTTTTATTCCTTTCTGCTGACCGCGTGTCTCTGAGCAAGATGCTGAAGAAGCGGTCTCCTCTGACCACAGGCGTGGCGTGAAGATGCC CCTACAGAGCCGAGTGTGAGAAGCAGTTCAGCCATACTTTATCCCCATCAATTGA
- [1072] 서열번호 12
- [1073] CD8 SP- 1-63
- [1074] Myc tag - 64-93
- [1075] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1076] LAG-3 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829-1,143
- [1077] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTCCAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAGCTGGAGATCAAGGTGGGCGCGGTGTACTTACCAGGCTGAGCAGCCTGGCGCCAGCGGTCCGGCAGGGCCCCAGGCGCCTGCCTGCCGGCCACCTGCTGCTGTTTCTGATCCTGGGCGTGTCTCTGCTGCTGCTGGTACAGGCGCCTTCGGCTTTCACCTGTGGCGGAGACAGTGGCGGCCAGGCGCTTCTCTGCCCTGGAGCAGGGCATCCACCCACCTCAGGCACAGAGCAAGATCGAGGAGCTGGAGCAGGAGCCAGAGCCTGAACCTGAGCCAGAGCCTGAACCCGAGCCAGAGCCTGAGCAGCTGTGA
- [1078] 서열번호 13
- [1079] CD8 SP- 1-63
- [1080] Myc tag - 64-93
- [1081] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1082] 2B4 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829- 1,269

[1083] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAAGAGCAGCAGCACCGCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGTGAGCCTGGGGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGCACAAAG  
CTGGAGATCAAGGAGTCCGGTTTTGGCCCTTCCTGGTCATCATCGTGTATCCTGTCTGCCCTGTTCTGGGCACCCTGGCCTGCTTTTGGCTGTGGCGGAGA  
AAGCGGAAGGAGAAGCAGAGCGAGACCTCCCCAAGGAGTCTGACATCTACGAGGACGTGAAGGATCTGAAGACAAGGGCAACCACGAGCAGGAGCAG  
ACCTTCTGGCGGGCTCTACAATCTATAGCATGATCCAGTCCAGAGCAGCGCCCCACCAGCCAGGAGCCTGCCTACACACTGTATTCTCTGATCCAG  
CCTAGCAGAAAGTCTGGCAGCCGAAGAAACCACTCCCCATCTTTCAATTCCACCATCTACGAAGTATCGGAAGTCTCAGCCAAAGGCACAGACCCA  
GCAAGGCTGAGCCGCAAGGAGCTGGAGAATTTGACGTGTATTCCTGA

[1084] 서열번호 14

[1085] CD8 SP- 1-63

[1086] Myc tag - 64-93

[1087] HLA-A2 scFV- 94-828

[1088] BTLA (힌지+TM+세포내 도메인) - 829- 1,293

[1089] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAAGAGCAGCAGCACCGCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGTGAGCCTGGGGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGCACAAAG  
CTGGAGATCAAGGATGTGAAGAGCGCCTCCGAGAGACCTTCAAGGACGAGATGGCCAGCCGGCCATGGCTGTGTACAGACTGTGCCACTGGGAGGACTG  
CCTCTGTGATCACCACATGCTTCTGTCTGTTTGTGTCTGCGGAGACACCAGGGCAAGCAGAACGAGTGTCCGATACCCGGCAGGGAGATCAATCTG  
GTGGACGCCACCTGAAGTCTGAGCAGACCGAGCCAGCACACGCCAGAACTCCAGGTGCTGTGTCTGAGACAGGCATCTACGACAATGATCCCGACCTG  
TGCTTCCGGATGCAGGAGGGCTCTGAGGTGTACAGCAACCCATGTCTGGAGGAGAATAAGCCCGGCATCGTGTATGCCTCCCTGAACCACTCTGTGATCGGA  
CCCAACTCCAGGCTGGCCAGGAATGTGAAGGAGGCCCTACCGAGTATGCCAGCATCTGCGTGGGTCTCTGA

[1090] 서열번호 15

[1091] CD8 SP- 1-63

[1092] Myc tag - 64-93

[1093] HLA-A2 scFV- 94-828

[1094] KIR2DL2 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829- 1,185

[1095] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAAGAGCAGCAGCACCGCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGTGAGCCTGGGGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGCACAAAG  
CTGGAGATCAAGTCTCAACCGAGCCAGCTCAAGACAGGCAACCAAGGCACCTGCACATCCTGATCGGCACCAGCGTGGTATCATCTCTGTTTCATCTGT  
CTGTTCTTTCTGCTGCACCGCTGGTGCAGCAACAAGAAGATGCCCGCGTGTGGACCAGGAGTCCGCCGCAACAGGACAGCCAATTCGAGGACTCTGAT

GAGCAGGACCCCCAGGAGGTGACCTACACACAGCTGAACCACTGCGTGTTTACCCAGCGGAAGATCACAAGACCTTCCCAGAGGCCAAAGACCCCCCTACA  
GACATCATCGTGTATGCCGAGCTGCCAATGCCGAGTCTCGGAGCAAGGTGGTGTCTGTCTTGA

- [1096] 서열번호 16
- [1097] CD8 SP- 1-63
- [1098] Myc tag - 64-93
- [1099] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1100] KIR2DL3 (힌지+TM+세포내 도메인) - 829- 1,164
- [1101] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTCCAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCACAAG  
CTGGAGATCAAGTCTCCAACCGAGCCAGCTCCGAGACAGGCAACCTAGGCACCTGCACGTGCTGATGGCACCAGCGTGGTTCATCATCTGTTCATCTGT  
CTGCTGTTCTTTCTGCTGCACCGGTGGTGTGTAACAAGAAGAATGCAGTGGTTCATGGACCAGGACCCAGCCGCAACAGGACCGTGAATAGAGAGGACTCC  
GATGAGCAGGACCCCCAGGAGGTGACATACGCCAGCTGAACCACTGCGTGTTTACCCAGAGGAAGATCACACGCCCTTCTCAGCGGCCAAAGACCCCCCT  
ACAGACATCATCGTGTATACAGAGCTGCCAATGCCGAGCCTTGA
- [1102] 서열번호 17
- [1103] CD8 SP- 1-63
- [1104] Myc tag- 64-93
- [1105] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1106] PD1 힌지- 829-906
- [1107] PD1 TM- 907-969
- [1108] KIR2DL2 (신호전달 도메인)- 970-1221
- [1109] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTCCAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCACAAG  
CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGT  
GGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCACCGTGGTGTCCAACAAGAAGAATGCCCGGTGATGGACCAGGAGTCT  
GCCGGCAACAGGACCCCAATTCTGAGGACAGCGATGAGCAGGACCCCCAGGAGGTGACCTACACACAGCTGAACCACTGCGTGTTCACCCAGCGGAAGATC  
ACAAGACCAAGCCAGAGGCCAAGACCCCCCTACAGACATCATCGTGTATGCCGAGCTGCCTAATGCCGAGAGCAGGTCCAAGGTGGTGTCTGTCCATGA
- [1110] 서열번호 18
- [1111] CD8 SP- 1-63
- [1112] Myc tag- 64-93
- [1113] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1114] PD1 힌지- 829-906

- [1115] PD1 TM- 907-969
- [1116] BTLA (신호전달 도메인)- 970-1302
- [1117] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGAGGCTGTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCGGAGACACCAGGCAAGCAGACGAGCTGAGCGATACCGCCGGCCGGGAGATCAATCTGGTGGACGCCACCTGAAGTCCGAGCAGACCGAGGCTCCACAAGCAGAACTCTCAGGTGCTGCTGAGCGAGACAGGATCTACGACAATGATCCCGACCTGTGCTTCCAGATGCAGGAGGGCAGCGAGGTGACTCCAACCCCTGTCTGGAGGAGAATAAGCCTGGCATCGTGTATGCCTCTCTGAACCACAGCGTGATCGGCCAACTCTAGGCTGGCCCGCAATGTGAAGGAGGCCCCACCGAGTATGCCTCCATCTGCGTGAGGTCTTGA
- [1118] 서열번호 19
- [1119] CD8 SP- 1-63
- [1120] Myc tag- 64-93
- [1121] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1122] PD1 힌지- 829-906
- [1123] PD1 TM- 907-969
- [1124] CTLA4 (신호전달 도메인)- 970-1092
- [1125] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGAGGCTGTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCGGTGTGAGCCTGTCCAAGATGTGAAGAAGCGGTCTCCTCTGACCACAGGGTGGGCGTGAAGATGCCCCCTACCGAGCCCGAGTGCAGAGCAGTTCACGCCATACTTTATCCCATCAACTGA
- [1126] 서열번호 20
- [1127] CD8 SP- 1-63
- [1128] Myc tag- 64-93
- [1129] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1130] PD1 힌지- 829-906
- [1131] PD1 TM- 907-969
- [1132] CSK (신호전달 도메인)- 970-1734
- [1133] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGAC

GCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
 GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
 ACACCACTGAGCCTGCCCGTAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGAATACCTACCTGGAGTGG  
 TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
 GACTTCAACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
 GGAGGCTGTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGAAGCTGTCCAGACCATCGGCAAGGGCGAGTTCGGCGACGTGATGCTG  
 GGCGATTACAGAGGCAACAAGGTGGCCGTGAAGTGCATCAAGAATGACGCAACCCGACAGGCCTTTCTGGCAGAGGCCAGCGTGTGACACAGCTGAGGCAC  
 TCCAACCTGGTGCAGCTGCTGGGCGTATCGTGGAGGAGAAGGGCGGCTGTACATCGTGACAGAGTATATGGCCAAGGGCAGCCTGGTGGACTACCTGCGG  
 TCCAGAGGCAGGTCTGTGCTGGGAGGCGACTGCCTGCTGAAGTTCAGCCTGGACGTGTGCGAGGCCATGGAGTATCTGGAGGGCAACAATTTGTGCACCCG  
 GATCTGGCAGCAAGGAACGTGCTGGTGTCTGAGGACAATGTGGCCAAGGTGAGCGATTTCCGGCTGACCAAGGAGGCCAGCTCCACCCAGGACACAGGCAAG  
 CTGCCTGTGAAGTGGACCGCACCAGAGGCCCTGAGGAGAGAAGTTCCTACAAAGAGCGACGTGTGGTCTTTGGCATCCTGCTGTGGAAATCTACTCT  
 TTTGGCAGAGTGCCATATCCAGAATCCCCGTAAGGACGTGGTGCCTCGGGTGGAGAAGGGCTACAAGATGGACGCACCAGATGGATGCCACCTGCCGTG  
 TATGAAGTGTGAAGAATTGTTGGCACCTGGATGCAGCAATGAGGCCAGCTTCTCCAGCTGAGGGAGCAGCTGGAGCACATCAAGACACAGAGCTGCAC  
 TGA

- [1134] 서열번호 21
- [1135] CD8 SP- 1-63
- [1136] Myc tag - 64-93
- [1137] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1138] PD1 힌지- 829-906
- [1139] PD1 TM- 907-969
- [1140] PD1 신호전달 - 970-1260
- [1141] GS 링커- 1261-1305
- [1142] CTLA4 (신호전달 도메인)- 1306-1428
- [1143] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGACGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
 CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
 AAGCAGCGGGCCGGCAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
 GCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
 GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
 ACACCACTGAGCCTGCCCGTAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGAATACCTACCTGGAGTGG  
 TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
 GACTTCAACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
 GGAGGCTGTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCCGCGCACCATCGGCGCCAGGGCGCACAGGCCAGCCT  
 CTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTG  
 CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCAGGTCGCCCCAGCCA  
 CTGGCGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGTGGTGGCGGGATCTGCCGTGAGCCTGTCCAAGATG  
 CTGAAGAAGCGGTCTCTCTGACCACAGGCGTGGGCGTGAAGATGCCCCCTACCGAGCCCGAGTGCAGAAAGCAGTTCAGCCATACTTTATCCCCATCAAC  
 TGA
- [1144] 서열번호 22
- [1145] CD8 SP- 1-63
- [1146] Myc tag - 64-93
- [1147] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1148] PD1 힌지- 829-906

- [1149] PD1 TM- 907-969
- [1150] PD1 신호전달 - 970-1260
- [1151] GS 링커- 1261-1305
- [1152] LAG3 (신호전달 도메인)- 1306-1467
- [1153] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACGCGGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCAGCAAAGCTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGTGTGGTGTGGCGGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGACCACGGTCCGCCAGCCA CTGCGGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGTGGCTCGGGCGGTGGTGGTGGTGGCGGATCTCACCTGTGGCGGAGACAGTGGCGGCCAGCGCTTACAGCCCGGAGCCAGAGCCTGAGCAGCTGTGA
- [1154] 서열번호 23
- [1155] CD8 SP- 1-63
- [1156] Myc tag - 64-93
- [1157] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1158] PD1 힌지- 829-906
- [1159] PD1 TM- 907-969
- [1160] PD1 신호전달 - 970-1260
- [1161] GS 링커- 1261-1305
- [1162] 2B4 (신호전달 도메인)- 1306-1665
- [1163] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACGCGGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCAGCAAAGCTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGTGTGGTGTGGCGGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGACCACGGTCCGCCAGCCA CTGCGGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGTGGCTCGGGCGGTGGTGGTGGTGGCGGATCTCACCTGTGGCGGAGACAGTGGCGGCCAGCGCTTACAGCCCGGAGCCAGAGCCTGAGCAGCTGTGA

CGCAAGGAGCTGGAGAATTTTGACGTGTATTCCTGA

- [1164] 서열번호 24
- [1165] CD8 SP- 1-63
- [1166] Myc tag - 64-93
- [1167] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1168] PD1 힌지- 829-906
- [1169] PD1 TM- 907-969
- [1170] PD1 신호전달 - 970-1260
- [1171] GS 링커- 1261-1305
- [1172] CD300LF(신호전달 도메인)- 1306-1644
- [1173] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTCCAGCGCGTGCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCAGCAAAAGCTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTCCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGGCACCATCGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGACCCTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGAACGCGAGCTGGATTTTCCAGTGGCGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTG CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGAATGGGCAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGTGGCGGTGGTGGTGGCGGATCTTGGCGGATGATGAAGTACCAGCAGAAGGCCCGGAATGTCTCCAGAGCAGGTGCTCCAGCCCTGGAGGGGACCTGTGCTATGCCACCTGACCCTCCAGTGGCCGCAAGCCACAG AAGGCAACCACAAGCTGAGCAGCGCCAGGTGGACCAGGTGGAGTGGAGTACGTGACCATGGCTCCCTGCGCTAAGGAGGACATCTCTATGCTCTCTG ACCCTGGGCGCCGAGGATCAGGAGCCTACATACTGTAACATGGGCCACTGTCTAGCCACCTGCCAGGAAGGGGACCAGAGGAGCCTACCGAGTATAGCACA ATCTCCAGACCCTGA
- [1174] 서열번호 25
- [1175] CD8 SP- 1-63
- [1176] Myc tag - 64-93
- [1177] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1178] PD1 힌지- 829-906
- [1179] PD1 TM- 907-969
- [1180] PD1 신호전달 - 970-1260
- [1181] GS 링커- 1261-1305
- [1182] BTLA(신호전달 도메인)- 1306-1428
- [1183] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG

TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
GGAGGCTGTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCT  
CTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTG  
CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCAACAAGTCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGACCACGGTCCGCCAGCCA  
CTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGGATCTGCCGTGAGCCTGTCCAAGATG  
CTGAAGAAGCGGTCTCCTCTGACCACAGGCGTGGGCGTGAAGATGCCCCCTACCGAGCCCGAGTGCAGAGAAGCAGTTCAGCCATACTTTATCCCCATCAAC  
TGA

- [1184] 서열번호 26
- [1185] CD8 SP- 1-63
- [1186] Myc tag - 64-93
- [1187] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1188] PD1 힌지- 829-906
- [1189] PD1 TM- 907-969
- [1190] PD1 신호전달 - 970-1260
- [1191] GS 링커- 1261-1305
- [1192] LAIR1(신호전달 도메인)- 1306-1608

[1193] ATGGCACTGCCAGTACCACCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAAGAGCAGCAGCACCGCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCAACGGAATACTACCTGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
GGAGGCTGTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCT  
CTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTG  
CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCAACAAGTCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGACCACGGTCCGCCAGCCA  
CTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGGATCTCACAGGCAGAACAGATCAAG  
CAGGGACCACCTCGCAGCAAGGACGAGGAGCAGAAGCCACAGCAGAGGCCCGACCTGGCAGTGGATGTGCTGGAGAGAACCCTGATAAGGCCACAGTGAAT  
GGCCTGCCCGAGAAGGACAGGGAGACCAGATACATCCGCCCTGGCCCGCGGACGTCCAGGAGGTGACCTACGCCAGCTGGACCCTGGGCACTGACCCAG  
AGGACAGCCAGAGCCGTGTCTCCTCAGAGCACCAAGCCAATGGCCGAGTCTATCACCTACGCCCGCTGGCCAGACACTGA

- [1194] 서열번호 27
- [1195] CD8 SP- 1-63
- [1196] Myc tag - 64-93
- [1197] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1198] PD1 힌지- 829-906
- [1199] PD1 TM- 907-969
- [1200] PD1 신호전달 - 970-1260
- [1201] GS 링커- 1261-1305
- [1202] TIGIT(신호전달 도메인)- 1306-1551

[1203] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAGAGCAGCAGCACCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGTGAGCCTGGGGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAAACGGAATACCTACCTGGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGCACAAAG  
CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
GGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGGGCACCATCGGCGCCAGGGCAGAGCCAGCCT  
CTGAAGGAGGACCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTG  
CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGAATGGGCACAAGTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCA  
CTGGCGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGCGGATCTCTGACCCGGAAGAAGAAGGCC  
CTGCGCATCCACAGCGTGGAGGGCGACTGAGGAGAAAGTCCGCCGCCAGGAGGAGTGGAGCCATCCGCCCTCCCCCTGGCTCTTGCCTGCAGGCA  
GAGGCAGCCTGCCGCTGTGCGGCAGCAGCGGGCGAGGACTGTGCCGAGCTGCACGATTACTTCAACGTGCTGCTTATAGGAGCCTGGGCAATTGT  
TCTTTCTTACCGAGACAGGCTGA

[1204] 서열번호 28

[1205] CD8 SP- 1-63

[1206] Myc tag - 64-93

[1207] HLA-A2 scFV- 94-828

[1208] PD1 힌지- 829-906

[1209] PD1 TM- 907-969

[1210] PD1 신호전달 - 970-1260

[1211] GS 링커- 1261-1305

[1212] VISTA(신호전달 도메인)- 1306-1593

[1213] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAGAGCAGCAGCACCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGTGAGCCTGGGGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAAACGGAATACCTACCTGGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGCACAAAG  
CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
GGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGGGCACCATCGGCGCCAGGGCAGAGCCAGCCT  
CTGAAGGAGGACCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTG  
CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGAATGGGCACAAGTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCA  
CTGGCGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGCGGATCTTACAAGCAGAGGCAGGCAGCC  
AGCAACAGGAGAGCCAGGAGTGGTGGAGTGGACTCCAAATCCAGGGCATCGAGAATCCAGGATTCGAGGCTCTCCACCTGCACAGGGCATCCCTGAG  
GCAAAGGTGCGGCACCCACTGAGCTATGTGGCACAGAGGCAGCTAGCGAGTCCGGCCGACCTGTGCTGAGCCAGCACCCCTCTGTCCCCACCAGGA  
CCAGGCGACGTGTTCTTCCCCTCCCTGGACCCTGTGCCAGATTCTCCAATTTGAAGTGTCTGA

[1214] 서열번호 29

[1215] CD8 SP- 1-63

[1216] Myc tag - 64-93

- [1217] HLA-A2 scFV- 94-828
- [1218] PD1 힌지- 829-906
- [1219] PD1 TM- 907-969
- [1220] PD1 신호전달 - 970-1260
- [1221] GS 링커- 1261-1305
- [1222] Ly9(신호전달 도메인)- 1306-1842
- [1223] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGCCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCGAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTAGCGGCGTGCCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCACAAGCTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCGCGCACCATCGGCCAGGGCAGCGCACAGGCCAGCCCTCTGAAGGAGACCCTTCCCGGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCAGCTGGATTTTCAGTGGCGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTG CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCAGGTCCGCCAGCCA CTGCGGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGTGGCGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGGATCTAAGCGGAAGGGCAGATGCTCC GTGCCAGCCTTCTGTAGCTCCAGGCAGAGGCACCCGCCACACCCAGAGCCTACAGCCGGCCACACCTGTACTCCGTGCTGTCTCAGGGCTATGAGAAG CTGGATACCCCACTGAGGCTGCAAGGCAGCAGCCAACCCCAAGCGACTTAGTCCGATTCCAACCTGACCACAGAGGAGGACGAGGATCGGCCGAG GTGCACAAGCCTATCTCCGGCAGGTACGAGGTGTTGACACAGGAGGAGCAGGACACGATCCTGCACCAGAGGGCCAGGCCACTACGATCCA GTGACACCCTATGTGACCGAGGTGGAGTCTGTGGTGGCGAGAACCATTGTACGCCAGGTGTTCAACCTCCAGGGCAAGACACCCGTGACCCAGAAGGAG GAGTCTAGCGCCACCATCTATTGCAGCATCAGGAAGCCACAGGTGGTGGCCCTCCACAGCAGAACGACCTGGAGATCCCTGAGAGCCCAACCTACGAGAAC TTCACCTGA
- [1224] 서열번호 30
- [1225] CD8 SP- 1-63
- [1226] Myc tag - 64-93
- [1227] PSMA scFV- 94-867
- [1228] PD1 힌지- 868-944
- [1229] PD1 TM- 945-1007
- [1230] PD1 (신호전달)-1008-1299
- [1231] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGGCACTGCCT GTGACAGCCCTGCTGCTGCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGAGGTGCAGTCCAGCAGAGCGGACCAGAGCTGGTGAAGCCAGGCACAAGCGTGGGATC TCCTGCAAGACCTCTGGTACACCTTACAGAGTATAACCATCCACTGGGTGAAGCAGAGCCACGGCAAGTCCCTGGAGTGGATCGGCAACATCAATCCCAAC AATGGCGGCACCACATAACAACAGAAGTTTGAAGACAAGGCCACCCCTGACAGTGGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTATATGGAGCTGAGGAGCCTGACCTCC GAGGACTCTGCCGTGTAATTTGCGCCGCCGATGGAATTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTACCGTGAGCAGCGCGCGGGCTCTGGAGGA GGAGGAGCGGGGAGGAGGCTCCGACATCGTGATGACACAGTCCCACAAGTTTATGTCTACCAGCGTGGCGATCGCGTGTCTATCATCTGTAAGGCCAGC CAGGACGTGGGACCCCGTGGATTGGTATCAGCAGAAGCCCGCCAGTCCCCTAAGCTGCTGATCTATTGGGCTCTACAAGGCACACCGCGTGGCCGAC AGATTACAGGCTCCGGCTGTCACCGACTTACCCTGACAATACCAACGTGCAGAGCGAGGACCTGGCCGATTATTTCTGTGACAGTACAATTCCTAT CCTCTGACATTTGGCGCCGCCATGCTGGACCTGAAGAGGGTGGCCACCGAGAGGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGG CCAGCAGGACAGTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCC GCCCAGGCACCATCGGCCAGGGCAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCCGGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCAGCTGGATTTTCAG TGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGAATGGGCACAAGTCCCCTGCA

AGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGTGA

- [1232] 서열번호 31
- [1233] CD8 SP 1-63
- [1234] Myc tag- 64-93
- [1235] HLA-A2 scFV 94-828
- [1236] PD1 힌지 - 829-906
- [1237] PD1 TM - 907-969
- [1238] PD1 (신호전달)-970-1260
- [1239] IRES-1264-1850
- [1240] CD8 SP- 1857-1916
- [1241] FLAG tag- 1917-1940
- [1242] CD19 scFV-1941-2666
- [1243] CD8 힌지- 2667-2801
- [1244] CD8 TM-2802-2873
- [1245] 41BB-2874-2999
- [1246] CD3z -3000-3335
- [1247] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCGGCAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCATCTACTTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTCCAGCGCGTGCCTGACAGATTTCTTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGTCCCAGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGCACAAAGCTGGAGATCAAGACCAGAGGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCATAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGAGAAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCA CTGGCGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGTGACCCCTCTCCCTCCCCCCCCAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGC GTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTTC CCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTGAAGACAACAACGCTGTGACGACCCCTTTCAG GCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCAGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAG TTGGATAGTTGTGAAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATGTATGGGATCTGATCTGGG GCCTCGGTGCACATGCTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTTAGGCCCCCGAACCCAGGGGACGTGGTTCCTTTGAAAAACACGATGATA ATATGGCCACAACCTGAATGGCCTTACCAGTGACCGCCTGCTCCTGCCGTGGCCTGTGCTCCACGCCAGGCGGACTACAAAGACGATGACGACA AGGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGACAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTG GAACAGATTATCTCTACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTACTTTTGGCAACAGGGTAATACGTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGA CCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGCGGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTACAGGACCTGGCCTGGTGGCGC CCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGAAGTGGATTCCGACGCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGC TGGGAGTAATATGGGTAGTGAACACATACTATAATTACAGTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAA TGAACAGTCTGCAAAGTATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTACTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGAACCTCAG TCACCGTCTCCTCAACCACTACCCAGCACCAGGACCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCTCCAGCCTCTGTCCCTGGTCCGGAGGCATGTAGACCCG CAGCTGGTGGGGCGTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCTGCATATCTACATTTGGGCCCTCTGGTGGTACTTGGGGGTCTGCTGCTTTCACTCG

TGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTT  
CATGCCGGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAATTCAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCT  
ACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCC  
AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAGGCCACGACGGAC  
TGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCATATGCAGGCCCTGCCGCTCGGTGA

- [1248] 서열번호 32
- [1249] CD8 SP 1-63
- [1250] Myc tag- 64-93
- [1251] HLA-A2 scFV 94-828
- [1252] PD1 힌지 - 829-906
- [1253] PD1 TM - 907-969
- [1254] IRES-973-1559
- [1255] CD8 SP- 1566-1625
- [1256] FLAG tag-1626-1649
- [1257] CD19 scFV-1650-2375
- [1258] CD8 힌지-2376-2510
- [1259] CD8 TM-2511-2582
- [1260] 41BB-2583-2708
- [1261] CD3z 2709-3044

[1262] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
GCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACAATACTATGCTATG  
GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
ACACCACTGAGCCTGCCGCTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGCCTCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
GACTTACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGGATCTGGCGGTGACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
CTGGAGATCAAGACCAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
GGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCGGTGATCTGACCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGA  
ATAAGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCAT  
TCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTGAATGTCTGTAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTGAAAGACAAACAACGTCTGT  
AGCGACCTTTGAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTTGGCGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCA  
GTGCCAGTGTGAGTTGGATAGTTGTGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATTTGTAT  
GGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGCTTAGGCCCCCGAACCCAGGGGACGTGGTTTTCTTTG  
AAAAACAGATGATAATATGGCCACAACCTGAATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGTCTCTGCGCTGGCCTTGTCTCCACGCCAGGCCGACTACA  
AAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGACTACATCTCCCTGTCTGCTCTCTGGGAGACAGAGTACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACA  
TTAGTAAATATTTAAATTTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACTCAGGAGTCCCATCAAGGTCA  
GTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGGCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACA  
CGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGCGGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGAC  
CTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGAAGCTGGATTGCCAGCCTCCACGAA  
AGGGTCTGGAGTGGCTGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATAATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCAAGGACAACCTCAAGAGCC  
AAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGG  
GCCAAGGAACCTCAGTACCGTCTCCTCAACCACTACCCAGCACCAGGCCACCCACCCGGCTCTACCATCGCTCCAGCCTCTGTCTCTGCGTCCGG  
AGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCGGTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCC

TGCTGCTTTCACCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTGCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCTGTGCAGACTACTCAAG  
 AGGAGGACGGCTGTTCATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGACGCGAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGG  
 GGCAGAACAGCTCTACAACGAACCTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGACCCAGAAATGGGCGGAAGCCGC  
 GCAGAAAAGATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCA  
 AAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCCGCCCAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGGTGA

- [1263] 서열번호 33
- [1264] CD8 SP 1-63
- [1265] Myc tag- 64-93
- [1266] HLA-A2 scFV 94-828
- [1267] PD1 힌지 - 829-906
- [1268] PD1 TM - 907-969
- [1269] PD1 (신호전달)-970-1260
- [1270] P2A-1261-1326
- [1271] CD8 SP-1327-1351
- [1272] FLAG tag-1352-1410
- [1273] CD19 scFV-1411-2136
- [1274] CD8 힌지-2137-2271
- [1275] CD8 TM-2272-2343
- [1276] 41BB-2344-2469
- [1277] CD3z 2470-2805

[1278] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
 CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
 AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
 GCCGATAAGAGCAGCAGCACCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGACATACTATGCTATG  
 GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAG  
 ACACCACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
 TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC  
 GACTTACACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGGATCTGGCGGTGACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
 GGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGGCGCAGGCGCACAGGCCAGCCT  
 CTGAAGGAGGACCCCTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGAGAAAACCCAGACCCCTGTGCCCTGCGTG  
 CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGACCACGGTCCGCCAGCCA  
 CTGCGGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGt TCCGGCGGCAAACTTTAGCTTGCTGAAGCAAGCTGGTGGAGGAGGAGTCCCGGCCCT  
 GCCTTACCAGTGACCGCCTGTCTCCTGCCGTGGCCTGTCTGCCACGCCAGGCCGACTACAAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAG  
 ACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGATCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA  
 GATGGAACTGTTAACTCCTGATCTACCATAATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACC  
 ATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGT  
 GGCGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGCGGATCTGAGGTGAAATGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTC  
 ACATGCACTGTCTCAGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGAAGCTGGATTCCGCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGTAGT  
 GAAACCACATACTATAATTCAGTCTCAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGAT  
 GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGTATGCTATGGACTACTGGGGCAAGGAACCTCAGTACCCGTCTCTCAACCACT  
 ACCCCAGCACCAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCGGTGCAT  
 ACCCGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGTCTGTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTACTGTAAAG  
 CGCGTCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGTTCCAGAGGAG

GAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTAAAATTCAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGT  
 CCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAG  
 CTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGACC  
 GCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGGTGA

- [1279] 서열번호 34
- [1280] CD8 SP 1-63
- [1281] Myc tag- 64-93
- [1282] HLA-A2 scFV 94-828
- [1283] PD1 힌지 - 829-906
- [1284] PD1 TM - 907-969
- [1285] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
 CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
 AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
 GCCGATAAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACAATACTATGCTATG  
 GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGCTGATGCCAG  
 ACACCACTGAGCCTGCCGCTGAGCCTGGGGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
 TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTTACGCGGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGACC  
 GACTTACCCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGCGGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
 GGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGTTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGA
- [1286] 서열번호 35
- [1287] CD8 SP 1-63
- [1288] Myc tag- 64-93
- [1289] HLA-A2 scFV 94-828
- [1290] PD1 힌지 - 829-906
- [1291] PD1 TM - 907-969
- [1292] PD1 (신호전달)-970-1260
- [1293] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAG  
 CTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTG  
 AAGCAGCGGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACC  
 GCCGATAAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGGAGGGCACAATACTATGCTATG  
 GACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGTGCTGATGCCAG  
 ACACCACTGAGCCTGCCGCTGAGCCTGGGGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGG  
 TATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTTACGCGGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGACC  
 GACTTACCCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGCGGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTG  
 GGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGTTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCT  
 CTGAAGGAGGACCTTCCCGGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGGCCACCTGTGCCCTGCGTG  
 CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGACGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCA  
 CTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGTGA
- [1294] 서열번호 36
- [1295] CD8 SP 1-63
- [1296] Myc tag- 64-93

- [1297] HLA-A2 scFV 94-828
- [1298] PD1 힌지 - 829-906
- [1299] PD1 TM - 907-969
- [1300] PD1 (신호전달)-970-1260
- [1301] GS 링커- 1261-1305
- [1302] PD1 (신호전달) 1306-1596
- [1303] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGACGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCAGCGGTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCGAGGAGCCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACGCGGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGCGTGTACTATTGTTTCCAGGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGACCCTTCCGCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTG CCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGAATGGGCACAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCAGGTCCGCCCAGCCA CTGCGGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGGTGGCGGTGGCTCAGCGGTTGGTGGGTCGGGTGGCGGATCTTGCAGCAGGGCCCGCCGCGGC ACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGACCCTTCCGCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGGAG AAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCTGCTGCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGAATGGGCACAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGC AGCGCCGACGGACCAGGTCCGCCCAGCCACTGCGGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGTGA
- [1304] 서열번호 37
- [1305] CD8 신호 펩타이드 1-63
- [1306] Flag tag 64-87
- [1307] CD19 scFV 88-813
- [1308] CD8 힌지 814-948
- [1309] CD8 TM 949-1020
- [1310] CD28 1021-1677
- [1311] CD3z 1678-2013
- [1312] ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGTCTCTGCCGCTGGCCTTGTGCTCCACGCCAGGCCGACTACAAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACA CAGACTACATCTCCCTGTCTGCTCTCTGGGAGACAGAGTACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAA CCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACCATAATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTC ACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACA GGTGGCGGTGGTCCGGCGGTGGTGGGTCCGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCC GTCACATGCACTGTCTCAGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGAAGCTGGATTTCGCCAGCCTCCACGAAAGGTTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGT AGTGAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAATCCAAGGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAAT GATGACACAGCCATTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTACCCTCTCTCAACC ACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCCGTG CATACCCGGGCTTGTACTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCCTGCGTGGTACTTGGCGGGTCTGTGCTTTTACTCGTGTACTCTTTACTGT CTCAGGCTGTCTTGGCTCTCAACTTATCCCTCAATTAAGTAACAGGAAAACAAGATTTTGGTGAAGCAGTCGCCATGCTGTAGCGTACGACAATGCG GTCAACCTTAGTGCAAGTATCTACAATCTTCTCAAGGGAGTTCGGGATCCCTTCAAAAGGACTGGATAGTGTGTGGAAGTCTGTGTGTATAT GGGAACTACTCCAGCAGCTCAGGTTTACTCAAAAACGGGTTCAACTGTGATGGGAAATGGGCAATGAATCAGTGACATTCTACCTCCAGAATTTGTAT GTTAACCAACAGATATTTACTTCTGCAAAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGG

AAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGTGGAGTCTGGCTTGTATAGCTTGCTAGTAACA  
GTGGCCTTTATTATTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCAT  
TACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCCGGTGAAATTCAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGAGAACAG  
CTCTACAACGAATCAATCTTGGTCGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGCCAGAAATGGGCGGAAGCCGCGAGAAAGAAT  
CCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAAGGGGAACGAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC  
GGACTGTACCAGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGGTGA

- [1313] 서열번호 38
- [1314] CD8 SP- 뉴클레오티드 1-63.
- [1315] Myc tag - 뉴클레오티드 64-93
- [1316] scFV EGFR 94-816
- [1317] CD8 힌지 817-951
- [1318] CD8 TM 952-1023
- [1319] 41BB 1024-1149
- [1320] CD3z 1150-1485

[1321] ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGGACATCCTG  
CTGACCCAGTCCCAGTGATCTGAGCGTGTCCCAGGAGAGCGGGTGAGCTTCAGTGCCTGGCCCTCCAGTCTATCGGCACCAATATCCACTGGTATCAG  
CAGAGGACAAACGGCTCCCCTCGCCTGCTGATCAAGTATGCCAGCGAGTCCATCTCTGGCATCCATCTAGGTTCCAGCGGCTCCGGCTCTGGCACCAGCTTC  
ACCCTGTCTATCAATAGCGTGGAGTCCGAGGACATCGCCGATTACTATTGCCAGCAGAACAATAACTGGCCACCACATTTGGCGCAGGCACCAAGCTGGAG  
CTGAAGGGAGGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGAGCGGGGAGGAGGCTCCCAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGACCAGGCTGGTGCAGCCTAGCCAGTCC  
CTGTCTATCACTGTACAGTGTCTGGCTTCAGCCTGACCAACTACGGAGTGCAGTGGGTGCGGCAGTCTCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGTGGGCGTGATC  
TGGAGCGGAGGCAATACAGACTATAACACCCCTTTTACATCCAGACTGTCTATCAATAAGGATAACAGCAAGTCCAGGTGTTCTTAAAGTGAATAGCCTC  
CAGTCCAACGACACCGCCATCTACTATTGTGCCAGAGCCCTGACATACTATGATTACGAGTTCGCTTATGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGAAGGCC  
ACCACTACCCAGCACCAGGCCACCCACCCGGCTCTACCATCGCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCC  
GTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCAGGGTCTGTGCTTCACTCGTATCACTCTTAC  
TGTAAGCGGGTTCGGAAGAAGCTGTGTACATCTTAAAGCAACCTTCATGAGGCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTATGCCGGTTCCTCA  
GAGGAGGAGGAAGGGCTGCGAACTGCGGTGAAATTCAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGAGAACAGCTCTACAACGAATCAAT  
CTTGGTCGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTAC  
AACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAAGGGGAACGAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTC  
AGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGGTGA

- [1322] 서열번호 39
- [1323] EGFR aCAR (세특시맵 scFv)
- [1324] MALPVTALLLPLALLLHAARPDILLTQSPVILSVSPGERVVSFSCRASQSIGTNIHWYQRTNGSPRLLIKYASEISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESE  
DIADYYCQQNNWPTTFGAGTKLELKGSGGGSGGGGSGVQLKQSGPGLVQPSQLSITCTVSGFSLTNYGVHVRQSPGKGLEWLVISGGNTDYNT  
PFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSADYKDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH  
TRGLDFACDIYIWAPLAGTCVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSRFPPEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLG  
RREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR
- [1325] 서열번호 40
- [1326] EGFR aCAR (파니투무맵 scFv)

[1327] MALPVTALLLPLALLLHAARPDIMQTQSPSSLASVGDVRVITTCQASQDISNYLNWYQKPKGKPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITSSLQPE  
DIATYFCQHFDHLPLAFGGGKVEIKGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKLEWIGHIYYSGNTNY  
NPSLKSRLTISIDTSKTFSLKSSVTAADTAIYCVDRVTVGAFDIWQGTMVTVSSDYKDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH  
TRGLDFACDIYIWAPLAGTCVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSRFPPEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLG  
RREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR

- [1328] 서열번호 41

- [1329] EGFR aCAR (니모투주맵 scFv)
- [1330] MALPVTALLLPLALLLHAARPDIMQTQSPSSLSASVGDVRTITCRSSQNI VHSNGNTYLDWYQQTTPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIATYYCFQYSHVPWTFGQGTKLQIGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFITNYIYWVRQAPGQGLEWIGGINPTSGG SNFNEKFKTRVITITADESSTTAYMELSSLRSEDTAFYFCTRQGLWFDSDGRGFDFWGGQTTVTVSSDYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNL YNELNLGRREEDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
- [1331] 서열번호 42
- [1332] EGFR aCAR (넥시투주맵 scFv)
- [1333] MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPE DFAVYYCHQYGSTPLTFGGGTKAEIKGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPPGKLEWIGYIYSGSTDY NPSLKSRTMSVDTSKNQFLKVNVSVAADTAVYYCARVIFGVGTFDYWGQTLVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNL YNELNLGRREEDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
- [1334] 서열번호 43
- [1335] EGFR aCAR (C10 scFv)
- [1336] MALPVTALLLPLALLLHAARPQSVLTQDPAVSVALGQTVKITCQDGLSRYSYFASWYQKPGQAPTLVMIYARNDPAGVPDFRSGSKSGTSASLSAISGLQPE DEAYYCAAWDDSLNGYLFAGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFSSYAIWVVRQAPGQGLEWMMGGIIPIFGIANY AQKFQGRVITITADESTSSAYMELSSLRSEDTAVYYCAREEGPYCSSTSCYAAFDIWGGTLVTLSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNL YNELNLGRREEDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
- [1337] 서열번호 44
- [1338] HER2 aCAR (트라스투주맵 scFv)
- [1339] MALPVTALLLPLALLLHAARPDIMQTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDVNTAVAWYQKPGKAPKLLIYSASFYLSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQHYTTPTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVARIIYPTNGYTRYA DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQTLVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNL YNELNLGR REEDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
- [1340] 서열번호 45
- [1341] HER2 aCAR (피투주맵 scFv)
- [1342] MALPVTALLLPLALLLHAARPDIMQTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQDVSIGVAWYQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPFSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQYYIYPYTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKLEWVADVNPNSGGSIYN QRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQTLVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNL YNELNLGR REEDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
- [1343] 서열번호 46
- [1344] 인간화된 HLA-A2scFv-IgG -VKA17/VH1-3
- [1345] METDTLLLWVLLWVPGSTGDVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSI VHSNGNTYLEWFQRPQSPRRLIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCFQYSHVPRTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFITSYHIQWVRQAPGQRLWGMWYIPGDGS TQYNEKFKGRVITITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGTYAMDYWGQTLVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISTR TPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG
- [1346] 서열번호 47
- [1347] 인간화된 HLA-A2scFv-IgG -VKA17/VH1-69

[1348] METDTLLLVWVLLWVPGSTGDVMTQSPVTLGQPASISCRSSQSIVHNSGNTYLEWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISR  
VEAEDVGVVYCFQGSHPVPTFGGQTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFSSYHIQWVRQAPGQGLEWMGWYIPGDGS  
TQYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGTYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR  
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE  
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSKCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1349] 서열번호 48

[1350] 인간화된 HLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-3

[1351] METDTLLLVWVLLWVPGSTGDI VMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHNSGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISR  
VEAEDVGVVYCFQGSHPVPTFGGQTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYFTFSYHIQWVRQAPGQRLWEMGWYIPGDGS  
TQYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGTYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR  
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE  
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSKCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1352] 서열번호 49

[1353] 인간화된 HLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-69

[1354] METDTLLLVWVLLWVPGSTGDI VMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHNSGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISR  
VEAEDVGVVYCFQGSHPVPTFGGQTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFSSYHIQWVRQAPGQGLEWMGWYIPGDGS  
TQYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGTYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR  
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE  
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSKCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[1355] 실시예 6. 작동자 세포의 제조

[1356] CD19 CAR 활성화 조절에 대한 iCAR 구조체의 효과를 조사하기 위해, 아래 표 12에 상세히 기술한 바와 같이 재조합 Jurkat 작동자 세포를 구축하였다. Jurkat (ATCC TIB152), CD4+ T 세포주 및 Jurkat-NFAT (BPS Biosciences로부터 구입한 Jurkat 세포주, NFAT 반응 요소의 통제 하에 반딧불이 루시퍼라제 단백질을 발현하도록 조작됨)를 레트로벡터-코딩된 (Takara) 렌티바이러스 벡터 결합 플레이트를 사용하여 또는 폴리브렌의 존재 하에 형질도입하였다. 형질도입된 세포에 대해 추가적으로 항생제 선별을 수행해 표 13에 기재된 세포주를 수득하였다. 선별 후, 세포에 대해 유세포 분석을 수행하여, 각 구조체에 코딩된 리포터 단백질의 발현을 검증하였다.

[1357] 표 13 - 재조합 작동자 세포주

표 13

재조합 작동자 세포주	부모 세포	구조체 1 (aCAR-RFP)	구조체 2 (iCAR- GFP)
CD19 aCAR Jurkat	Jurkat	CD19 aCAR	-
CD19aCAR/HLA-A2 iCAR Jurkat	Jurkat	CD19 aCAR	HLA-A2 iCAR
HLA-A2 iCAR Jurkat	Jurkat	-	HLA-A2 iCAR
CD19aCAR/CD20 iCAR Jurkat	Jurkat	CD19 aCAR	CD20 iCAR
CD20 iCAR Jurkat	Jurkat	-	CD20 iCAR
CD19 aCAR Jurkat-NFAT	Jurkat-NFAT	CD19 aCAR	-
CD19aCAR/HLA-A2 iCAR Jurkat-NFAT	Jurkat-NFAT	CD19 aCAR	HLA-A2 iCAR
HLA-A2 iCAR Jurkat-NFAT	Jurkat-NFAT	-	HLA-A2 iCAR
CD19aCAR/CD20 iCAR Jurkat-NFAT	Jurkat-NFAT	CD19 aCAR	CD20 iCAR
CD20 iCAR Jurkat-NFAT	Jurkat-NFAT	-	CD20 iCAR

[1359] 또한, 건강한 공여자로부터 수득한 말초혈 유래 활성화된 T-세포에, aCAR, iCAR 또는 이 둘다를 코딩하는 바이러스 입자를 여러가지 감염다중도 (MOI)로 형질도입하였다. 리포터 유전자 발현에 기초한 FACS 선별을 이용해, aCAR, iCAR 또는 이 둘다를 여러가지 발현 수준으로 발현하는 세포 집단을 분류 및 선택할 수 있다.

[1360] 또한, 건강한 공여자로부터 수득한 말초혈 유래 활성화된 T-세포에, 전술한 벡터로부터 전사된 mRNA를 전기천공

에 의해 도입하였다. 세포에 aCAR mRNA, iCAR mRNA 또는 이 둘다를 여러가지 몰 비율로 전기천공으로 도입하였으며, 대조군 mRNA도 도입하였다. 전기천공 후, CAR 발현을 FACS에 의해 측정하였다.

[1361] 실시예 7. 표적 세포 준비

[1362] 오프-표적 세포에 대한 aCAR의 활성을 저해하는 iCAR 구조체의 기능성을 조사하기 위해 시험관내 재조합 시스템을 확립하였다. 이를 위해, aCAR 에피토프, iCAR 에피토프 또는 이 둘다를 발현하는 표적 세포를 구축하였다. aCAR 에피토프를 발현하는 재조합 세포는 '온-표적' '온-종양' 세포이고, aCAR 및 iCAR 에피토프 둘다를 발현하는 세포는 '온-표적' '오프-종양'의 건강한 세포이다.

[1363] 제1 iCAR/aCAR 세트는 각각 HLA-A2 및 CD19에 기초한 것이므로, HLA-A2, CD19 또는 이 둘다를 발현하는 재조합 세포는, 세포주 (예, HeLa, ATCC CRM-CCL-2, HeLa-루시퍼라제-GenTarget SCO32-Bsd 또는 Raji-ATCC CCL-86)에 이들 유전자를 코딩하는 발현 벡터를 형질감염시켜 제조하였다.

[1364] 재조합 HLA A-2 발현을 검출하기 위해 Myc 태그를 삽입하였다. CD20 iCAR/CD19 aCAR로 구성된 제2 iCAR/aCAR 세트에 대해, CD20 또는 CD19 또는 이 둘다를 발현하는 재조합 세포를 구축하였다 (표적 세포는 표 14에 상세히 기술됨).

[1365] 표 14 - 표적 세포주

표 14

Set#	부모 세포	표적 단백질 1	표적 단백질 2	목적	모델링
1	Raji	CD19	없음	내인성 CD19을 발현하는 암 세포 모델	온-종양
	Raji	CD19	HLA-A2	내인성 CD19; 재조합 HLA-A2를 발현하는 정상 세포 모델	오프-종양
	Thp1	없음	HLA_A2	내인성 HLA-A2를 발현하며 CD19에 음성인 정상 세포 모델	음성 대조군
2	HeLa	HLA-A2	없음	내인성 HLA-A2를 발현하며 CD19에 음성인 정상 세포 모델	음성 대조군
	HeLa	HLA-A2	CD19	재조합 CD19; HLA-A2를 발현하는 정상 세포 모델	오프-종양
4	HeLa	CD19	없음	재조합 CD19을 발현하는 암 세포 모델	온-종양
	HeLa	CD19	CD20	재조합 CD19; CD20을 발현하는 정상 세포 모델	오프-종양
	HeLa	CD20	없음	내인성 CD20을 발현하고 CD19에 음성인 정상 세포 모델	음성 대조군
3	HeLa-루시퍼라제	HLA-A2	없음	살상 분석에 사용할 음성 대조군	음성 대조군
	HeLa-루시퍼라제	HLA-A2	CD19	재조합 CD19; HLA-A2 (살상 분석)를 발현하는 정상 세포 모델	오프-종양
5	HeLa-루시퍼라제	CD19	없음	재조합 CD19 (살상 분석)를 발현하는 암 세포 모델	온-종양
	HeLa-루시퍼라제	CD19	CD20	재조합 CD19; CD20 (살상 분석)을 발현하는 정상 세포 모델	오프-종양
	HeLa-루시퍼라제	CD20	없음	음성 대조군 (살상 분석)	음성 대조군

[1367] 분석-

[1368] iCAR의 저해 효과를 시험관내 및 생체내에서 추가적으로 검사하였다.

[1369] 본 발명자들은, 시험관내 분석에서는 사이토카인 분비 및 세포독성 효과를 측정하는데 집중하였으며, 생체내에서는 종양을 제거할 뿐 아니라 aCAR 및 iCAR 표적 둘다를 발현하는 '오프-종양'을 저해 및 보호하기 위한 이중 aCAR/iCAR 구조체의 효과를 조사하였다. 실험은 마우스 모델, 예를 들어 이종이식을 이용해 수행하였다. 본 발명자들은 리포터 유전자를 사용해 T-세포를 iCAR/aCAR 이중 양성으로 분류함으로써, iCAR이 결합된 T-세포가 결과를 오염시키는 것을 제한하였다. iCAR 차단 활성에 대한 음성 대조군으로서, scFv 도메인 또는 신호전달 도메

인이 결여된 CAR가 형질도입된 (즉, 모의 형질도입) T-세포를 이용할 수 있다.

[1370] **실시예 8. 시험관내 분석**

[1371] **루시퍼라제 세포독성 T 림프구 (CTL) 분석**

[1372] 반딧불이 루시퍼라제와 하나 또는 2개의 CAR 표적 항원을 발현하도록 조작된 전술한 HeLa-Luc 재조합 표적 세포를 이용해 분석을 수행하였다. 시험관내 루시퍼라제 분석은 Bright-Glo 루시퍼라제 분석으로 제조사 프로토콜 (Promega)에 따라 수행하였으며, 판독값으로서의 생물 발광을 측정하였다.

[1373] T-세포 (iCAR 및 pCAR 둘다, 또는 iCAR 및 aCAR, 또는 aCAR, 세포질 도메인이 결핍된 (Pdel) aCAR 및 iCAR, 또는 모의 CAR로 형질도입 또는 mRNA 전기천공됨)를 HLA-A2 또는 CD19, 또는 CD19 및 HLA-A2 둘다, 또는 CD20, 또는 CD20 및 CD19 둘다를 발현하는 재조합 표적 세포와 함께 여러가지 작동자 : 표적 비율로 24-48시간 동안 인큐베이션하였다. 세포 살상은 Bright-Glo 루시퍼라제 시스템을 사용해 정량하였다.

[1374] iCAR/aCAR 발현 수준에 따라 형질도입된 T 세포 집단을 분류하거나, 또는 이들의 CD19, HLA-A2 또는 CD20 발현 수준에 따라 재조합 표적 세포의 하위 집단을 선택함으로써, '오프-종양' 세포독성을 최적화하였다. iCAR 형질도입된 T-세포가 시험관내에서 '온-종양'과 '오프-종양' 세포를 구별할 수 있는지를 검사하기 위해, 1:1 이상의 비율로 '온-종양'과 '오프-종양'의 혼합물과 함께 인큐베이션한 형질도입된 T-세포의 살상 효과를 조사하였다. '온-종양' 재조합 세포는 루시퍼라제 발현에 의해 "오프-종양" 재조합 세포와 구별되었다 (단 하나의 세포 집단만 소정의 시점에 루시퍼라제 유전자를 발현하도록 조작됨). 24-48시간 동안 공동 배양한 후 살상을 정량하였다.

[1375] **카스파제 3 활성 분석 - 항-활성화된 카스파제 3 (CASP3)에 의한 CTL 유도된 세포자살 검출.**

[1376] 세포독성 T-세포가 표적 세포를 살상하는 한가지 경로는 Fas 리간드를 통해 세포자살을 유도하는 것이다. 카스파제의 순차적 활성화는 세포자살의 실행 단계에서 중요한 역할을 담당한다. 프로-카스파제 3가 카스파제 3로 절단되면 형태적 변화를 거쳐 촉매 활성을 발휘하게 된다. 카스파제 3의 절단된 활성화된 형태는 단일클론 항체에 의해 특이적으로 인지할 수 있다. 형질도입된 또는 mRNA 전기천공된 T-세포를, '온-종양' 또는 '오프-종양' 재조합 세포, 또는 '온-종양' 및 '오프-종양' 믹스와 함께 1-3시간 공동-배양하였으며, 표적 세포 집단을 혼합한 경우 세포 집단 중 한가지는 세포 추적 염료 (예, CellTrace Violet 또는 CFSE)로 미리 표지하였다. 세포 투과화, 내부 염색 키트 (예, BD bioscience)에 의한 고정 및 T 세포를 제외하기 위한 항-CD3 (CD3 음성 세포 게이팅)을 이용한 염색을 수행한 후, 특이적인 항체 염색 (BD bioscience)을 통해 활성화된 CASP3를 검출하였으며, 세포자살 표적 세포를 유세포 분석에 의해 검출 및 정량하였다. iCAR/aCAR을 여러가지 비율 (1:1; 1:2.5; 1:5)로 또는 aCAR 단독을 전기천공에 의해 도입한 T 세포를 '온-종양' ("Raji") 또는 '오프-종양' ("Raji-A2" 또는 "Raji-HLA-A2") 세포와 1:1 비율로 공동 배양하였으며, CASP3 염색으로 세포독성을 측정하였다. 도 52는 iCAR과 aCAR의 비율 증가에 따라 Raji-A2 보호 효과가 증가함을 보여준다. '오프-종양' 세포에 대한 iCAR 보호는 iCAR/aCAR의 몰 비율 증가와 상관관계를 나타내었다. aCAR 및 iCAR mRNA 둘다를 전기천공 도입한 T 세포에서는 aCAR mRNA만 전기천공 도입한 T 세포와 비교해 Raji 표적 세포에 대한 세포독성이 감소하였으며, 이는 단독 전기천공한 경우의 aCAR 발현 수준에 비해, aCAR 및 iCAR mRNA 둘다가 전기천공된 T 세포에서 보다 낮은 막 상의 aCAR 발현 수준이 요인일 수 있다. 여러가지 건강한 공여자로부터 유래된 PBMC와 다양한 작동자:표적 비율 (E/T) 범위들에서 '오프-종양' 세포에 대한 보호를 확인할 수 있었다.

[1377] aCAR 또는 aCAR과 iCAR (1:5)을 발현하는 작동자 T 세포를 Raji 또는 Raji-A2와 E/T 비율 1, 2 및 5로 공동-배양하였다. 모든 E/T 비율들에서 유의한 보호 효과를 확인할 수 있었다 (도 52). 블랭크 전기천공된 T 세포는 각각의 E/T 비율에서 비-특이적인 살상 백그라운드를 나타내었다. 도 52는 다양한 E/T 비율에서 iCAR이 보호를 제공해줌을 보여준다. 도 52에서, '오프-종양' 세포에 대한 보호는, '오프-종양' 세포를 종양 세포와 혼합한 경우에도 확인되었다. Raji 종양 세포 또는 Raji-A2: Raji '오프-종양'을 Violet CellTrace로 표지하여, 세포 혼합물 4가지들을 준비하였다: 표지된 Raji-A2 + 비-표지된 Raji (1:1 비율); 비-표지된 Raji-A2 + 표지된 Raji (1:1 비율); 표지된 Raji + 비-표지된 Raji (1:1); 표지된 Raji-A2 + 비-표지된 Raji-A2 (1:1). 각각의 혼합물은 작동자 : 표적 1:1 비율로 미리 aCAR 및 iCAR mRNA로 전기천공된 T 세포와 함께 인큐베이션하였다.

[1378] 3시간 공동 배양한 후, 세포를 항-카스파제 3 및 항-CD3로 염색하였다. 각 세포 혼합물에서 카스파제 3를 발현하는 표적 세포 (CD3 음성 세포)의 백분율을 도 53에 제시한다.

[1379] 도 53은 aCAR 및 iCAR mRNA로 전기천공된 T 세포와 공동 배양한 표적 세포에서의 카스파제 3 발현 수준을 보여준다. Raji-V는 Violet CellTrace로 표지된 Raji 세포이다. Raji-A2 V는 Violet CellTrace로 표지된 Raji-A2

세포이다.

[1380] **저속 현미경 CTL**

[1381] 형질도입된 또는 mRNA 전기천공이 수행된 T 세포를 '온-종양' 또는 '오프-종양' 세포와 함께 최대 5일간 인큐베이션하였다. 저속 현미경을 사용해 살상을 가시적으로 관찰하였다. 대안적으로, 종료 시점에 표적 세포 수를 측정하기 위해 생존 세포 수 염색 및 CountBright 비드 (Invitrogen)를 사용한 유세포 분석을 수행하였다.

[1382] 시험관내에서 표적을 구별하는 aCAR/iCAR 형질도입된 T 세포의 효력을 입증하기 위해, 각각의 제조합 표적 세포 ('온-종양' 또는 '오프-종양')를 서로 다른 리포터 단백질 (예, GFP 및 mCherry)로 표지하였다. 하나 또는 2개의 표적 항원을 발현하는 제조합 세포 (표적 세포)의 혼합물과 함께 형질도입된 T-세포 (작동자 세포)를 여러가지 E/T 비율로 공동 배양하였다. 각 세포주의 운명을 현미경 검경으로 추적하였다.

[1383] **사이토카인 방출**

[1384] T-세포가 활성화되면, 세포는 사이토카인을 분비하여, 이를 정량할 수 있으며, 이를 이용해 T-세포 활성화 및 저해를 평가할 수 있다. 사이토카인은 세포내에서 유세포 측정에 의해 또는 ELISA 또는 세포측정 비드 어레이 (CBA) 분석에 의해 배지내 분비된 단백질을 측정함으로써 검출할 수 있다.

[1385] **ELISA에 의한 분비된 사이토카인의 정량**

[1386] iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR과 iCAR 둘다를 발현하는 형질도입된 T-세포 (Jurkat 또는 1차 T-세포)를 iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR과 iCAR 항원 둘다를 세포 표면 상에 발현하는 변형된 표적 세포와 공동 배양한 후, 컨디셔닝화된 배지를 수집하고, 사이토카인 ELISA (제조사 지침 (예, BioLegend 또는 유사 제조사)에 따라 IL-2, IFN  $\gamma$  및/또는 TNF  $\alpha$ ), 및 세포측정 비드 어레이 (Miltenyi 또는 유사품) 분석에 의해 사이토카인의 농도를 측정하였다.

[1387] **IL-2 ELISA에 의해 측정된 iCAR 특이적인 저해**

[1388] 도 16a에 예시된 바와 같이, Jurkat CD19 aCAR 및 Jurkat CD19 aCAR/HLA-A2 iCAR 작동자 세포를 Raji, Raji-HLA-A2 및 Thp1 표적 세포와 공동 배양하고, 해당 상층액을 ELISA에 의한 IL-2 측정을 위해 수집하였다. CD19를 발현하는 Raji 표적 세포 ('종양')와 Jurkat CD19-aCAR/HLA-A2-iCAR의 배양시 IL-2가 분비되었지만, CD19과 HLA-A2 둘다 발현하는 Raji-HLA-A2 표적 세포 ('오프-종양')와 이들 작동자 세포의 배양시에는 IL-2 분비가 80% 이상으로 저해되었다. 반면, CD19 aCAR Jurkat 세포를 Raji 또는 Raji-HLA-A2 표적 세포와 함께 배양한 경우에는 IL-2 분비에 변화가 없었다 (도 16b). 이러한 결과는, 후술한 다른 분석과 더불어, iCAR 구조체가 종양 세포 상에서 발현되지 않는 항원을 발현하는 정상 세포 ('오프-종양')를 특이적으로 보호하는 효과가 있음을 보여준다.

[1389] **유세포 측정에 의한 사이토카인 분비 정량**

[1390] 세포내 사이토카인 측적을 가능하게 하기 위해, 세포 표면 상에 iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR과 iCAR 표적 항원 둘다를 발현하는 제조합 표적 세포와 함께 4-24시간 동안 공동 배양한, iCAR 또는 aCAR 또는 aCAR과 iCAR 둘다를 발현하는 형질도입된 T-세포 (Jurkat 또는 1차 T-세포)에, 골지 수송 차단제 (예, 브레펠딘 A, 모넨신)를 처리하였다. 그런 후, T-세포를 내부 염색 키트 (예, BD bioscience)를 사용해 투과화 및 고정을 수행하고, 항-CD3 및 CD8로 IFN  $\gamma$ 를 염색하였다 (추가적인 사이토카인에 대한 염색, 즉 IL-2, TNF  $\alpha$ 에 대해서도 수행할 수 있음).

[1391] 도 54는 aCAR과 iCAR 둘다가 전기천공된 T 세포에서 이들 2가지 항원 모두를 발현하는 표적 세포로 자극한 후 IFN  $\gamma$  발현이 특이적으로 감소됨을 보여준다. 작동자:표적 비율은 2:1이었다. aCAR:iCAR 비율은 그룹마다 차이가 있었다. 확인된 바와 같이, 최대 저해는 aCAR:iCAR 비율 1:5에서 달성되었다.

[1392] **세포측정 비드 어레이 (CBA) 분석에 의해 측정된 사이토카인 분비**

[1393] 세포측정 비드 어레이 (CBA)는 사이토카인, 케모카인 및 성장인자를 비롯한 다양한 가용성 세포내 단백질을 측정하기 위해 이용하였다.

[1394] aCAR 또는 aCAR과 iCAR 구조체 또는 mRNA가 형질도입 또는 전기천공된 T 세포 (1차 T-세포 또는 Jurkat 세포) (작동자 세포)를, 세포 표면 상에 iCAR과 aCAR 둘다 또는 aCAR 또는 iCAR 표적 항원을 발현하는 변형된 표적 세포로 자극하였다 (도 17a). 수 시간 공동 배양한 후, 작동자 세포는 사이토카인을 생산 및 분비하였으며, 이는 작동자 상태임을 의미한다. 반응 상층액을 수집해, 분비된 IL-2, TNF  $\alpha$  및 IFN  $\gamma$ 를 다중 CBA 분석에 의해 측정

및 정량하였다.

[1395] 도 17b에 나타난 바와 같이, 2종의 표적 항원을 모두 발현하는 표적 세포와 공동 배양한 aCAR/iCAR 형질도입된 Jurkat T 세포의 경우, 특이적인 IL-2 분비 저해가 입증되었다. 듀얼 CAR (aCAR/iCAR) 형질도입된 세포를 2종의 표적 항원 모두를 발현하는 표적 세포와 공동 배양한 경우, 동일한 작동자 세포를 1종의 표적만을 발현하는 표적 세포와 공동 배양하였을 때 발생하는 IL-2 분비와 비교해, IL-2 분비가 86% 감소하였다.

[1396] 도 55는 종양 또는 '오프-종양' 세포와 공동 배양한 전기천공된 T 세포에서의 IFN $\gamma$  및 TNF $\alpha$  분비를 보여준다. 도 55는, aCAR과 iCAR이 전기천공된 T 세포를 '오프-종양' 세포로 자극하면, IFN $\gamma$  및 TNF $\alpha$  사이토카인의 분비가 특이적으로 감소함을 입증해준다. 저해% (표 15)는 다음과 같은 식으로 계산하였다: 저해% = 100 x [1 - (RAJI-A2에서의 농도 / RAJI에서의 농도)].

[1397] 표 15. CBA 분석에 기반한 저해 % 계산 결과

표 15

	aCAR [E:T 5:1]	aCAR iCAR [E:T 5:1]	aCAR [E:T 2:1]	aCAR iCAR [E:T 2:1]	aCAR [E:T 1:1]	aCAR iCAR $\#$ [E:T 1:1]
IFN $\gamma$	17%	85%	31%	96%	32%	96%
TNF $\alpha$	11%	98%	25%	100%	28%	97%

[1399] **NFAT 활성화 분석**

[1400] NFAT 활성화에 의해 측정되는 T-세포 활성화를 측정하기 위해, 표 13에 상세히 나타난 바와 같이, Jurkat-NFAT 세포에 aCAR과 iCAR을 여러가지 조합으로 형질도입하였다. 표 14에 나타난 바와 같이, CD19 aCAR, HLA-A2 iCAR 또는 이 둘다를 발현하는 작동자 Jurkat-NFAT 세포주를 CD19 (Raji 세포-'온-표적'), CD19 및 HLA-A2 (Raji-HLA-A2 '오프-종양') 둘다 또는 HLA-A2 (Thp1 '오프-종양')를 발현하는 표적 세포와 공동 배양하였다. 양성 대조군으로, NFAT 신호전달에 필수적인 칼슘 해리를 촉발하는 PMA 및 이오노마이신의 존재 하에 작동자 세포를 자극하였다. 37°C에서 16시간 배양한 후, BPS Biosciences 키트 "한 단계 루시페라제 분석 시스템"을 제조사의 지침에 따라 사용해 루시페라제를 정량하였다. 예상한 바와 같이, CD19-CAR 구조체를 발현하는 Jurkat NFAT 세포주는 CD19를 발현하는 Raji 세포주의 존재 시 특이적으로 활성화된 반면, 이 세포를 CD19를 발현하지 않는 Thp1 세포주와 공동 배양한 경우에는 활성화는 관찰되지 않았다 (도 18).

[1401] CD19 aCAR 유도된 NFAT 활성화에 대한 HLA-A2 iCAR의 저해 효과는 도 19에서 확인할 수 있다. CD19 aCAR 및 HLA-A2 iCAR 둘다를 발현하는 Jurkat-NFAT-세포주는, CD19 및 HLA-A2를 발현하는 Raji-HLA-A2와 공동 배양하는 경우, CD19만 발현하는 Raji 세포에 의해 유도되는 활성화와 비교하여 특이적으로 저해되었다. 반면, CD19-CAR만 발현하는 Jurkat-NFAT 세포주는 Raji 및 Raji-A2 세포주 둘다에 의해 마찬가지로 활성화되었다. 이러한 상황에서 NFAT 활성화의 저해는 약 30%로 계산되었다 (도 19).

[1402] 여러가지 E/T 비율 효과를 조사하였다. E/T 비율 10:1, 5:1, 1:1로 분석을 수회 반복 실시하였다. 도 20에 제시된 결과는, E/T 비가 높을수록 저해 효과가 증가함을 보여준다. 이러한 결과는 작동자 세포주를 '온-표적' 제시 세포와 공동 배양하는 경우의 평균 발광 값에 대한 '오프-종양' 표적 세포와의 공동 배양시 수득되는 평균 발광 값의 비로서 나타내었다. 확인된 바와 같이, CD19 aCAR 및 HLA-A2 둘다 발현하는 Jurkat-NFAT-세포주는, CD19 및 HLA-A2 단백질을 발현하는 Raji-HLA-A2와 공동 배양시 특이적으로 저해되었지만, 이 세포주를 CD19만 발현하는 Raji 세포주와 공동 배양하는 경우에는 저해가 검출되지 않았다. 반면, CD19 aCAR을 발현하는 Jurkat-NFAT 세포주는, (Raji 또는 Raji-HLA-A2)와 공동 배양하는 경우, CD19을 발현하는 표적 세포주와 무관하게, 동일하게 활성화되었다.

[1403] **CD107a 염색에 의해 측정된 T-세포 탈과립화 분석**

[1404] T 세포의 탈과립화는 리소좀 부속 막 단백질 (LAMP-1)인 CD107a의 표면 발현으로 식별할 수 있다. 표면에 LAMP-1의 발현은 CD8 T 세포 세포독성과 관련 있는 것으로 입증되어 있다. 이 분자는 리소좀의 내강 사이드 상에 위치한다. 활성화되면, CD107a는 활성화된 림프구의 세포막 표면으로 이동한다. CD107a는 세포 표면 상에서 일시적으로 발현되고, 식작용 경로를 통해 빠르게 다시 내재화된다. 따라서, CD107a 검출은 세포 자극시 항체 염색 및 모넨신과 브레펠딘의 첨가 (세포이입된 CD107a 항체 복합체의 산성화와 후속적인 분해를 방지하기 위함)에 의해 최적화할 수 있다.

- [1405] 살상 가능성에 대한 마커로서 과립화 (CD107a). 세포용해성 T 세포의 가장 중요한 기능은 표적 세포를 사멸시키는 능력이다. 세포독성 CD8+ T 림프구는 주요 경로 2가지, 즉 퍼포린-그랜자임-매개의 세포자살 활성화 및 fas-fas 리간드-매개의 세포자살 유도를 통해 표적 세포의 사멸을 매개한다. 이들 경로의 유도는 반응성 CD8+ T 세포로부터 세포용해성 과립의 방출에 의해 좌우된다. 탈과립은 퍼포린-그랜자임-매개 사멸의 전제 조건으로, 반응하는 항원-특이적인 CD8+ T 세포에 의해 매개되는 즉각적 세포용해 기능에 필수적이다. 세포독성에는 작동자 CD8+ T 세포에 의한 단백질 테 노보 합성이 필요하지 않으며; 대신, 세포질 내에 위치한 사전-형성된 세포용해성 과립이 표적 세포 쪽으로 분극화된 방식으로 방출된다. 세포용해성 과립은 퍼포린 및 그랜자임 등의 다양한 단백질들로 구성된 조밀한 코어를 포함하는 막-결합된 분비형 리소좀이다. 과립 코어는 CD107a (LAMP-1), CD107b (LAMP-2) 및 CD63 (LAMP-3) 등의 수많은 리소좀-부속 막 당단백질 (LAMP)을 함유한 지질 이중층에 의해 둘러싸여 있다. 탈과립화 과정 중에, 세포용해성 과립 막은 활성화된 CD8+ T 세포의 원형질 막과 융합하여, 과립의 내용물을 이후 CD8+ T 세포와 표적 세포 사이의 면역학적 시냅스로 방출한다. 이러한 과정의 결과로서, CD107a, CD107b 및 CD63 당단백질 등의 과립 막은, 반응하는 CD8+ T 세포의 원형질 막에 병합된다. 콜히친과 같은 탈과립 저해제가 CD107a 및 CD107b의 세포-표면 발현을 현저하게 감소시키므로, 활성화된 T 세포의 세포 표면 상에서 CD107a 및 CD107b를 다량 발현하기 위해서는 탈과립되어야 한다. 중요한 점은, 이들 단백질이 휴지기 T 림프구 표면에서는 거의 발견되지 않는다는 것이다. 즉, 반응성 세포를 CD107a 및 CD107b에 대한 항체로 표지하고, 유세포 측정으로 이의 발현을 측정함으로써, CD8+ T 세포의 탈과립화를 직접 식별할 수 있다 (Betts and Koup, 2004).
- [1406] 실험 설정:
- [1407] aCAR 또는 iCAR+aCAR/mRNA가 전기천공된 PBMC (작동자 세포)를 여러가지 비율(작동자 세포)에서 세포 표면에서 iCAR+aCAR 또는 aCAR 항원을 발현하는 표적 세포와 공동 배양하였다. 4시간 공동 배양하는 동안에, 작동자 세포는 탈과립하여, CD107a가 세포 표면 상에서 검출되었다. 이러한 발현은 일시적이며, CD107a는 세포이입 경로를 통해 빠르게 다시 내재화된다. 이에, 세포 자극시 항체 염색 및 모넨신 (Cytotfix/Cytoperm BD BD554715) (세포이입된 CD107a 항체 복합체의 산성화와 후속적인 분해를 방지하기 위함) 및 브레펠딘 첨가에 의해 CD107a 검출을 최적화하였다. 4시간 후, 세포를 전술한 바와 같이 고정 및 투과화하고, CD8 마커와 IFN  $\gamma$  를 염색하였다. CD8을 염색하는 이유는 탈과립이 세포독성 세포에만 해당하기 때문이다. IFN  $\gamma$  를 염색하는 이유는, 이것이 CD107 발현 특이성에 대한 양성 대조군으로 사용되기 때문이다. 마지막으로, 세포를 FACS로 분석하고, CD107a를 발현하는 CD8 T 세포의 %를 정량하였다. '오프-중양' 세포의 보호는 저해%로 계산하였다:  $100 * (1 - (\text{Raji-A2와 배양한 T 세포에서의 CD107a} / \text{Raji와 배양한 T 세포에서의 CD107a}))$ . 도 56은 용량 의존적인 방식으로 iCAR 발현이 '오프-중양'을 보호할 수 있음을 보여주는 데이터를 제시한다. 최대 보호는 aCAR : iCAR 1:5 비율에서 관찰되었으며, CD107a 발현을 85% 저해하였다 (도 56).
- [1408] 듀얼 CAR T 세포 (aCAR 및 iCAR을 발현하는 T 세포)가 표적 세포와 혼합되었을 때 표적 세포를 인지할 수 있는지를 확인하기 위한 실험. 대조군 T 세포 (EP 단독), aCAR을 단독으로 발현하는 T 세포 또는 듀얼 CAR 발현성 T 세포 (iCAR : aCAR 5:1)를 Raji 단독, Raji-A2 단독 또는 Raji와 Raji-A2 1:1 혼합물과 함께 인큐베이션하였다. Raji와 Raji-A2 1:1 혼합물은 Raji 단독 조건과 비교해 Raji 세포를 절반으로만 포함하였다. aCAR을 단독으로 발현하는 T 세포는 모든 조건들에서 비슷하게 활성화되었다. 음성 대조군 T 세포는 어떤 조건에서도 활성화되지 않았다. 그러나, 듀얼 CAR T 세포는 Raji 존재 하에 활성화를 나타내었으며, Raji-A2의 존재 하에서는 유의한 활성화를 나타내지 않았고, Raji 및 Raji-A2 1:1 혼합물 조건에서는 중간 수준으로 활성화되었으며, 이는 듀얼 CAR이 Raji 세포에 의해서만 활성화되고, Raji-A2 존재가 Raji 세포에 대한 효능을 감소시키지 않는다는 것을 시사해준다 (도 57).
- [1409] 도 57은 2종의 CAR (aCAR 및 iCAR)을 발현하는 T 세포가 표적 세포와 각각 또는 표적 세포 혼합물과 공동 배양하였을 때 중양 세포를 '오프-중양' 세포로부터 구별할 수 있음을 보여주는 데이터를 제시한다.
- [1410] 실시예 9. 생체내 모델
- [1411] 인간 이중이식 마우스 모델에서의 생체내 CTL 분석
- [1412] aCAR 및 iCAR 구조체 둘다 발현하는 T-세포가 동일한 유기체에서 표적 세포를 '오프-표적' 세포와 구별하여 표적 세포는 사멸시키면서 '오프-표적' 세포는 효과적으로 보존할 수 있는지를 확인하기 위한 실험을 생체내 CTL 분석으로 조사하였다.
- [1413] iCAR 또는 aCAR 또는 iCAR과 aCAR 둘다가 형질도입된 T 세포를 나이브 NOD/SCID/  $\gamma c^-$  또는 유사 마우스에 i.v.

주사하였다. 수 시간 후, iCAR, aCAR 또는 이 둘다를 발현하는 표적 세포를 주사하였다. 이들 표적은 CFSE/CPDE 또는 비슷한 세포 추적 염료를 여러가지 농도 (고, 중, 저)로 사용해 표지하여, 이를 추가적으로 구별할 수 있게 하였다. 표적 세포를 주사한 후 18시간 경과시, 마우스를 희생시키고, 비장을 분리하여, FACS에 의해 특이적인 표적 세포의 제거를 평가하였다. 특이적인 사멸 %는 다음의 식에 따라 계산하였다:

$$\left\{ 1 - \left[ \frac{\%pop_{high}(day1)}{\%pop_{high}(day0)} \div \frac{\%pop_{medium}(day1)}{\%pop_{medium}(day0)} \right] \right\} \times 100$$

[1414]

[1415] **인간 이중 이식 마우스 모델에서의 종양 증식 동역학**

[1415]

[1416] NOD/SCID/γc- 또는 유사 마우스에 종양 세포를 접종하였다. 접종은 i.p/i.v. 또는 s.c일 수 있다. 이 종양 세포는 iCAR 표적, aCAR 표적 또는 이 둘다를 발현한다. 가능한 aCAR 종양 세포주에 대한 일 예는 CD19 양성 NALM 6 (ATCC, 인간 BALL 세포주)일 수 있다. 가능한 aCAR 종양 세포주에 대한 예는 EGFR 및 HER2 양성 세포주, A549, A431, Fadu, SK-OV-3, U-87, MCF7, MDA-MB-231 및/또는 NCI-H460 (ATCC 세포주)일 수 있다. aCAR과 iCAR 둘다 발현하는 종양 세포 (즉, '오프-종양' 세포)에 대한 예는 iCAR 에피토프 (예, HLA-A2)를 발현하여 건강한 세포를 나타내도록 조작된 NALM 6이다. aCAR과 iCAR 둘다 발현하는 종양 세포 (즉, '오프-종양' 세포)에 대한 다른 예는 iCAR 에피토프 (예, HLA-A2)를 발현하여 건강한 세포를 나타내도록 조작된 A549, A431, Fadu, SK-OV-3, U-87, MCF7, MDA-MB-231 및/또는 NCI-H460 중 어느 하나일 수 있다.

[1416]

[1417]

NALM 6 및 NALM 6-HLA-A2; A549 및 A549-HLA-A2; A431 및 A431-HLA-A2; Fadu 및 Fadu-HLA-A2; SK-OV-3 및 SK-OV-3-HLA-A2; 또는 NCI-H460 및 NCI-H460-HLA-A2는 용이한 검출을 위해 리포터 유전자 (예, 반딧불이 루시페라제)를 발현하도록 또한 조작할 수 있다. 마우스는, 표적 세포를 가능한 모든 조합으로 접종하는 여러가지 실험 군들로 나누었다. 예를 들어, 하나의 군에는 NALM 6 세포를 주사하고 다른 군에는 iCAR 에피토프를 발현하는 NALM-6을 주사하였다. 며칠 후, 종양이 이미 확립되었으며, 마우스에 aCAR, 또는 aCAR/iCAR, 또는 iCAR로 형질 도입된 T-세포를 정맥내 주입하였다. 또한, 대조군으로서, 형질도입되지 않은 T-세포, T-세포 무침가 및 신호전달 도메인이 없는 형질도입된 T-세포도 포함시켰다. 종양이 실험 종료 시점, 즉 종양의 최대 허용 체적에 도달할 때까지 마우스를 모니터링하였다. 모니터링은 기계적 수단 (캘리퍼)을 사용해 종양 체적을 측정함으로써, 또한 생체내 이미징 시스템 (IVIS)을 사용해 수행하였다. 종료 당일, 마우스를 희생시키고, 종양 부담을 정량하였으며, 침윤성 T-세포 집단을 FACS에 의해 분석하였다. iCAR 구조체를 발현하는 T-세포가 동일한 유기체에서 표적 세포와 '오프-표적' 세포를 구별할 수 있는 지를 확인하기 위해, 마우스에 여러가지 비율의 '온-종양' / '오프-종양' NALM-6 세포 혼합물을 몇가지 가능한 혼합물로 주사한 다음 aCAR 단독 또는 aCAR과 iCAR 둘다를 발현하는 형질도입된 T-세포를 주사하였다. 마우스를 희생시킨 후, 비장 및 골수에서 '온-종양' 및 '오프-종양' 세포의 존재를 마커 2종, 즉 CD19 및 iCAR 에피토프에 대한 유세포 측정으로 분석하였다.

[1418]

[1418] **형질전환 마우스 모델에서 독성 및 종양 증식 동역학**

[1419]

인간 aCAR 및 iCAR 표적을 발현하는 형질전환 마우스를 이용해, 형질도입된 T-세포의 효능을 결정하였다. 이러한 설정에서, 마우스는 완전한 기능성 면역 시스템을 가지고 있어, iCAR/aCAR 형질도입된 T-세포의 잠재적 독성을 평가할 수 있다. CAR 구조체는 인간 항원과 매칭되는 scFv를 포함하지만, 신호전달 도메인은 무라인 T-세포를 활성화 또는 저해하도록 변형되었다. 이러한 모델에 대한 일 예는 유일한 인간 HLA-A2 분자를 발현하고 그외 모든 단백질은 무라인으로부터 유래되는 HHD-HLA-A2 마우스이다. CD19 aCAR의 scFv는 이 경우 무라인 CD19 상동체를 겨냥하게 된다. HLA 분자가 결핍된 인간 표적 세포 (예, LCL 721.221 세포 또는 CIR-neoATCC® CRL-2369™ 또는 유사 세포)를 이용하였다. 표적 세포는 무라인 CD19를 발현하도록 변형되었다. 이 시스템으로 효능 및 독성 문제를 모니터링할 수 있다.

[1420]

[1420] **mAbs 생산**

[1421]

여러가지 종양들에서 동정된 보존 및 소실된 대립유전자 변이체 쌍 수종을 선택하였으며, 이들의 폴리펩타이드 산물을 mAb 생산 기법을 이용한 변이체 특이적인 mAb를 생산하는데 이용하였다. 후보 mAb의 관별력은 선택된 대립유전자를 발현하는 재조합 세포주에 대한 결합을 측정하는, 이중 염색 및 유세포 측정 실험 또는 면역조직화학적 방법으로 분석하였다.

[1422]

[1422] **실시예 10. ACAR/ICAR 쌍 식별**

[1423]

aCAR/iCAR 쌍 식별

[1424] 잠재적인 iCAR 표적을 동정한 후, 다음으로 잠재적인 aCAR/iCAR 쌍 목록을 확립하고자 하였으며, aCAR 표적은 표적 조직에서 고도로 발현되고 iCAR 표적은 비-표적 조직에서 고도로 발현되는 것이 바람직한 쌍이다. 이를 위해, 각각의 iCAR 및 aCAR 후보 항원에 대한 조직 발현성을 GTEX 데이터베이스를 이용해 분석하였다. aCAR 표적은 임상적으로 개발된 aCAR 표적 및 이의 매칭되는 암 적응증에 대한 문헌 리뷰로부터 입수하였고, iCAR 표적은 전술한 분석으로부터 입수하였다.

[1425] 이를 고려해, 각각의 iCAR-aCAR-종양 유형 3인조에 몇가지 지표로 주석을 기재하였다:

[1426] (i) aCAT 표적이 발현되는 조직의 수

[1427] (ii) iCAR 표적이 발현되는 조직의 수

[1428] (iii) iCAR이 aCAR (발현 임계값 아님)보다 더 많이 발현되는 조직의 수

[1429] (iv) iCAR이 aCAT보다 더 많이 발현되고 aCAR이 백그라운드 수준보다 높은 수준으로 발현되는 조직의 수.

[1430] 이들 모든 경우들에서, 발현 임계값은 GTEX 데이터베이스에서 백그라운드 노이즈 수준에 근접한 1 RPKM이었다.

[1431] 본 발명자들은 iCAR-aCAR-종양 유형 3인조 총 71,910개를 동정하였으며 (본 명세서와 함께 제출된 긴 표에 제시됨), 이는 개별 iCAR 유전자 표적 598종 (도 22 참조), aCAR 유전자 표적 49종 (도 23 참조) 및 종양 유형 27종 (도 24 참조)에 해당한다.

[1432] 추가적인 표적 우선 순위 평가를 의학적으로 충족되지 못한 요구, 항원의 활성 및 저해 영향과 같은 다양한 특성들에 대한 문헌 리뷰를 통해 수행하였다.

[1433] **실시예 11. 추가적인 ACAR/ICAR 쌍 식별**

[1434] iCAR 표적 수중에 대해 결장, 위, 췌장, 간, 신장, 폐 및 유방 암과 같은 몇가지 적응증을 치료하는데 있어 몇가지 aCAR 표적과의 조합을 분석하였다. 선택한 aCAR은 EGFR, Her2, CEACAM5 및 메소텔린이었다. 선택한 iCAR은 HLA-A를 제외한, CDH11, CDH5, CLDN8, DCC, DCSH1, FAT4, GGT1, GGT5, ITGA3, ITGA9, PTPRG, ROBO2 및 TUSC5 이었다. 이들 쌍들의 최종 목록을 아래 표 16에 열거한다.

[1435] **표 16. 적응증에 따른 선택 aCAR과 새로운 iCAR의 조합들**

**표 16**

iCAR	aCAR	적응증	iCAR SNP	대립유전자 빈도	LOH 비율
CDH11	CEA	lusc	p.Met275Ile	0.181	0.318
CDH11	CEA	lusc	p.Thr255Met	0.273	0.318
CDH11	CEA	luad	p.Met275Ile	0.181	0.255
CDH11	CEA	luad	p.Thr255Met	0.273	0.255
CDH11	CEA	stad	p.Met275Ile	0.181	0.294
CDH11	CEA	stad	p.Thr255Met	0.273	0.294
CDH11	CEA	brca	p.Met275Ile	0.181	0.618
CDH11	CEA	brca	p.Thr255Met	0.273	0.618
CDH11	EGFR	luad	p.Met275Ile	0.181	0.255
CDH11	EGFR	luad	p.Thr255Met	0.273	0.255
CDH11	EGFR	lusc	p.Met275Ile	0.181	0.318
CDH11	EGFR	lusc	p.Thr255Met	0.273	0.318
CDH11	HER2	brca	p.Met275Ile	0.181	0.618
CDH11	HER2	brca	p.Thr255Met	0.273	0.618
CDH11	메소텔린	luad	p.Met275Ile	0.181	0.255
CDH11	메소텔린	luad	p.Thr255Met	0.273	0.255
CDH11	메소텔린	lusc	p.Met275Ile	0.181	0.318
CDH11	메소텔린	lusc	p.Thr255Met	0.273	0.318
CDH5	CEA	lusc	p.Ile517Thr	0.721	0.318
CDH5	CEA	luad	p.Ile517Thr	0.721	0.255
CDH5	CEA	stad	p.Ile517Thr	0.721	0.288
CDH5	CEA	brca	p.Ile517Thr	0.721	0.620
CDH5	EGFR	luad	p.Ile517Thr	0.721	0.255
CDH5	EGFR	lusc	p.Ile517Thr	0.721	0.318

CDH5	HER2	brca	p.Ile517Thr	0.721	0.620
CDH5	메소텔린	luad	p.Ile517Thr	0.721	0.255
CDH5	메소텔린	lusc	p.Ile517Thr	0.721	0.318
CLDN8	CEA	lusc	p.Ser151Pro	0.297	0.488
CLDN8	CEA	luad	p.Ser151Pro	0.297	0.285
CLDN8	CEA	coadread	p.Ser151Pro	0.297	0.366
CLDN8	CEA	stad	p.Ser151Pro	0.297	0.405
CLDN8	CEA	paad	p.Ser151Pro	0.297	0.264
CLDN8	EGFR	coadread	p.Ser151Pro	0.297	0.366
CLDN8	EGFR	luad	p.Ser151Pro	0.297	0.285
CLDN8	EGFR	lusc	p.Ser151Pro	0.297	0.488
CLDN8	EGFR	paad	p.Ser151Pro	0.297	0.264
CLDN8	EGFR	kirp	p.Ser151Pro	0.297	0.288
CLDN8	HER2	coadread	p.Ser151Pro	0.297	0.366
CLDN8	메소텔린	luad	p.Ser151Pro	0.297	0.285
CLDN8	메소텔린	lusc	p.Ser151Pro	0.297	0.488
CLDN8	메소텔린	paad	p.Ser151Pro	0.297	0.264
DCC	CEA	lusc	p.Arg201Gly	0.444	0.488
DCC	CEA	luad	p.Arg201Gly	0.444	0.493
DCC	CEA	coadread	p.Arg201Gly	0.444	0.801
DCC	CEA	stad	p.Arg201Gly	0.444	0.544
DCC	CEA	brca	p.Arg201Gly	0.444	0.381
DCC	CEA	paad	p.Arg201Gly	0.444	0.720
DCC	EGFR	coadread	p.Arg201Gly	0.444	0.801
DCC	EGFR	luad	p.Arg201Gly	0.444	0.493
DCC	EGFR	lusc	p.Arg201Gly	0.444	0.488
DCC	EGFR	paad	p.Arg201Gly	0.444	0.720
DCC	EGFR	kirc	p.Arg201Gly	0.444	0.209
DCC	EGFR	kirp	p.Arg201Gly	0.444	0.312
DCC	HER2	brca	p.Arg201Gly	0.444	0.381
DCC	HER2	coadread	p.Arg201Gly	0.444	0.801
DCC	메소텔린	luad	p.Arg201Gly	0.444	0.493
DCC	메소텔린	lusc	p.Arg201Gly	0.444	0.488
DCC	메소텔린	paad	p.Arg201Gly	0.444	0.720
DCHS1	CEA	lusc	p.Thr1949Met	0.354	0.436
DCHS1	CEA	luad	p.Thr1949Met	0.354	0.243
DCHS1	CEA	stad	p.Thr1949Met	0.354	0.217
DCHS1	CEA	brca	p.Thr1949Met	0.354	0.290
DCHS1	EGFR	luad	p.Thr1949Met	0.354	0.243
DCHS1	EGFR	lusc	p.Thr1949Met	0.354	0.436
DCHS1	EGFR	kirp	p.Thr1949Met	0.354	0.210
DCHS1	HER2	brca	p.Thr1949Met	0.354	0.290
DCHS1	메소텔린	luad	p.Thr1949Met	0.354	0.243
DCHS1	메소텔린	lusc	p.Thr1949Met	0.354	0.436
FAT4	CEA	lusc	p.Gly3524Asp	0.267	0.682
FAT4	CEA	luad	p.Gly3524Asp	0.267	0.471
FAT4	CEA	coadread	p.Gly3524Asp	0.267	0.536
FAT4	CEA	stad	p.Gly3524Asp	0.267	0.513
FAT4	CEA	brca	p.Gly3524Asp	0.267	0.382
FAT4	EGFR	coadread	p.Gly3524Asp	0.267	0.536
FAT4	EGFR	luad	p.Gly3524Asp	0.267	0.471
FAT4	EGFR	lusc	p.Gly3524Asp	0.267	0.682
FAT4	EGFR	kirc	p.Gly3524Asp	0.267	0.285
FAT4	EGFR	kirp	p.Gly3524Asp	0.267	0.332
FAT4	HER2	brca	p.Gly3524Asp	0.267	0.382
FAT4	HER2	coadread	p.Gly3524Asp	0.267	0.536
FAT4	메소텔린	luad	p.Gly3524Asp	0.267	0.471
FAT4	메소텔린	lusc	p.Gly3524Asp	0.267	0.682

GGT1	CEA	luad	p.Val272Ala	0.192	0.363
GGT1	CEA	coadread	p.Val272Ala	0.192	0.391
GGT1	CEA	stad	p.Val272Ala	0.192	0.314
GGT1	CEA	brca	p.Val272Ala	0.192	0.421
GGT1	CEA	paad	p.Val272Ala	0.192	0.220
GGT1	EGFR	coadread	p.Val272Ala	0.192	0.391
GGT1	EGFR	luad	p.Val272Ala	0.192	0.363
GGT1	EGFR	paad	p.Val272Ala	0.192	0.220
GGT1	EGFR	kirp	p.Val272Ala	0.192	0.437
GGT1	HER2	brca	p.Val272Ala	0.192	0.421
GGT1	HER2	coadread	p.Val272Ala	0.192	0.391
GGT1	메소텔린	luad	p.Val272Ala	0.192	0.363
GGT1	메소텔린	paad	p.Val272Ala	0.192	0.220
GGT5	CEA	luad	p.Lys330Arg	0.292	0.361
GGT5	CEA	coadread	p.Lys330Arg	0.292	0.394
GGT5	CEA	stad	p.Lys330Arg	0.292	0.314
GGT5	CEA	brca	p.Lys330Arg	0.292	0.425
GGT5	CEA	paad	p.Lys330Arg	0.292	0.214
GGT5	EGFR	coadread	p.Lys330Arg	0.292	0.394
GGT5	EGFR	luad	p.Lys330Arg	0.292	0.361
GGT5	EGFR	paad	p.Lys330Arg	0.292	0.214
GGT5	EGFR	kirp	p.Lys330Arg	0.292	0.437
GGT5	HER2	brca	p.Lys330Arg	0.292	0.425
GGT5	HER2	coadread	p.Lys330Arg	0.292	0.394
GGT5	메소텔린	luad	p.Lys330Arg	0.292	0.361
GGT5	메소텔린	paad	p.Lys330Arg	0.292	0.214
ITGA3	CEA	brca	p.Ala719Thr	0.138	0.215
ITGA3	HER2	brca	p.Ala719Thr	0.138	0.215
ITGA9	CEA	lusc	p.Gly507Glu	0.571	0.820
ITGA9	CEA	luad	p.Gly507Glu	0.571	0.445
ITGA9	CEA	coadread	p.Gly507Glu	0.571	0.204
ITGA9	CEA	stad	p.Gly507Glu	0.571	0.330
ITGA9	CEA	brca	p.Gly507Glu	0.571	0.275
ITGA9	EGFR	coadread	p.Gly507Glu	0.571	0.204
ITGA9	EGFR	luad	p.Gly507Glu	0.571	0.445
ITGA9	EGFR	lusc	p.Gly507Glu	0.571	0.820
ITGA9	EGFR	kirc	p.Gly507Glu	0.571	0.874
ITGA9	HER2	brca	p.Gly507Glu	0.571	0.275
ITGA9	HER2	coadread	p.Gly507Glu	0.571	0.204
ITGA9	메소텔린	luad	p.Gly507Glu	0.571	0.445
ITGA9	메소텔린	lusc	p.Gly507Glu	0.571	0.820
PTPRG	CEA	lusc	p.Gly574Ser	0.140	0.864
PTPRG	CEA	lusc	p.Tyr92His	0.115	0.864
PTPRG	CEA	luad	p.Gly574Ser	0.140	0.453
PTPRG	CEA	luad	p.Tyr92His	0.115	0.453
PTPRG	CEA	coadread	p.Gly574Ser	0.140	0.235
PTPRG	CEA	coadread	p.Tyr92His	0.115	0.235
PTPRG	CEA	stad	p.Gly574Ser	0.140	0.358
PTPRG	CEA	stad	p.Tyr92His	0.115	0.358
PTPRG	CEA	brca	p.Gly574Ser	0.140	0.339
PTPRG	CEA	brca	p.Tyr92His	0.115	0.339
PTPRG	CEA	paad	p.Gly574Ser	0.140	0.209
PTPRG	CEA	paad	p.Tyr92His	0.115	0.209
PTPRG	EGFR	coadread	p.Gly574Ser	0.140	0.235
PTPRG	EGFR	coadread	p.Tyr92His	0.115	0.235
PTPRG	EGFR	luad	p.Gly574Ser	0.140	0.453
PTPRG	EGFR	luad	p.Tyr92His	0.115	0.453
PTPRG	EGFR	lusc	p.Gly574Ser	0.140	0.864

PTPRG	EGFR	lusc	p.Tyr92His	0.115	0.864
PTPRG	EGFR	paad	p.Gly574Ser	0.140	0.209
PTPRG	EGFR	paad	p.Tyr92His	0.115	0.209
PTPRG	EGFR	kirc	p.Gly574Ser	0.140	0.828
PTPRG	EGFR	kirc	p.Tyr92His	0.115	0.828
PTPRG	HER2	brca	p.Gly574Ser	0.140	0.339
PTPRG	HER2	brca	p.Tyr92His	0.115	0.339
PTPRG	HER2	coadread	p.Gly574Ser	0.140	0.235
PTPRG	HER2	coadread	p.Tyr92His	0.115	0.235
PTPRG	메소텔린	luad	p.Gly574Ser	0.140	0.453
PTPRG	메소텔린	luad	p.Tyr92His	0.115	0.453
PTPRG	메소텔린	lusc	p.Gly574Ser	0.140	0.864
PTPRG	메소텔린	lusc	p.Tyr92His	0.115	0.864
PTPRG	메소텔린	paad	p.Gly574Ser	0.140	0.209
PTPRG	메소텔린	paad	p.Tyr92His	0.115	0.209
ROBO2	CEA	lusc	p.Val25Met	0.381	0.930
ROBO2	CEA	luad	p.Val25Met	0.381	0.451
ROBO2	CEA	coadread	p.Val25Met	0.381	0.238
ROBO2	CEA	stad	p.Val25Met	0.381	0.341
ROBO2	CEA	brca	p.Val25Met	0.381	0.338
ROBO2	CEA	paad	p.Val25Met	0.381	0.220
ROBO2	EGFR	coadread	p.Val25Met	0.381	0.238
ROBO2	EGFR	luad	p.Val25Met	0.381	0.451
ROBO2	EGFR	lusc	p.Val25Met	0.381	0.930
ROBO2	EGFR	paad	p.Val25Met	0.381	0.220
ROBO2	EGFR	kirc	p.Val25Met	0.381	0.709
ROBO2	HER2	brca	p.Val25Met	0.381	0.338
ROBO2	HER2	coadread	p.Val25Met	0.381	0.238
ROBO2	메소텔린	luad	p.Val25Met	0.381	0.451
ROBO2	메소텔린	lusc	p.Val25Met	0.381	0.930
ROBO2	메소텔린	paad	p.Val25Met	0.381	0.220
TUSC5	CEA	lusc	p.Ser57Gly	0.773	0.574
TUSC5	CEA	lusc	p.Phe20Ser	0.790	0.574
TUSC5	CEA	luad	p.Ser57Gly	0.773	0.527
TUSC5	CEA	luad	p.Phe20Ser	0.790	0.527
TUSC5	CEA	coadread	p.Ser57Gly	0.773	0.603
TUSC5	CEA	coadread	p.Phe20Ser	0.790	0.603
TUSC5	CEA	stad	p.Ser57Gly	0.773	0.394
TUSC5	CEA	stad	p.Phe20Ser	0.790	0.394
TUSC5	CEA	brca	p.Ser57Gly	0.773	0.578
TUSC5	CEA	brca	p.Phe20Ser	0.790	0.578
TUSC5	CEA	paad	p.Ser57Gly	0.773	0.473
TUSC5	CEA	paad	p.Phe20Ser	0.790	0.473
TUSC5	EGFR	coadread	p.Ser57Gly	0.773	0.603
TUSC5	EGFR	coadread	p.Phe20Ser	0.790	0.603
TUSC5	EGFR	luad	p.Ser57Gly	0.773	0.527
TUSC5	EGFR	luad	p.Phe20Ser	0.790	0.527
TUSC5	EGFR	lusc	p.Ser57Gly	0.773	0.574
TUSC5	EGFR	lusc	p.Phe20Ser	0.790	0.574
TUSC5	EGFR	paad	p.Ser57Gly	0.773	0.473
TUSC5	EGFR	paad	p.Phe20Ser	0.790	0.473
TUSC5	HER2	brca	p.Ser57Gly	0.773	0.578
TUSC5	HER2	brca	p.Phe20Ser	0.790	0.578
TUSC5	HER2	coadread	p.Ser57Gly	0.773	0.603
TUSC5	HER2	coadread	p.Phe20Ser	0.790	0.603
TUSC5	메소텔린	luad	p.Ser57Gly	0.773	0.527
TUSC5	메소텔린	luad	p.Phe20Ser	0.790	0.527
TUSC5	메소텔린	lusc	p.Ser57Gly	0.773	0.574

TUSC5	메소텔린	lusc	p.Phe20Ser	0.790	0.574
TUSC5	메소텔린	paad	p.Ser57Gly	0.773	0.473
TUSC5	메소텔린	paad	p.Phe20Ser	0.790	0.473

[1437] 표 17. 표 16의 약어

표 17

[1438]

실험 약어	실험 명칭
LAML	급성 골수성 백혈병
ACC	부신피질 암종
BLCA	방광 요로상피 암종
LGG	뇌 저등급 신경교종
BRCA	유방 침윤성 암종
CESC	자궁경부 편평 세포암 및 자궁경관 선암종
CHOL	담도암
LCML	만성 골수성 백혈병
COAD	결장 선암종
CNTL	대조군
ESCA	식도 암종
FPPP	FFPE 파일럿 단계 II
GBM	다형성 교모세포종
HNSC	두경부 편평 세포암
KICH	신장 비염색성 세포
KIRC	신장 투명 신세포 암종
KIRP	신장 유두상 신세포 암종
LIHC	간 간세포암
LUAD	폐 선암종
LUSC	폐 편평 세포암
DLBC	림프 신생물 미만성 거대 B 세포 림프종
MESO	중피종
MISC	다양한
OV	난소 장액성 낭성암종
PAAD	췌장 선암종
PCPG	갈색세포종 및 부신경절종
PRAD	전립선 선암종
READ	직장 선암종
SARC	육종
SKCM	피부 흑색종
STAD	위 선암종
TGCT	고환 생식세포종
THYM	흉선종
THCA	갑상선 암종
UCS	자궁 암육종
UCEC	자궁 체부 자궁내막 암종
UVM	포도막 흑색종

[1439] HLA-A2 iCAR 보호 효과가 Jurkat 안정적인 세포주에서 입증되었다 - IL-2 분비를 통한 NFAT 활성화.

[1440] 사멸 분석: CD8+ T 세포가 필요하는 것으로 입증되었다.

[1441] CAR은 하기에 의해 투여할 수 있다:

[1442] · 바이러스성 형질도입 - PBMC에 대한 캘리브레이션이 진행중임

[1443] · mRNA 전기천공 - PBMC에 대한 캘리브레이션이 완료됨

[1444] 전기천공된 PBMC는 카스파제 및 CD107 사멸 분석에 이용하였다.

- [1445] 이들 분석에서 >80% 특이적인 보호가 입증되었다.
- [1446] 결과: 표적 세포의 사멸은 하기를 통해 입증됨
- [1447] · 카스파제 3
- [1448] · 아넥신-PI
- [1449] 결과: 작동자 세포의 활성화는 하기를 통해 입증됨
- [1450] · CD107 분석
- [1451] · CBA (세포측정 비드 어레이 분석) - IFN  $\gamma$ , IL-2, TNF  $\alpha$
- [1452] 추가적인 실험으로 aCAR 및 iCAR 구조체의 안정성 및 카이네틱스를 조사하였다.
- [1453] 추가적인 실험으로 여러가지 공여자로부터 수득한 PBMC를 이용해 특이적인 보호를 입증하였다. 추가적인 실험으로 바이러스성 형질도입을 보정하였다. aCAR 및 iCAR 둘다를 코딩하는 바이러스 벡터를 추가적으로 구축하였으며, 계속 진행하였다.
- [1454] 실시예 12: 양쪽-대립유전자 발현 검증 (BI-ALLELIC EXPRESSION VALIDATION)
- [1455] 선택한 iCAR 후보에 대한 양쪽 대립유전자의 발현을 조사 및 검증하기 위해, 관련 샘플에서 RNA-Seq 실험의 이용가능한 데이터셋을 조사하였다. 먼저, GEO (NCBI) 포털을 이용해, 이용가능한 RNA-Seq 데이터와 매칭되는 종양-정상 샘플에 대한 거대 (샘플 >20종) 데이터셋을 동정하였다. 원 서열분석 데이터 (fastq)를 SRA (NCBI)로부터 내려받았으며, 각 샘플을 BWA-GATK 파이프라인을 이용해 분석하여, 총 변이체 호출을 생성하였다.
- [1456] iCAR 후보 리스트의 각각의 SNP에 대해, 변이체 호출은 샘플 당 리드 분포 (기준 대립유전자를 지원하는 리드의 수 및 대체 대립유전자를 지원하는 리드의 수)와 함께 추출하였다. 종양-정상 쌍들 간의 대체 대립유전자의 %로 표시되는 리드 분포를 비교함으로써, SNP에 대해 명백하게 이형접합체인 정상 샘플을 동정할 수 있었으며, 이후 기준 대립유전자 또는 대체 대립유전자에 대해 이형접합체에서 동형접합체 쪽으로의 명확한 편향성을 나타내는 매칭되는 종양 샘플을 동정하였다.
- [1457] 새로운 iCAR 후보에 대한 양쪽-대립유전자 발현 증거 요약
- [1458] 생물정보 분석에 기반하여 iCAR 표적으로서 가능성있는 후보 1000종 이상으로 구성된 패널을 동정하였으며, 이후 양쪽 대립유전자를 가진 정상 조직 상에서 발현되는 iCAR이기 위한 전체 조건인, 짧은 iCAR 후보 목록들에서 양쪽-대립유전자 발현에 대한 추가적으로 증거를 동정하기 위해 설정하였다. 이를 위해, 먼저 종양-정상 RNA-Seq 실험의 대규모 (샘플 >20종) 데이터셋을 확보하기 위한 목적으로 GEO 데이터베이스를 검색하였다 (World Wide Web [ncbi.nlm.nih.gov/geo/](http://ncbi.nlm.nih.gov/geo/)). 그런 후, 해당 샘플 세트의 원 서열분석 데이터 (fastq)를 SRA (World Wide Web at [ncbi.nlm.nih.gov/sra/](http://ncbi.nlm.nih.gov/sra/))에서 내려받았다.
- [1459] 원 데이터는 BWA를 사용해 기준 게놈에 대해 리드를 정렬한 다음, GATK를 사용해 각 샘플의 생성된 BAM 파일로부터 직접 변이를 호출하였다. 마지막으로, iCAR 후보 목록에서 각 SNP에 대해 다음과 같은 데이터를 추출하였다:
- [1460] · 변이 호출 (유전자형, 이형접합성 또는 동형접합성)
- [1461] · 샘플 당 리드 분포 (기준 대립유전자를 지원하는 리드 #; 대체 대립유전자를 지원하는 리드 #)
- [1462] · 정상-종양 쌍에 대한 리드 분포 (대립유전자에서 %).
- [1463] RNA-seq 실험의 데이터셋별 검색 결과를 요약하면, SNP에서 명백한 이형접합성 호출을 나타낸 정상 세포의 수는 이형접합성 호출로부터 명백한 편향성을 가진 매칭되는 종양 샘플의 수와 함께 추출되었으며, 실제 종양 샘플에서 이형접합성 소실을 뒷받침하였다.
- [1464] 매칭되는 정상, 원발성 CRC 및 전이로 구성된 트리플렛 18종을 포함하는 결장암의 대규모 RNA-Seq 세트에 대한 결과는, World Wide Web at [ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE50760](http://ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE50760)에서 입수할 수 있다.
- [1465] 정상 샘플 18개 중, CDH11 (p.Thr255Met), CLDN8 (p.Ser151Pro), GGT1 (p.Val272Ala), GGT5 (p.Lys330Arg) 및 PTPRG (p.Gly574Ser)에서 양쪽-대립유전자 발현에 대한 고 품질의 증거를 동정할 수 있었다. 샘플 출처와 관계 없이 양쪽-대립유전자 발현에 대한 추가적인 증거는 FAT4 및 ICOSLG에서도 동정되었지만, 신뢰성이 떨어졌다.

매칭되는 종양 샘플에서 LOH 증거를 탐색하기 위한 변이 세포 분석은 진행 중이다.

[1466] 실시예 13 - 추가적인 iCAR 후보

[1467] 본 발명자들은, "암 소인"이라는 키워드를 사용해 ClinVar를 검색하고, 프래임쉬프트/넌센스/스플라이스-사이트 병원성 돌연변이로 필터링을 수행하였다. 이러한 검색으로, 유전자 63종에서 ClinVar 엔트리 >5000개가 확보되었다. 이들 유전자 63종은 Uniprot에서 인간 단백질 엔트리 60종과 매칭되었다.

[1468] 유전자 온톨로지의 세포 구획 주석에서 "원형질막"을 검색하여 단백질 엔트리 16종을 확보하였으며, 이중 4종은 막관통 단백질 - BMPRI1A, CDH1, PTCH1, TMEM127이었다.

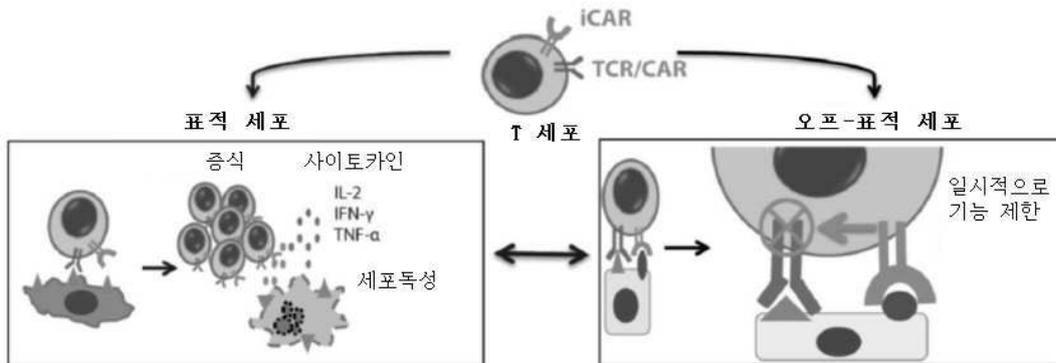
[1469] 모든 제목 및 섹션 지정은 명확하게 기술하고 참조하기 위한 목적으로만 사용되며, 어떤 방식으로든 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다. 예를 들어, 당해 기술 분야의 당업자라면 본원에 기술된 본 발명의 사상 및 범위에 따라 적절한 경우 다른 제목 및 섹션들의 다양한 측면들과 조합하여 이용할 수 있음을 이해할 것이다.

[1470] 본원에 인용된 모든 참조문헌들은 각각의 개별 간행물 또는 특허 또는 특허 출원이 모든 목적으로 그 전체 내용이 원용에 의해 포함되는 것으로 구체적으로, 그리고 개별적으로 지시된 것과 같이 동일한 수준으로 모든 목적으로 그 전체 내용이 원용에 의해 본 명세서에 포함된다.

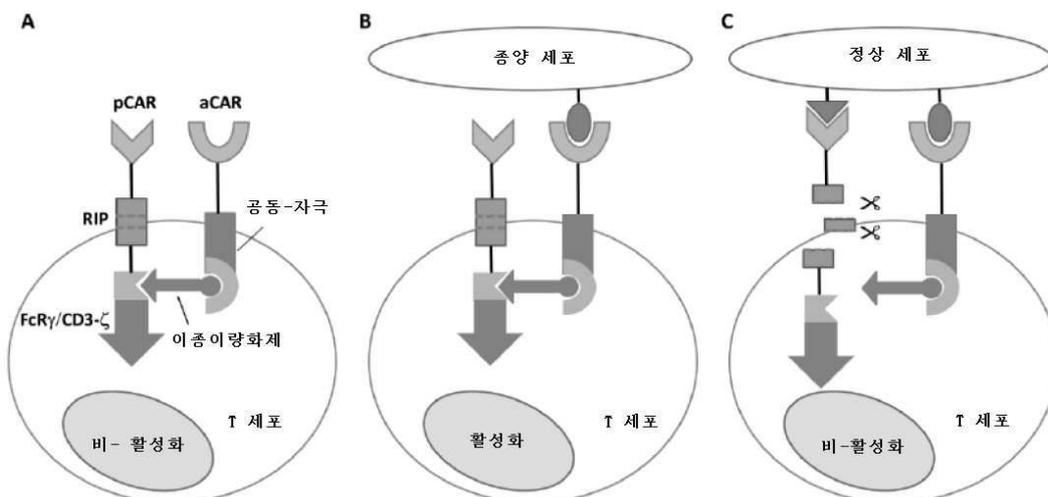
[1471] 당해 기술 분야의 당업자라면 자명할 바와 같이, 본 발명의 사상 및 범위로부터 벗어나지 않으면서 본 발명에 대한 수많은 수정과 변형이 이루어질 수 있다. 본원에 기술된 구체적인 구현에 및 실시예는 단지 예로서 제공되며, 본 발명은 청구범위에 의해 주어지는 전체 등가 범위와 더불어, 첨부된 청구범위의 내용으로만 제한되어야 한다.

도면

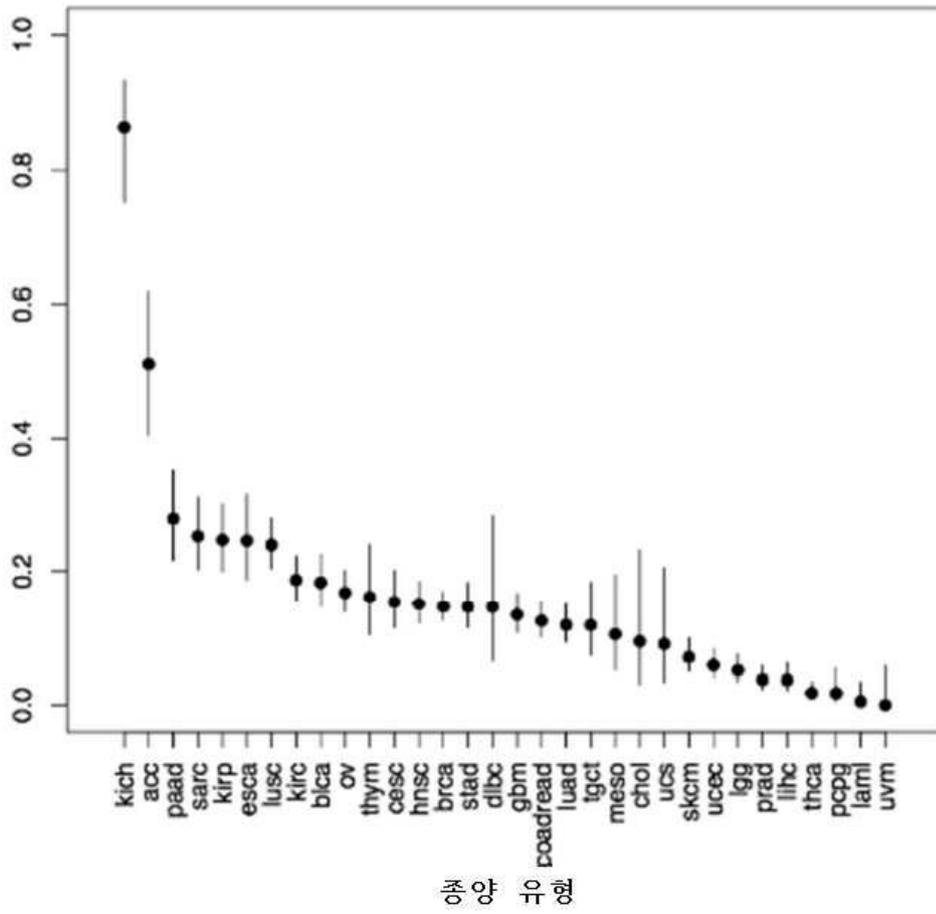
도면1



도면2

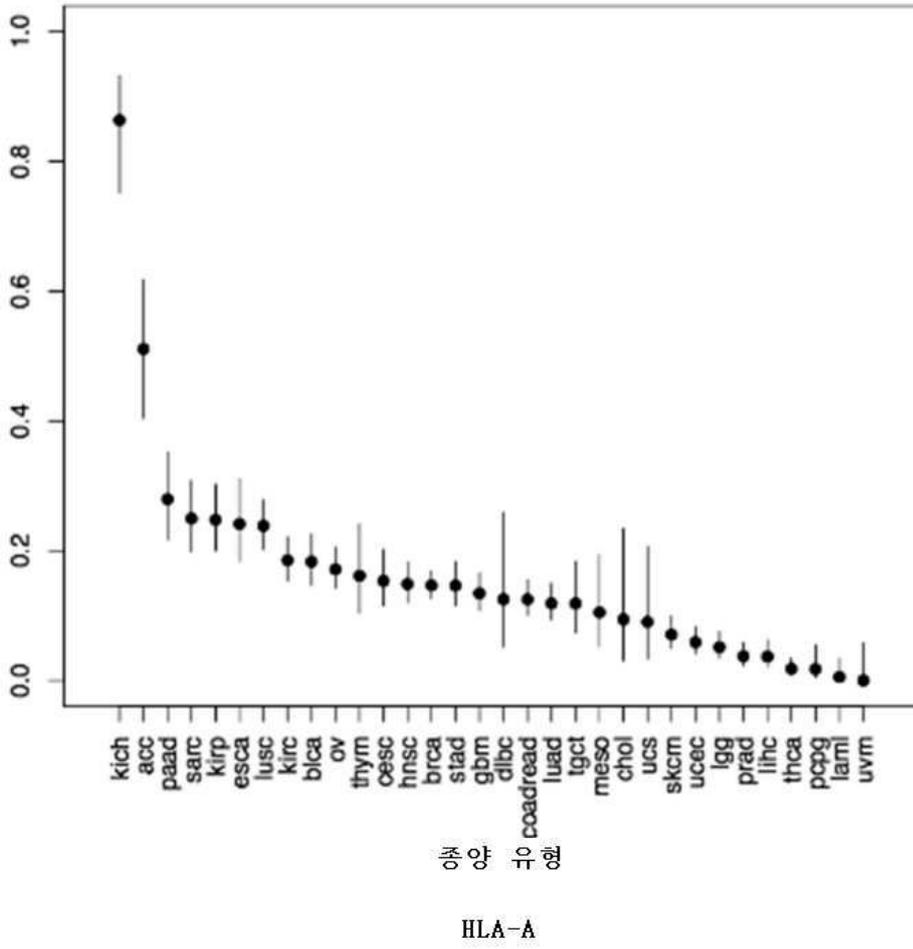


도면3a

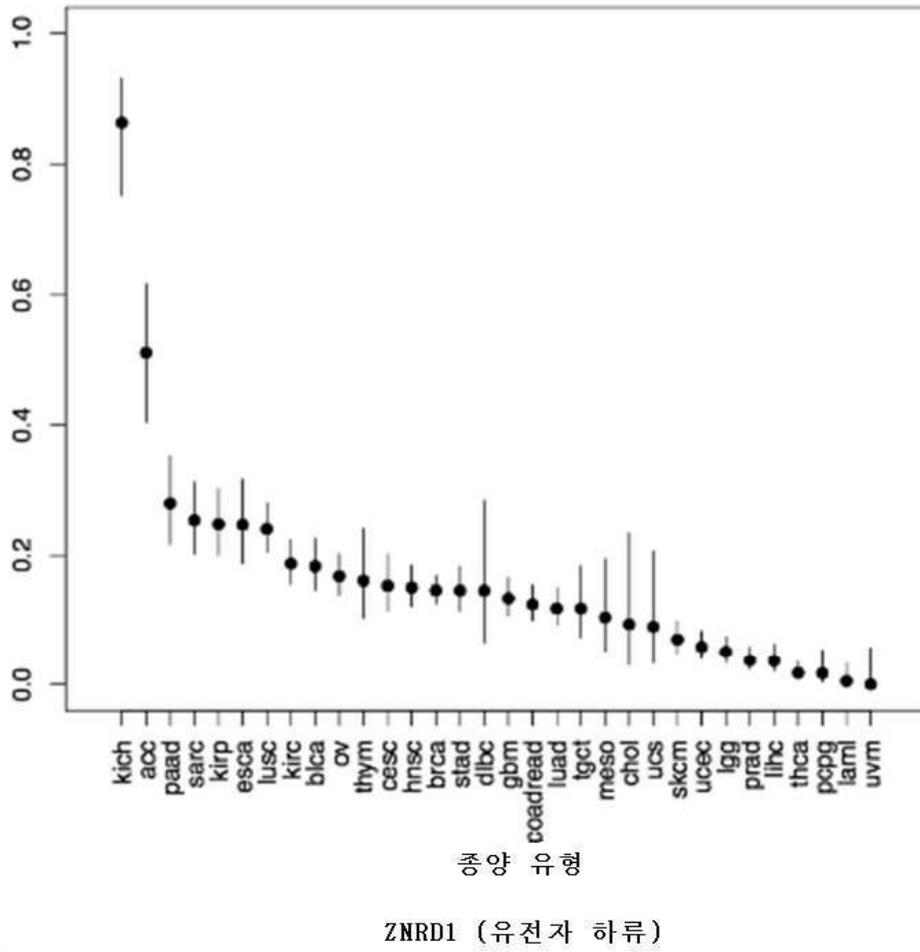


HLA-G (유전자 상류)

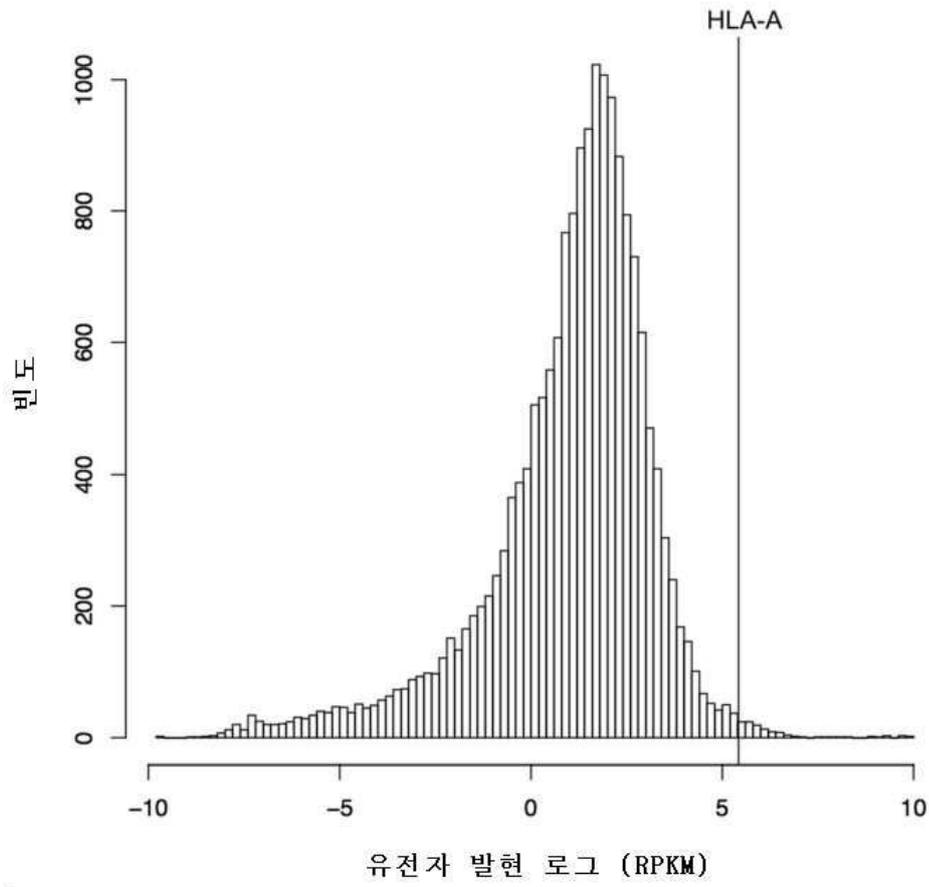
도면3b



도면3c

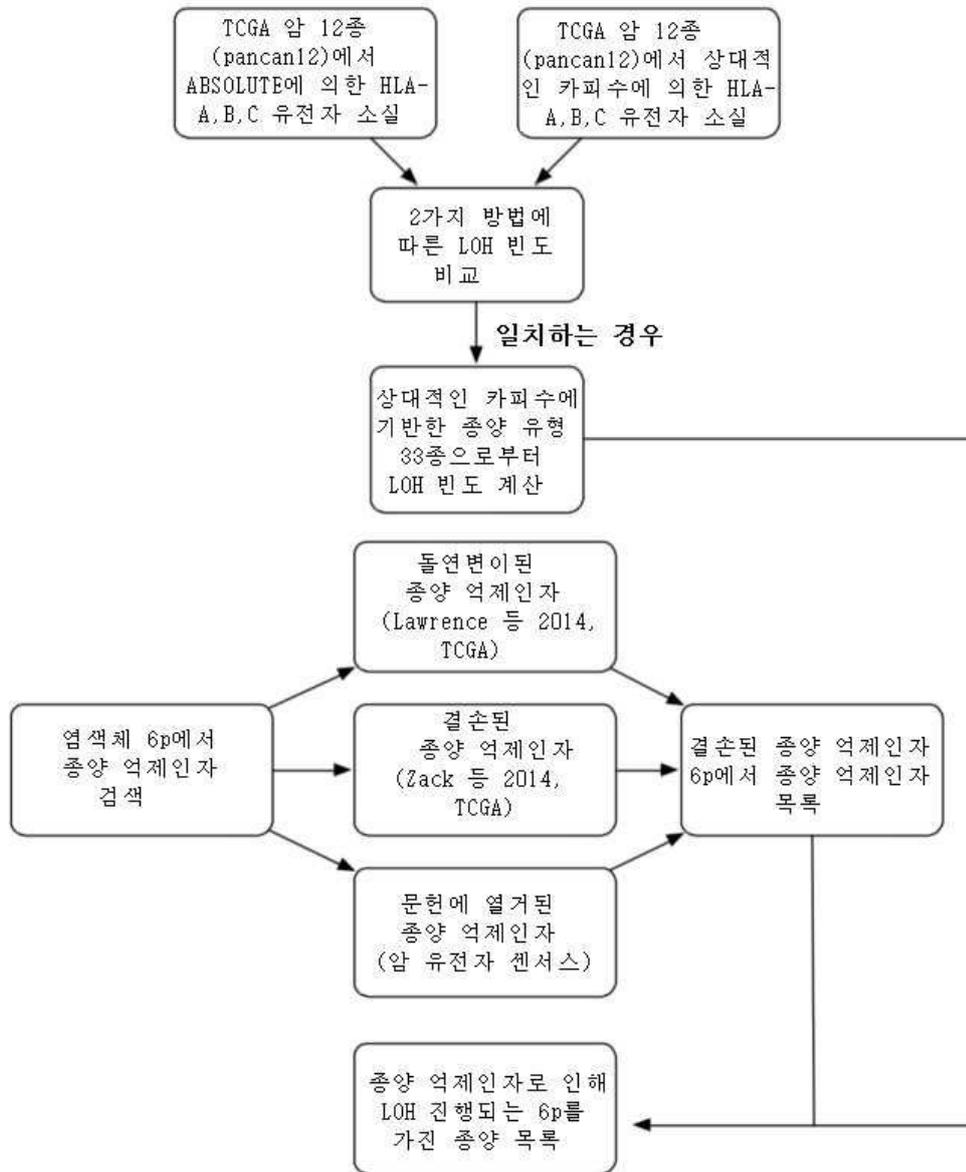


도면4

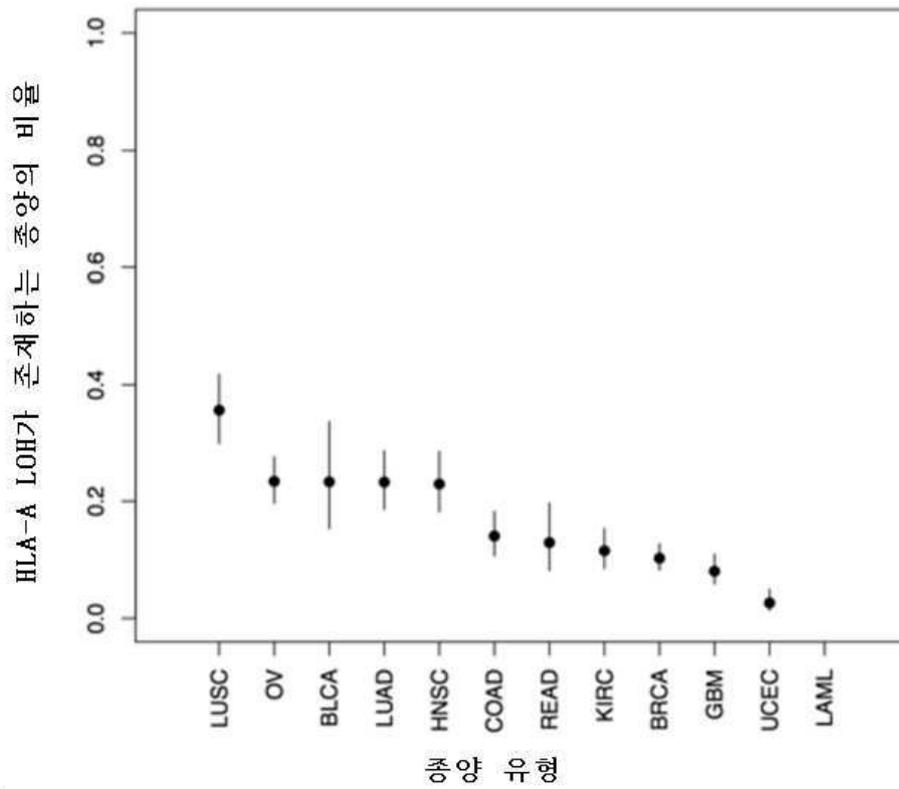


도면5

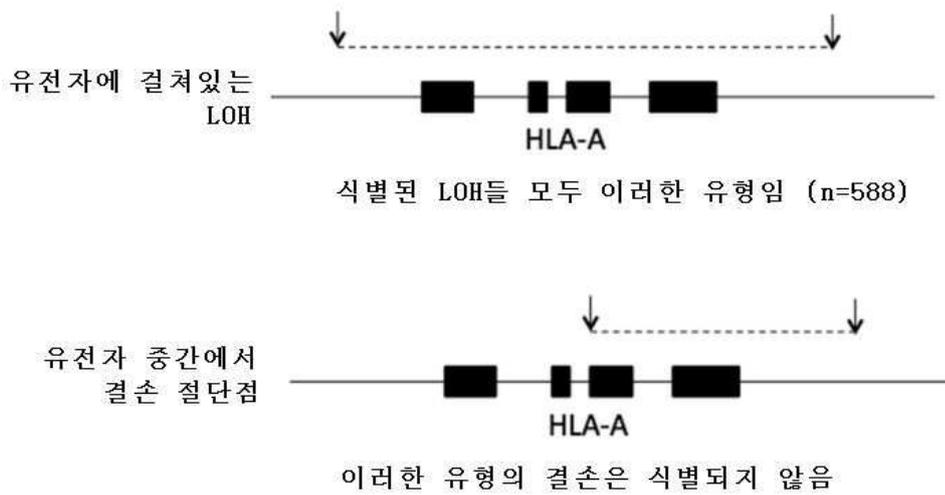
암에서 HLA 단백질질의 이형접합성 소실



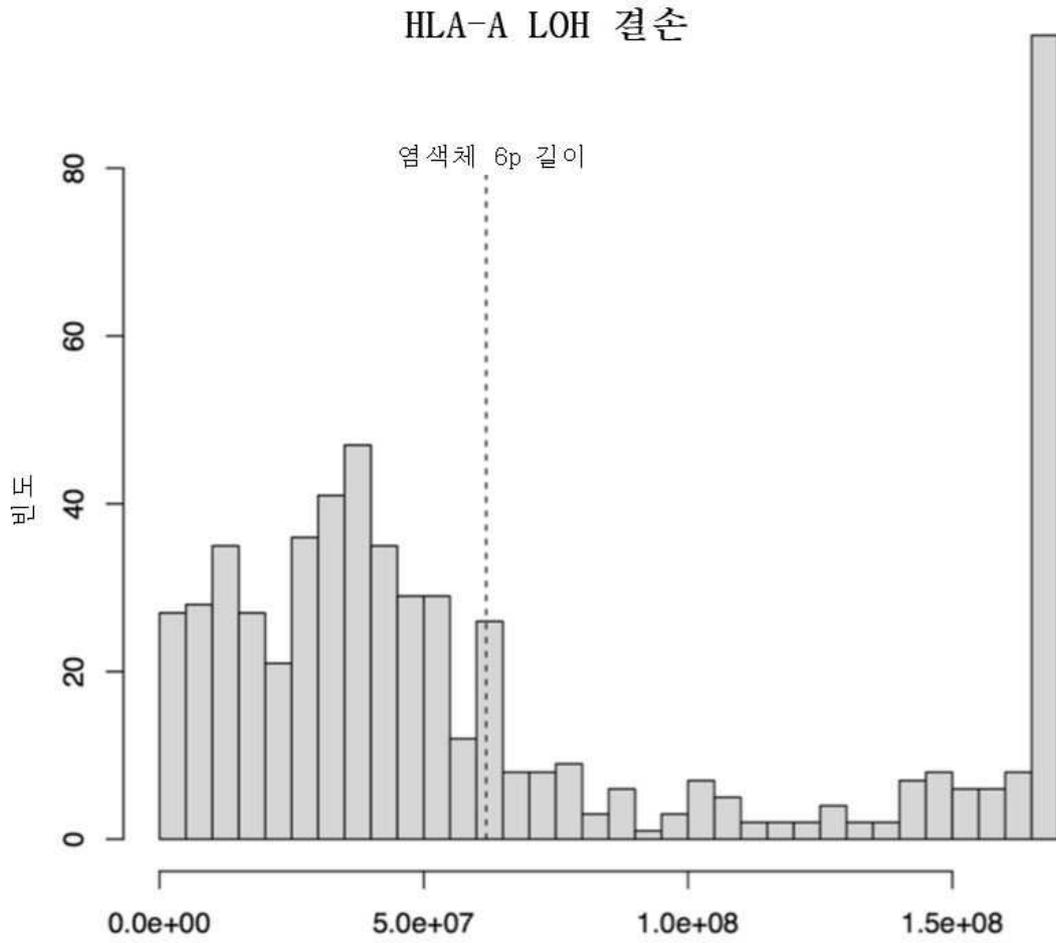
도면6



도면7



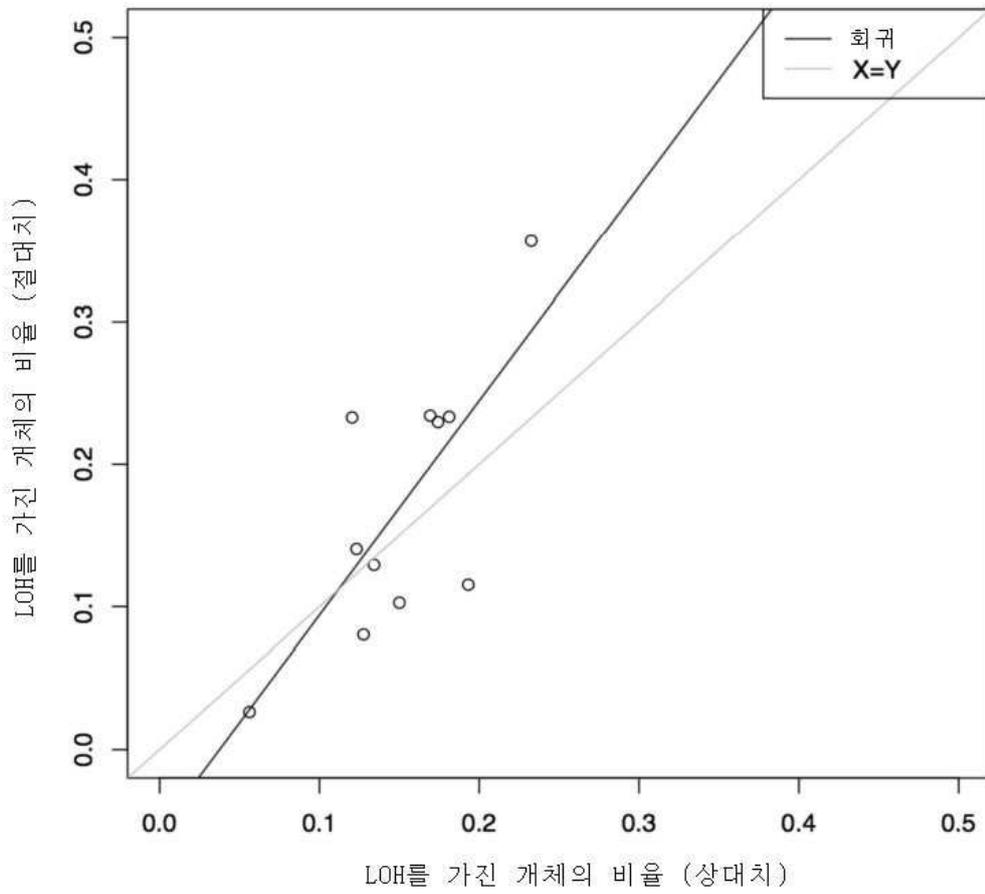
도면8



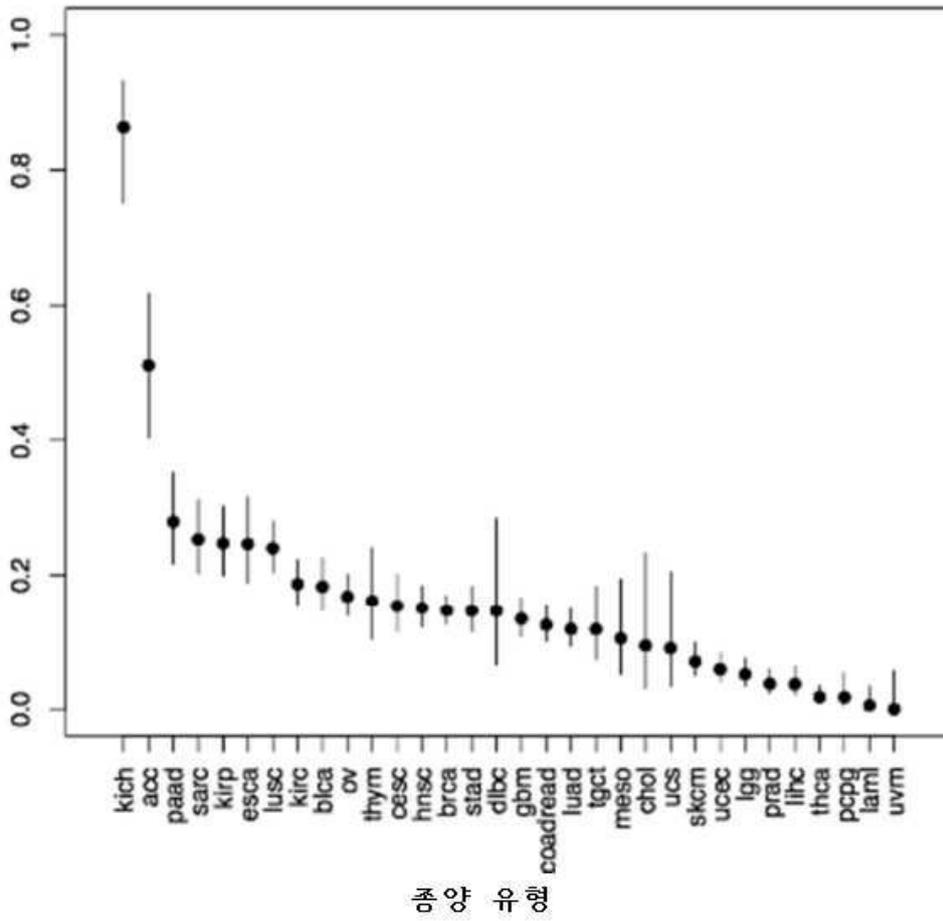
HLA-A와 중첩되는 결손된 분절의 염기 개수

도면9

개체 비-매칭

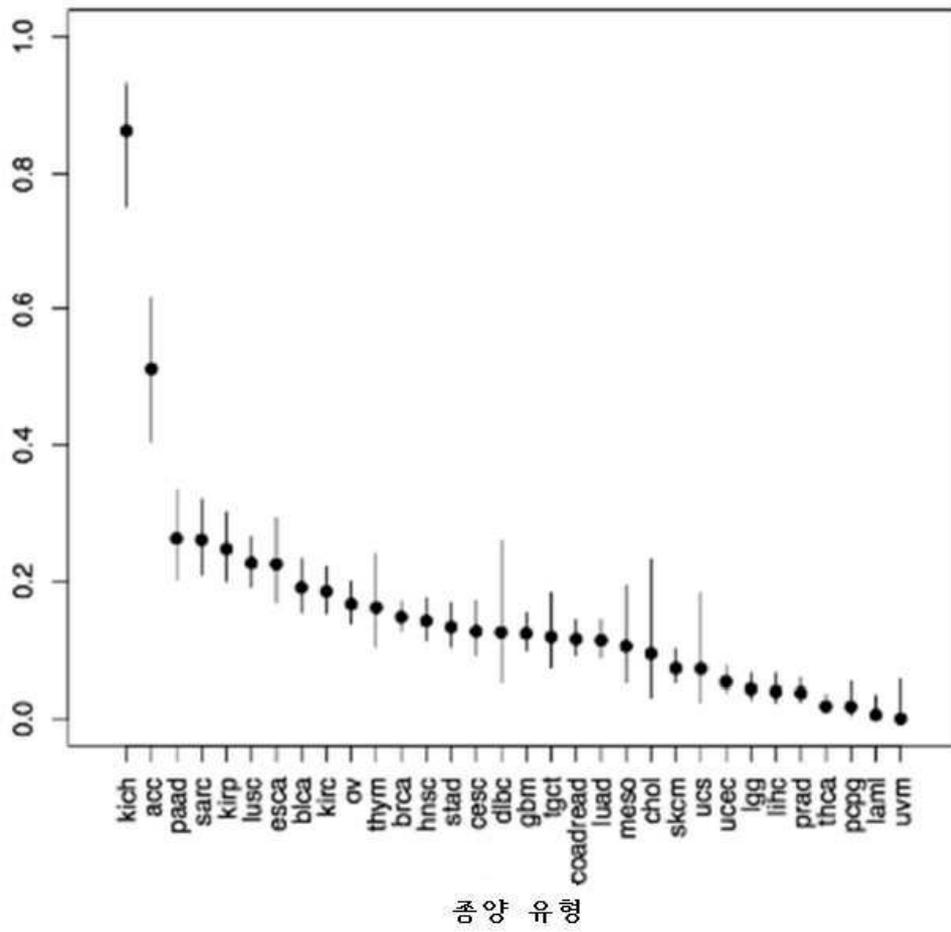


도면10a



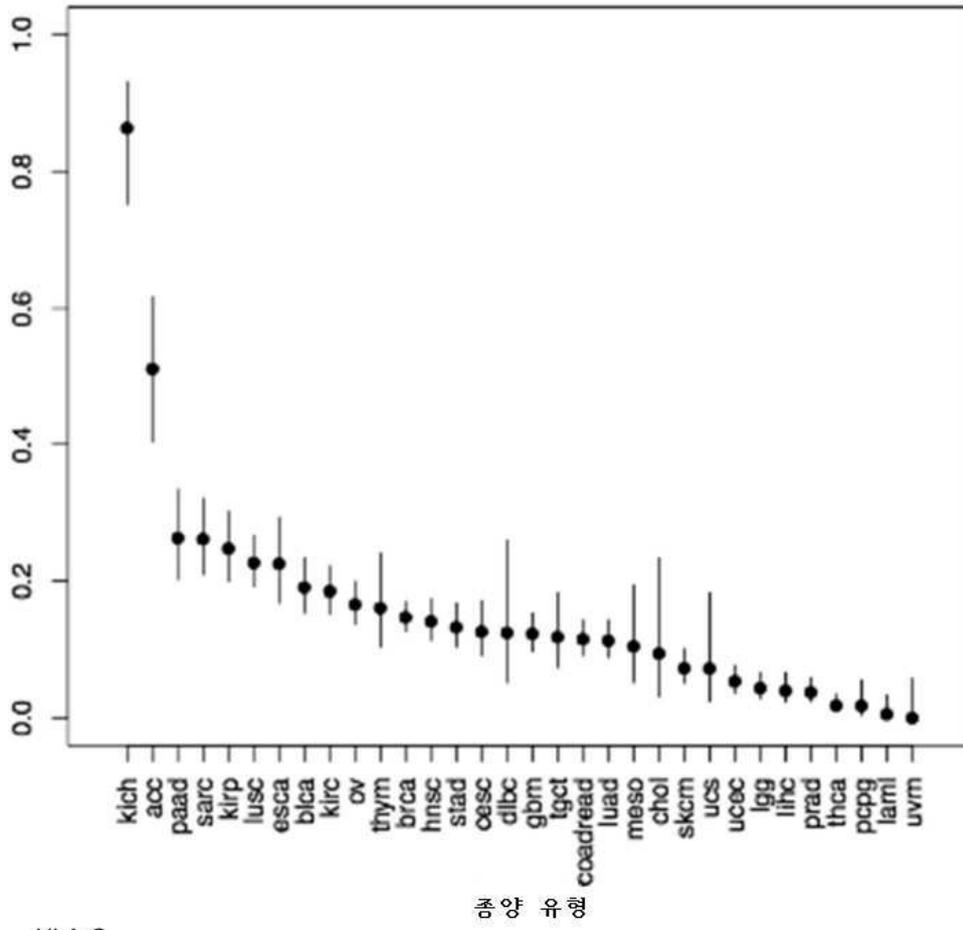
HLA-A

도면10b



HLA-B

도면10c



도면11

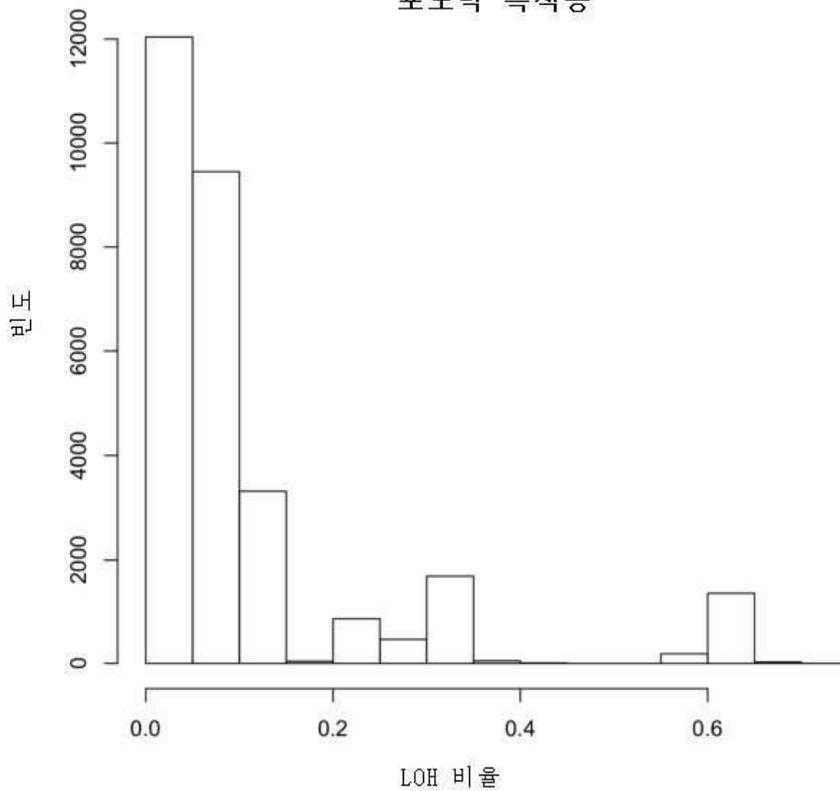
염색체 6p의 결손 없음 (상단에 결손으로 샘플 분류)



카피수 변동이  
없는 샘플

도면12

포도막 흑색종

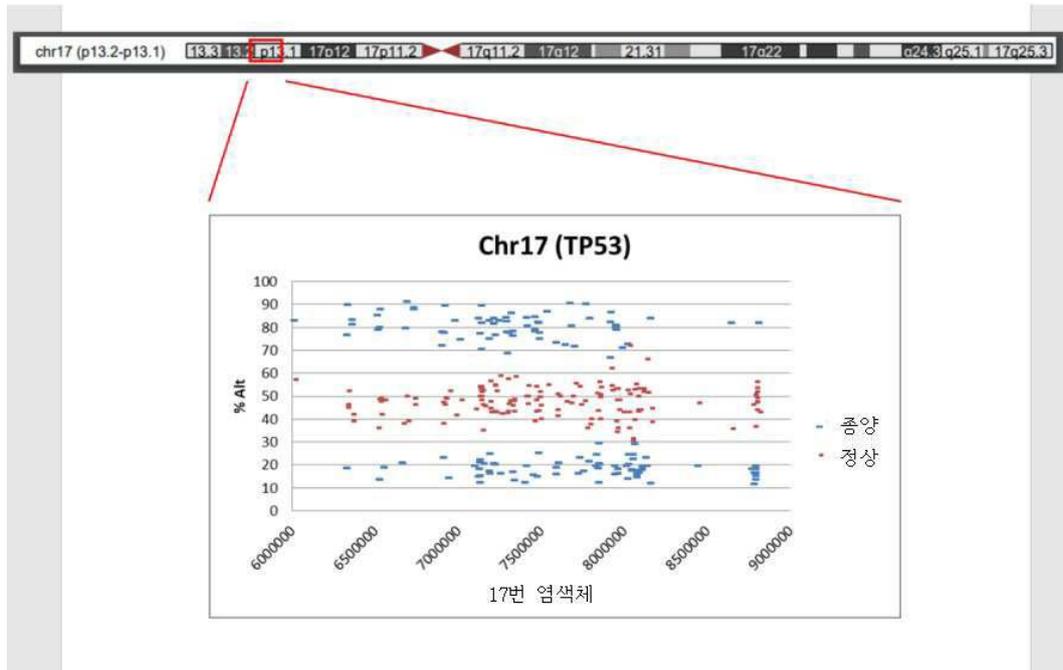


도면13

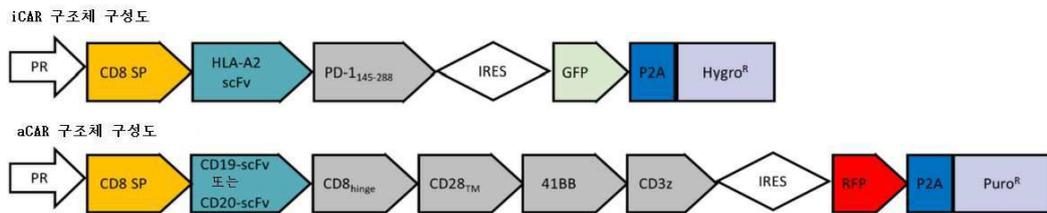
TCGA 실험 약어

실험 약어	실험명
LAML	급성 골수성 백혈병
ACC	부신피질 암종
BLCA	방광 요로상피세포 암종
LGG	뇌 저등급 신경교종
BRCA	유방 침습성 암종
CESC	자궁경부 편평 세포 암종 및 자궁경내 선암종
CHOL	담관암종
LCML	만성 골수성 백혈병
COAD	결장 선암종
CNTL	대조군
ESCA	식도 암종
FPPP FFPE	파일럿 II상
GBM	다형 교모세포종
HNSC	두경부 편평 세포 암종
KICH	신장 비염색
KIRC	신장 투명 세포 암종
KIRP	신장 유두 세포 암종
LIHC	간세포 암종
LUAD	폐 선암종
LUSC	폐 편평 세포 암종
DLBC	림프성 종양 확산성 거대 B-세포 림프종
MESO	중피종
MISC	기타
OV	난소 장액 낭선암종
PAAD	췌장 선암종
PCPG	크롬친화세포종 및 부신경절종
PRAD	전립선 선암종
READ	직장 선암종
SARC	육종
SKCM	피부 흑색종
STAD	위 선암종
TGCT	고환 생식 세포 종양
THYM	흉선종
THCA	갑상선 암종
UCEC	자궁 암육종
UCEC	자궁 체부 자궁내막 암종
UVM	포도막 흑색종

도면14



도면15



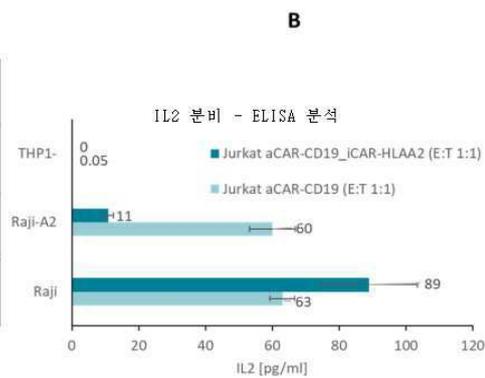
도면16

A. 분석 개략도

**A**

작동자 세포	Jurkat aCAR CD19	Jurkat aCAR CD19_iCAR HLA-A2
THP1 비-표적 세포 "정상"	기저 수준	기저 수준
RAJI-A2 표적 세포 "정상"	활성화	저해
RAJI 표적 세포 "암"	활성화	활성화

B. ELISA에 의해 측정된 IL-2



도면17

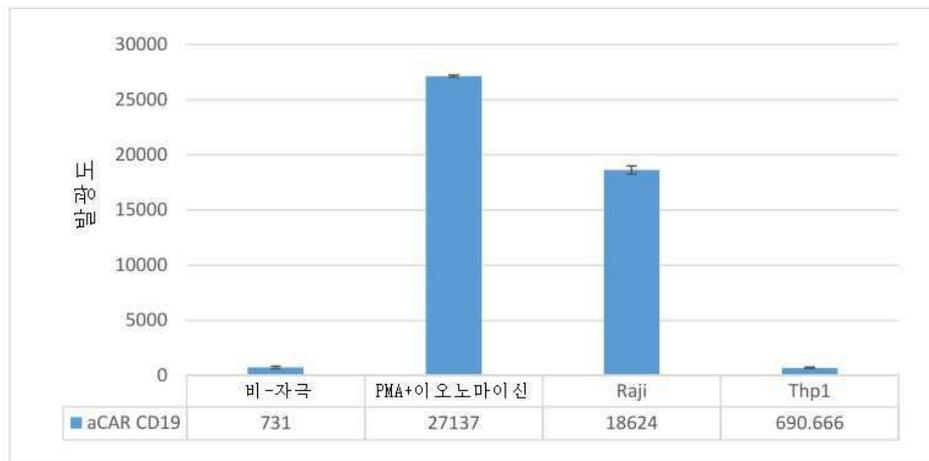
A. 분석 개략도

	Jurkat aCAR CD19	Jurkat aCAR CD19 iCAR HLA-A2
THP1	기저 수준	기저 수준
RAJI-A2	활성화	저해
RAJI	활성화	활성화

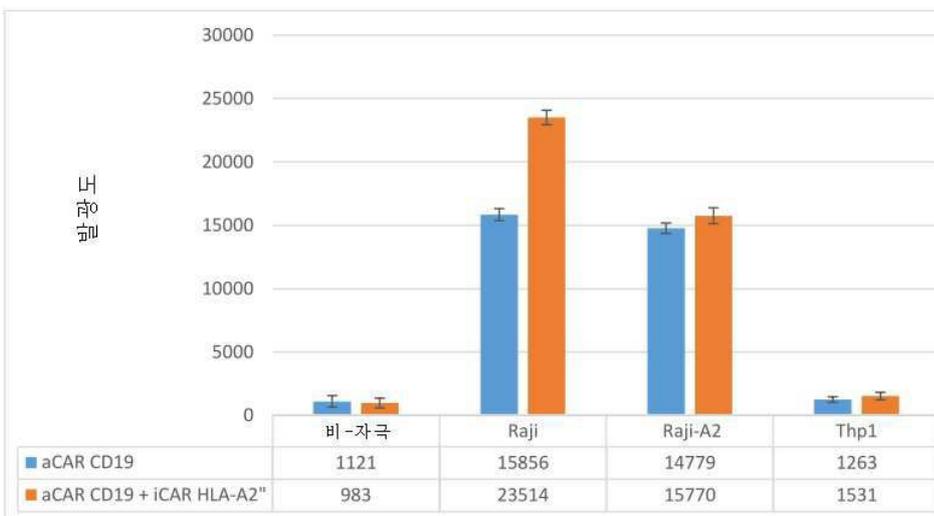
B. CAB에 의해 측정된 IL2 분비



도면18



도면19





**도면21b**

CD19 aCAR- protein sequence (SEQ ID NO:2)  
 MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQTSSLSASLGRVITISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLLH  
 SGVPSRFSGSGSGTSDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGGGGGSEVKLQESGF  
 GLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWGETTYNSALKSRLTI IKDNSKSVFLKMNSL  
 QTDDTAIYYCAKHHYYGGSYAMDYWGQTSVTVSSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD  
 FACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEGGCELRVKFSR  
 SADAPAYKQQNQLYNELNLGRREYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRR  
 KGHDGLYQGLSTATKDYDALHMQALPPR

**도면21c**

RFP-protein sequence (SEQ ID NO:3)  
 MVSKGEELIKENMHMKLYMEGTVNNHHFKCTSEGEKPYEGTQTMRIKVVEGGPLPFAFDILATSFMYGSRTFINH  
 TQGIPIDFFKQSFPEGFTWERVVTYEDGGVLTATQDTSLQDGLIYNVKIRGVNFPNPGVPMQKKTTLGWEANTEMLY  
 PADGGLEGRSDMALKLVGGGHLICNFKTTYRSKKPAKNLKMGPVYVVDHRLERIKEADKETVVEQHEVAVARVCDL  
 PSKLGHLN

**도면21d**

Puromycin resistance-protein sequence (SEQ ID NO:4)  
 MATEYKPTVRLATRDVPRAVRTLAAAFADYPATRHVTDPDRHIERVTELQELFLTRVGLDIGKVVVADDGAAVAV  
 WTTPEVSEAGVFAEIGPRMAELSGSRLAAQQQMEGLLAPHRKPEPAWFLATVGVSPDHQKGLGSAVVLPGVEAA  
 ERAGVPAFLETSAAPRNLPFYERLGFVTADVEVPEGPRTWCMTRKPGA

**도면21e**

CD20 iCAR IRES\_GFP\_P2A\_Hygro- DNA sequence (SEQ ID NO:5)  
 ATGGCACTGCTGTGACCGCCCTGCTGCTGCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGGCCCGACATCGTGTGCACAGAGCC  
 CAGCAATCCTGTCCGCCCTCCTCTGGAGAGAAGGTGACCATGACATGCCCGCCAGCTCCTCTGTGAACATACATGGATGGTATCA  
 AAGAAGCCTGGCAGCTCCCAAGCCCTGGATCTACGCCACCAGCAATCTGGCCTCCGGCGTGCCAGCACGGTTCAGCGGCTCC  
 GGCTCTGGCACCAGCTATTCCCTGCAATCTCCAGAGTGGAGGAGAGGACGCAGCAACCTACTATTGCCAGCAGTGGTCTTTCA  
 ACCCCCTACCTTTGGCGGGCCGCAAAAGCTGGAGATCAAGGGCTCTACAAGCGGAGGAGGCTCTGGAGGAGGCGAGCGGAGCGG  
 CGGCTCTAGCAGGTCAGCTGCAGCAGAGCGGAGCAGAGCTGGTGAAGCCTGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTTGTAAGGCCAGC  
 GGCTACACCTTCACATCCTATAATATGCACCTGGGTGAAGCAGACCCAGGACAGGCGCTGGAGTGGATCGGAGCAATCTACCCAG  
 GAAACGGCGACACAAGCTATAATCAGAAGTTAAGGGCAAGGCCACCTGCAGCCGATAAGTCTCTAGCACCGCTACATGCA  
 GCTGCTCTCTGACATCCGAGGACTCTGCCGATTACTATTGTGCCCGGTCCAACCTACTATGGCAGCTCCTACTGGTCTTTGAC  
 GTGTGGGAGCAGGCACACAGTGCACCGTGTCTAGCACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTA  
 GGCCAGCAGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGGTGTGGGTGCTGGC  
 CTGTATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGCCACCATCGGGCCAGGCGCACAGGCCAGCCCTGGAAGGAGGACCCCTCCGCGGTGCCA  
 GTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGA  
 CCGAGTATGCCACAATCTGTGTTCCATCCGGAATGGGCACAAGTCCCTGCAAGGAGAGGCGAGCCGACGGACCGGTCGCC  
 CCAGCCACTCGGGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGTGAGCGCCCTCTCCCCCCCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCT  
 AACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTGCTATATGTTATTTCCACCATATGCGCTCTTTTGGCA  
 ATGTGAGGCCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTGACGAGCATTCCTAGGGGTCCTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCT  
 TTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAACAACGCTCTGTAGCGACCCCTTTCAGGCGAGCGGAAC  
 CCCCACCTGGCGACAGGTGCCCTCTGGCGCCAAAGCCACGCTGATAAGATACACCTGCAAGGGCGGCAACCCAGTGGCCAG  
 TTGTGAGTTGGATAGTTGTGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAGGTACC  
 CCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTAGTTCGAGGTTAAAAAAGCTTAGGCCCCCG  
 AACCAGGGGAGCTGGTTTTCTTTGAAAACACGATGATAAGGCTTGCACACCCGTACCAAGATGGTGTCCAAGGGAGAGG  
 AGCTGTTACCGGAGTGGTGCATCCTGGTGGAGCTGGACGGGATGTGAATGGCCACAAGTTTAGCGTGTCCGGAGAGGGAGA  
 GGGCGAGCAACCTACGGCAAGCTGACACTGAAGTTCATCTGCACACAGGCAAGCTGCCCGTGCCTTGGCCAAACCTGGTGCAC  
 ACTGACATACGGCGTGCAGTGTCTTTCTCGCTATCCGACCATGAAGCAGCAGATTAAGACAGAGCCGAGGTGAAGTTGAGGGCGACACT  
 GCTACGTGCAGGAGCGGACCTCTTTCTTAAGGAGATGGCAACTATAAGACAGAGCCGAGGTGAAGTTGAGGGCGACACT  
 GGTGAACAGGATCGAGCTGAAGGGATCGACTTAAAGGAGGATGGCAATATCCTGGGCCACAAGCTGGAGTACAATATAATCC  
 CACAACGTGTACATCATGGCCGATAAGCAGAAGAAGCCATCAAGTCAATTTCAAGATCAGACACAATATCGAGGACGGCTCTG  
 TGCACTGGCCGATCACTACCAGCAGAACCCCAATCGGCGAGCCGACCCGCTGCTGCTGATAATCACTATCTGTCTACACA  
 GAGCGCCCTTCCAAGGACCCCAACGAGAAGGGGATCAGATGGTGTCTGAGGTTGTGACCGCAGCAGGAATCAGCTGGGA  
 ATGGACGAGCTGTATAAGGGCAGCGGCCCAACTCTCCTGCTGAAGCAGGCGAGCGCTGGAGGAGAATCCAGGACCTA  
 TGGATAGAAGCGGCAAGCCAGAGCTGACCGCCACATCCGTGGAGAAATTCCTGATCGAGAAATTTGACTCTGTGAGCGATCTGAT  
 GCAGCTGCCAGGGAGAGGAGTCCAGGGCCTTCTCTTTGATGTGGCGGCGAGGGATACCTGCTGAGGGTGAATAGCTCGCC  
 GACGGCTTCTATAAGGATAGATACGTGTATAGACACTTTGCTCCGCGCCCTGCCAATCCAGAGGTTGCTGGACATCGCGGAGT  
 TTTCCGAGTCTCTGACCTACTGTATCAGCCGGAGAGCCAGGAGTACCTGACAGGATCTGCTGAGACAGAGCTGCCAGCCGT  
 GCTGCAGCCAGTGGCAGAGGCTATGGACCAATCGCCGCCCGGACCTGTCTCAGACAAGCGGCTTCGGCCCTTTTGGCCACAG  
 GGCATCGGCCAGTACACACATGGAGGGACTTCACTGCGCCATCGCCGATCCTCACGTGTATCACTGGCAGACCGGTGATGGAGC  
 ATACAGTGAAGCGCTCCGTGGCCAGGCGCTGGACGAGTGTGCTGTGGCGGAGGATTTGCCAGAGGTGCCCCACTGTGTCA  
 CGCAGACTTTGGCAGCAACAATGTGCTGACCGATAATGGCCGATCAGCCGTGATCGACTGGTCCGAGGCCATGTTCCGCGAT  
 TCTCAGTACAGGTTGGCCAACTTCTTTTGGAGCCCTTGGCTGGCTGCATGGAGCAGCAGACCCGCTATTTTGAAGGCGCC  
 ACCCTGAGCTGGCCGGCTCTCCACGGCTGAGAGCATACTGCTGCGCATCGCCCTGGACCACTGTATCAGAGCTTGGTGGATGG  
 CAATTTGCAGATGCAGCATGGCCACAGGCGCGGTGCGACGCAATCGTGTGATCCGGCCCGGACCGTGGCCGGCACAGATC  
 GCACGGCGGAGCGCCCGCTGTGGACCGAGGATGCTGGAGGTGCTGGCCGATTTGGCAACAGGCGCCCAAGCACAAGGCC  
 CGCCAAAGGAGTGA

**도면21f**

CD20 iCAR -protein sequence (SEQ ID NO:6)  
 MALPVTALLPLALLHAARPDIVLTQSPAILLSASGPEKVTMTCRASSSVNYMDWYQKKPGSSPKPWYATSNLAS  
 GVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWFSNPPTFGGGTKLEIKGSTSGGGSGGGSGGGSSSEVQLQQS  
 GAELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYNMHWVKQTPGGLEWIGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQL  
 SSSLTSEDSADYYCARSNYYGSSYWFDFVWGAGTTVTVSSTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVGVVGGGLGSL  
 VLLVWVLAIVCSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFVSDYGELEDFQWREKTPPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGM  
 GTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL

GFP--protein sequence (SEQ ID NO:7)  
 MVSKGEELFTGVVPIVLELDGVDVNGHKFSVSGEGEDATYKLTLLKFICTTGKLPVWPPTLVTTTLTYGVQCFSRYP  
 DHMKQHDFFKSAPEGYVQERTIFFKDDGNKYKTRAEVKGFEQDITLVNRIELKIDFKEDGNILGHKLEYNNSHNVI  
 IMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHYQNTPIGDGPVLLPDNHYLSQSALS KDPNEKRDMVLEFVTAA  
 GITLGMDELYK

**도면21g**

Hygromycin resistance--protein sequence (SEQ ID NO:8)  
 MDRSGKPELTATSVEKFLIEKFDVSVDLMLQLSEGEESRAFSFDVGGRGYVLRVNSCADGFYKDRYVYRHFASAALP  
 IPEVLDIGEFSESLTYCISRRARQGVTLQDLPELPAVLQPVAEAMDAIAADLSQTSFGFPFGPQGIQYTTWRD  
 FICAIADPHVYHWQTVMDDTVSASVAQALDELMLWAEDCPEVRHLVHADFGSNNVLTDNGRITAVIWDSEAMFSDS  
 QYEVANIFFWRPWLACMEQQTTRYFERRHPELAGSPRLRAYMLRIGLDQLYQSLVDGNFDDAAWAQGRCDIVRSGA  
 GTVGRQTQIARRSAAVWTDGCEVVLADSGNRRPSTRPRAKE

**도면21h**

HLA-A2 iCAR\_IRES\_GFP\_P2A\_Hygro- DNA sequence (SEQ ID NO:9)  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGG  
 AGGACCTGCAGGTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTTCGAAGCCAGCGG  
 CTACACCTTCACATCTTATACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGCG  
 GACGGCTCCACACAGTAAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTACATGCTGC  
 TGAGCAGCCTTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCAGCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTTGGGGCCAGG  
 CACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTTGGCGCGCGCGCAGCGAGCGTGTGATGACCCAG  
 ACACCACTGAGCCTGCCCGTGAAGCCTGGCCGATCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACCTCCACGGCA  
 ATACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGTGATCTATAAGGTGTCTAATCGGTTACGCGGCGT  
 GCCTGACAGATTTTTCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTAC  
 TATTGTTCCAGGGCTCCACAGTGCACGCACCTTTGGCGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACCAGAGAGGAGCAGAGGTGC  
 CCACAGCACACCCATCTCCAAGCCTTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCTGCTGGGCTC  
 TCTGGTGTCTGCTGGTGTGGTGTGGTGTGGTGTGATCTGCAGCAGGGCCGCGCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCT  
 CTGAAGGAGGACCCCTTCGCGCGTGCACAGTGTCTCTGTGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGC  
 CACCTGTGCCCTGCGTGCCCTGAGCAGACCAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCTGCAAGGAG  
 AGGCAGCGCGCAGGACACGGTCCGCCCAGCCACTGCGGCGCGGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGTGACGCCCTCTCC  
 CCCCCCTCTCCCTCCCTCCCTCCCTTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGCTGTGCGTTTGTCTATATGTTAT  
 TTTCCACCATATTGCGCTTTTGGCAATGTGAGGGCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATCTCAGGGGCTCTTT  
 CCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGCTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGCT  
 GTAGCGACCTTTTGCAGCAGCGGAAACCCCCACCTGGCCAGCAGGTGCCTCTGCGCCAAAAGCCACAGTGTATAAGATACACTGT  
 CAAAGCGGCACAACCCAGTGCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAA  
 GGGGCTGAAAGGATGCCCAGAAGCTACCCCATTTGATGGGATCTGATCTGGGCGCTCCGTTGCACATGCTTTACATGTGTTTGTAGT  
 AGGTTAAAACAACTGTAGGCTTAGGACCCAGCCAGCCAGCGGAGCTGGTTTCTTTGAAAACACGATGATAAGGCTTGGCCACAACCCG  
 TACCAAAGATGGTGTCCAAGGGAGAGGAGCTGTTACCAGGAGTGGTGCCTATCCTGGTGGAGCTGGACGGCGATGTGAATGGCCA  
 CAAGTTTAGCGTGTCCGGAGAGGAGAGGGCGACGCAACCTACGGCAAGCTGACACTGAAGTTCATCTGCACCAAGGCAAGCTG  
 CCCGTGCTTGGCCAAACCTGGTGACCACACTGACATACGGCGTGCAGTGTCTTCTCGCTATCCCGACCACATGAAGCAGCAGC  
 ATTTCTTTAAGAGCGCCATGCTGAGGGGCTACGTGCAGGAGCGGACCATCTTCTTTAAGGACGATGGCAACTATAAGACCAAGG  
 CGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACACTGGTGAACAGGATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTAAAGGAGGATGGCAATATCTGGGC  
 CACAAGCTGGAGTACAATAATCCCAACAAGTGTACATCATGGCCGATAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTCAATTTCAAGA  
 TCAGACACAATATCGAGGACGGCTCTGTGCAGCTGGCCGATCACTACCAGCAGAACACCCCAATCGGCGACGGACCCGCTGCTGCT  
 GCCTGATAATCACTATCTGTCTACACAGAGCGCCCTGTCGAAGGACCCCAACGAGAAGAGGATCACATGGTGTGCTGGAGTTT  
 GTGACCCGAGCAGGAATCACACTGGGAATGGACGAGCTGTATAAGGGCAGCGCGCCACCAACTTCTCCCTGCTGAAGCAGGCAG  
 GCGACGTGGAGGAGAATCCAGGACCTATGGATAGAAGCGGCAAGCCAGAGCTGACCGCCACATCCGTTGGAGAAGTTCTGATCGA  
 GAAGTTTGTACTCTGTGAGCGATCTGATGCAGCTGTCCGAGGGAGAGGAGTCCAGGGCTTCTCTTTTGTGTGGGGCGGAGGGGA  
 TACGTGTGAGGGTGAATAGCTGCAGCCGAGGCTTCTATAAGGATAGATACGTGTATAGACACTTTGCCCTCCGCGCCCTGCCAA  
 TCCCAGAGGTGCTGGACATCGCGAGTTTCCGAGTCTCTGACCTACTGATATCAGCCGAGAGCCAGGGAGTGACCTGACAGG  
 TCTGCTGAGACAGAGCTGCCAGCCGTGCTGCAGCCAGTGGCAGAGGCTATGGACGCAATCGCCCGCCGACCTGTCTCAGACA  
 AGCGGCTTCCGCGCTTTTGGCCCAAGGGCCTCGCCAGTACACCCATGGAGGACTTCATCTGCGCCATCGCCGATCTCTCAGC  
 TGATACACTGGCAGCGGTGATGGACGATACAGTGAAGGCTCCGTTGGCAGAGGCTGGACGAGCTGATGCTGTGGGGCCAGGA  
 TTGTCCAGAGGTGCCACCTGGTGCAGCAGACTTTGGCAGCAACAATGTGCTGACCGATAATGGCCGATCACAGCCGTGATC  
 GACTGGTCCGAGGCCATGTTCCGGCATCTCAGTACGAGGTGGCCAACTCTCTTTTGGAGGCTTGGCTGGCCGTCATGGAGC  
 AGCAGCCCGCTATTTTGGAGGGCCACCCTGAGCTGGCCGGCTCTCCAGGCTGAGAGCATACATGCTGCGCATCGCCGCTGGA  
 CCAGCTGTATCAGAGCCTGGTGGATGGCAATTTGCAGCATGCAGCATGGGCACAGGGCCGCTGCGACGCAATCGTGAATCCGGC  
 GCGGCACCGTGGGCGGACAGATCGCACGGCGGAGCGCCGCGCTGTGGACCGAGGATCGCTGGAGGTGCTGGCCGATCTCT  
 GCAACAGGCGCCCAAGCACAAGGCCCGCCCAAGGAGTGA

**도면21i**

HLA-A2 iCAR --protein sequence (SEQ ID NO:10)  
 MALPVTALLLPLALLLHAARPEQKLI SEEDLQVQLQSGPELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYHIQWVKQRPGQGL  
 EWIGWIYPGDGSTQYNEKFKGKTTLTADKSSSTAYMLLSSLTSEDSAIYFCAREGTYAMDYWGQGTSVTVSSGGG  
 GSGGGSGGGSDVLMQTPLSLPVSLGQVSI SCRSSQSI VHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVP  
 DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHPRTFGGGTKLEIKTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVG  
 VVGGLLGSLLVLLVWVLAIVCSRAARGTIGARTGQPLKEDPSAVPVFVSDYGELDFQWREKTPPEPPVPCVPEQTEY  
 ATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL

**도면21j**

SEQ ID NO:11  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 CTLA4 (hinge+TM+intracellular domain) – 829-1074  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTC AAGGGCAAGACCACACTGACCGCGATAAGAGCAGCAGCACCAGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTTCGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTCAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGGGC  
 ATCGGCAACGGCACCCAAATCTACGTGATCGACCCAGAGCCCTGCCCTGACAGCG  
 ATTTCTGCTGTGGATTCTGGCCCGCTGAGCAGCGGCTGTTCTTTTATTCTTTT  
 TGCTGACCGCCGTGTCTCTGAGCAAGATGCTGAAGAAGCGGTCTCCTCTGACCACA  
 GGCGTGGGCGTGAAGATGCCCCCTACAGAGCCCGAGTGTGAGAAGCAGTTCACAG  
 CATACTTTATCCCCATCAATTGA

**도면21k**

SEQ ID NO:12  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 LAG-3 (hinge+TM+intracellular domain) – 829-1,143  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCACAAAGCTGGAGATCAAGCTG  
 GCGCGCCCGTGTACTTACCCGAGCTGAGCAGCCCTGGCGCCCAGCGGTCCGGCA  
 GGGCCCCAGGCGCCCTGCCTGCCGGCCACCTGCTGCTGTTTCTGATCCTGGGCGTG  
 CTGTCTCTGCTGCTGCTGGTGACAGGCGCCTTCGGCTTTCACCTGTGGCGGAGACA  
 GTGGCGGCCAGGCGCTTCTCTGCCCTGGAGCAGGGCATCCACCCACCTCAGGCAC  
 AGAGCAAGATCGAGGAGCTGGAGCAGGAGCCAGAGCCAGAGCCTGAACCTGAGC  
 CAGAGCCTGAACCCGAGCCAGAGCCTGAGCAGCTGTGA

**도면21l**

SEQ ID NO:13  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 2B4 (hinge+TM+intracellular domain) – 829- 1,269  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGGCGTGCCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCACAAAGCTGGAGATCAAGGAG  
 TTCCGGTTTTGGCCCTTCTGGTCATCATCGTGATCCTGTCTGCCCTGTTCTGGGC  
 ACCCTGGCCTGCTTTTGCCTGTGGCGGAGAAAGCGGAAGGAGAAGCAGAGCGAGA  
 CCTCCCCAAGGAGTTCCTGACAATCTACGAGGACGTGAAGGATCTGAAGACAAG  
 GCGCAACCACGAGCAGGAGCAGACCTTTCCTGGCGGGCGGCTCTACAATCTATAGC  
 ATGATCCAGTCCCAGAGCAGCGCCCCACCAGCCAGGAGCCTGCCTACACACTGT  
 ATTCTCTGATCCAGCCTAGCAGAAAGTCTGGCAGCCGGAAGAGAAACCACTCCCC  
 ATCTTTCAATTCCACCATCTACGAAGTGATCGGCAAGTCTCAGCCAAAGGCACAGA  
 ACCCAGCAAGGCTGAGCCGCAAGGAGCTGGAGAATTTTGACGTGTATTCTGA

**도면21m**

SEQ ID NO:14  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 BTLA (hinge+TM+intracellular domain) – 829- 1,293  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTTCAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCAGCACAAGCTGGAGATCAAGGAT  
 GTGAAGAGCGCTCCGAGAGACCTTCTAAGGACGAGATGGCCAGCCGGCCATGGC  
 TGCTGTACAGACTGCTGCCACTGGGAGGACTGCCTCTGCTGATCACCACATGCTTC  
 TGTCTGTTTTGCTGTCTGCGGAGACACCAGGGCAAGCAGAACGAGCTGTCCGATAC  
 CGCCGGCAGGGAGATCAATCTGGTGGACGCCACCTGAAGTCTGAGCAGACCGGAG  
 GCCAGCACAGCCAGACAATCCCAGGTGCTGTCTGAGACAGGCATCTACGACA  
 ATGATCCCCACCTGTGCTTCCGGATGCAGGAGGGCTCTGAGGTGTACAGCAACCCA  
 TGTCTGGAGGAGAATAAGCCCCGCATCGTGTATGCCTCCCTGAACCACTCTGTGAT  
 CGGACCCAACCTCCAGGCTGGCCAGGAATGTGAAGGAGGCCCTACCGAGTATGCC  
 AGCATCTGCGTGCGGTCTCTGA

**도면21n**

SEQ ID NO:15  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 KIR2DL2 (hinge+TM+intracellular domain) – 829- 1,185  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTTCAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCAGCACAAGCTGGAGATCAAGTCT  
 CCAACCGAGCCAGCTCCAAGACAGCAACCCAAGGCACCTGCACATCCTGATCG  
 GCACCAGCGTGGTCATCATCCTGTTTCATCCTGCTGTTCTTTCTGCTGCACCGCTGGT  
 GCAGCAACAAGAAGAATGCCGCCGTGATGGACCAGGAGTCCGCCGGCAACAGGA  
 CAGCCAATTCCGAGGACTCTGATGAGCAGGACCCCCAGGAGGTGACCTACACACA  
 GCTGAACCACTGCGTGTTCACCCAGCGGAAGATCACAAGACCTTCCAGAGGCCA  
 AAGACCCCCCTACAGACATCATCGTGTATGCCGAGCTGCCCAATGCCGAGTCTCG  
 GAGCAAGGTGGTGTCTTGTCTTGA

도면21o

SEQ ID NO:16  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag - 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 KIR2DL3 (hinge+TM+intracellular domain) - 829- 1,164  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCCTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGTCT  
 CCAACCGAGCCCAGCTCCGAGACAGGCAACCCTAGGCACCTGCACGTGCTGATCG  
 GCACCAGCGTGGTCATCCTGTTTCATCCTGCTGCTGTTCTTTCTGCTGCACCGGT  
 GGTGCTGTAACAAGAAGAATGCAGTGGTCATGGACCAGGAGCCAGCCGGCAACAG  
 GACCGTGAATAGAGAGGACTCCGATGAGCAGGACCCCCAGGAGGTGACATACGCC  
 CAGCTGAACCACTGCGTGTTTACCCAGAGGAAGATCACACGCCCTTCTCAGCGGCC  
 AAAGACCCCCCTACAGACATCATCGTGTATACAGAGCTGCCCAATGCCGAGCCTT  
 GA

도면21p

SEQ ID NO:17  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag- 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 KIR2DL2 (signaling domain)- 970-1221  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCCTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGAGCCGTGATCCACCGTGGTGTCTCCAACAAGAAGAATGC  
 CGCCGTGATGACCAGGAGTCTGCCGGAACAGGACCGCCAATTCTGAGGACAGC  
 GATGAGCAGGACCCCCAGGAGGTGACCTACACACAGCTGAACCACTGCGTGTTCA  
 CCCAGCGGAAGATCAACAAGACCAAGCCAGAGGCCCAAGACCCCCCTACAGACAT  
 CATCGTGTATGCCGAGCTGCCTAATGCCGAGAGCAGGTCCAAGGTGGTGTCTGTG  
 CATGA

**도면21q**

SEQ ID NO:18  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag- 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 BTLA (signaling domain)- 970-1302  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCCGAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCAGCTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCCTGCTGGGCTCTCTGGT  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCGGAGACACCAGGGCAAGCAGAACGAGC  
 TGAGCGATAACCGCCGGCCGGGAGATCAATCTGGTGGACGCCCACCTGAAGTCCGA  
 GCAGACCGAGGCCTCCACAAGACAGAACTCTCAGGTGCTGCTGAGCGAGACAGGC  
 ATCTACGACAATGATCCCCGACCTGTGCTTCAGGATGCAGGAGGGCAGCGAGGTGT  
 ACTCCAACCCCTGTCTGGAGGAGAATAAGCCTGGCATCGTGTATGCCTCTCTGAAC  
 CACAGCGTGATCGGCCAAACTCTAGGCTGGCCCCGAATGTGAAGGAGGCCCCCA  
 CCGAGTATGCCTCCATCTGCGTGAGGTCTTGA

**도면21r**

SEQ ID NO:19  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag- 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 CTLA4 (signaling domain)- 970-1092  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCCGAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCAGCTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCCTGCTGGGCTCTCTGGT  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCGCCGTGAGCCTGTCCAAGATGCTGAAGAA  
 GCGGTCTCCTCTGACCACAGGCGTGGGCGTGAAGATGCCCCCTACCGAGCCCGAGT  
 GCGAGAAGCAGTTCCAGCCATACTTTATCCCCATCAACTGA

도면21s

SEQ ID NO:20  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag- 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969

CSK (signaling domain)- 970-1734

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTTCAGCGGGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCTGAAGCTGCTCCAGACCATCGGCAAGGG  
 CGAGTTCGGCGACGTGATGCTGGGCGATTACAGAGGCAACAAGGTGGCCGTGAAG  
 TGCATCAAGAATGACGCAACCGCACAGGCCTTTCTGGCAGAGGCCAGCGTGATGA  
 CACAGCTGAGGCACTCCAACCTGGTGCAGCTGCTGGGCGTGATCGTGGAGGAGAA  
 GGGCGGCCTGTACATCGTGACAGAGTATATGGCCAAGGGCAGCCTGGTGGACTAC  
 CTGCGTCCAGAGGCAGGTCTGTGCTGGGAGGCGACTGCCTGCTGAAGTTCAGCCT  
 GGACGTGTGCGAGGCCATGGAGTATCTGGAGGGCAACAATTTTGTGCACCGCGAT  
 CTGGCAGCAAGGAACGTGCTGGTGTCTGAGGACAATGTGGCCAAGGTGAGCGATT  
 TCGGCCTGACCAAGGAGGCCAGCTCCACCCAGGACACAGGCAAGCTGCCTGTGAA  
 GTGGACCGCACCAGAGGCCCTGAGGGAGAAGAAGTTCTCTACAAAGAGCGACGTG  
 TGGTCTTTGGCATCCTGCTGTGGGAAATCTACTCTTTTGGCAGAGTGCCATATCCC  
 AGAATCCCCCTGAAGGACGTGGTGCCTCGGGTGGAGAAGGGCTACAAGATGGACG  
 CACCAGATGGATGCCACCTGCCGTGATGAAGTGATGAAGAATTGTTGGCACCTG  
 GATGCAGCAATGAGGCCAGCTTCCTCCAGCTGAGGGAGCAGCTGGAGCACATCA  
 AGACACACGAGCTGCACTGA

도면21t

SEQ ID NO:21  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1 signaling – 970-1260  
 GC linker- 1261-1305  
 CTLA4 (signaling domain)- 1306-1428  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACC GCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGGTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTTCAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 GCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGCGGATCTGCCGTGAGCCTGTCCAAGATGCTGAA  
 GAAGCGGTCTCCTCTGACCACAGGCGTGGGCGTGAAGATGCCCCCTACCGAGCCC  
 GAGTGCGAGAAGCAGTTCAGCCATACTTTATCCCCATCAACTGA

**도면21u**

SEQ ID NO:22  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1 signaling – 970-1260  
 GC linker- 1261-1305  
 LAG3 (signaling domain)- 1306-1467

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GTGATGACCCAGACACCAGTACTGAGCCTGCCCGTGGCGGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 GCGGTGGTGGGTGCGGTGGCGGCGGATCTCACCTGTGGCGGAGACAGTGGCGGCC  
 CAGGCGCTTACGCGCCCTGGAGCAGGGCATCCACCCACCTCAGGCACAGTCCAAG  
 ATCGAGGAGCTGGAGCAGGAGCCAGAGCCAGAGCCTGAACCTGAGCCAGAGCCTG  
 AACCCGAGCCAGAGCCTGAGCAGCTGTGA

도면21v

SEQ ID NO:23  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1 signaling – 970-1260  
 GC linker- 1261-1305  
 2B4 (signaling domain)- 1306-1665  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCAGCTGAGCCTGCCCCGTGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTTCAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCCGCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCGGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 GCGGTGGTGGGTGGGTGGCGCGGATCTTGGCGGAGAAAGCGGAAGGAGAAGC  
 AGAGCGAGACCTCCCCCAAGGAGTTCCTGACAATCTACGAGGACGTGAAGGATCT  
 GAAGACCAGGCGCAACCACGAGCAGGAGCAGACCTTTCCTGGCGGCGGCTCTACA  
 ATCTATAGCATGATCCAGTCCCAGAGCAGCGCCCCACCTCTCAGGAGCCTGCCTA  
 CACTGTATTCTCTGATCCAGCCTAGCCGGAAGTCTGGCAGCCGGAAGAGAAAC  
 CACTCCCCATCTTTCAATTCCACAATCTACGAAAGTATCGGCAAGTCTCAGCCAAA  
 GGCACAGAACCCAGCAAGGCTGAGCCGCAAGGAGCTGGAGAATTTTGACGTGTAT  
 TCCTGA

도면21x

SEQ ID NO:24  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1 signaling – 970-1260  
 GC linker- 1261-1305  
 CD300LF(signaling domain)- 1306-1644  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTGCGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGATCGTGCACCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 GCGGTGGTGGGTGCGGTGGCGGCGGATCTTGGCGGATGATGAAGTACCAGCAGAA  
 GGCCGCCGGAATGTCTCCAGAGCAGGTGCTCCAGCCCCCTGGAGGGCGACCTGTGC  
 TATGCCGACCTGACCTCCAGCTGGCCGGCACAAGCCCACAGAAGGCAACCACAA  
 AGCTGAGCAGCGCCAGGTGGACCAGGTGGAGGTGGAGTACGTGACCATGGCCTC  
 CCTGCCTAAGGAGGACATCTCCTATGCCTCTCTGACCCTGGGCGCCGAGGATCAGG  
 AGCCTACATACTGTAACATGGGCCACCTGTCTAGCCACCTGCCAGGAAGGGGACC  
 AGAGGAGCCTACCGAGTATAGCACAAATCTCCAGACCCTGA

도면21y

SEQ ID NO:25  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1 signaling – 970-1260  
 GC linker- 1261-1305  
 BTLA(signaling domain)- 1306-1428  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCGCGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 GCGGTGGTGGGTGCGGTGGCGGCGGATCTGCCGTGAGCCTGTCCAAGATGCTGAA  
 GAAGCGGTCTCTCTGACCACAGGCGTGGGCGTGAAGATGCCCCCTACCGAGCCC  
 GAGTGCGAGAAGCAGTTCAGCCATACTTTATCCCCATCAACTGA

도면21z

SEQ ID NO:26  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1 signaling – 970-1260  
 GC linker- 1261-1305  
 LAIR1(signaling domain)- 1306-1608

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTG  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCCTGAGCCTGCCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTTCAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCGCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCCAAGGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 GCGGTGGTGGTTCGGGTGGCGGCGGATCTCACAGGCAGAACCAGATCAAGCAGGG  
 ACCACCTCGCAGCAAGGACGAGGAGCAGAAGCCACAGCAGAGGCCCGACCTGGC  
 AGTGGATGTGCTGGAGAGAACCGCCGATAAGGCCACAGTGAATGGCCTGCCCGAG  
 AAGGACAGGGAGACCGATAACATCCGCCCTGGCCGCCGGCAGCTCCCAGGAGGTGA  
 CCTACGCCAGCTGGACCACTGGGCACTGACCCAGAGGACAGCCAGAGCCGTGTC  
 TCCTCAGAGCACCAAGCCAATGGCCGAGTCTATCACCTACGCCCGGTGGCCAGAC  
 ACTGA

**도면21aa**

SEQ ID NO:27  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1 signaling – 970-1260  
 GC linker- 1261-1305  
 TIGIT(signaling domain)- 1306-1551  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTG  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTTCAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTTCCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTCGGCCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 GCGGTGGTGGGTGCGGTGGCGGGGATCTCTGACCCGGAAGAAGAAGGCCCTGCG  
 CATCCACAGCGTGGAGGGCGACCTGAGGAGAAAGTCCGCCGGCCAGGAGGAGTG  
 GAGCCCATCCGCCCTCCCCCTGGCTCTTGCCTGCAGGCAGAGGCAGCACCTG  
 CCGGCCTGTGCGGCGAGCAGCGGGGCGAGGACTGTGCCGAGCTGCACGATTACTT  
 CAACGTGCTGCTTATAGGAGCCTGGGCAATTGTTCTTTCTTTACCGAGACAGGCT  
 GA

도면21ab

SEQ ID NO:28  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1 hinge- 829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1 signaling – 970-1260  
 GC linker- 1261-1305

VISTA(signaling domain)- 1306-1593

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTG  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTTCAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGACTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 GCGGTGGTGGGTGCGGTGGCGGCGGATCTTACAAGCAGAGGCAGGCAGCCAGCAA  
 CAGGAGAGCCCAGGAGCTGGTGAGGATGGACTCCAACATCCAGGGCATCGAGAAT  
 CCAGGATTCGAGGCCTCTCCACCTGCACAGGGCATCCCTGAGGCAAAGGTGCGGC  
 ACCCACTGAGCTATGTGGCACAGAGGCAGCCTAGCGAGTCCGGCCGCCACCTGCT  
 GTCTGAGCCCAGCACCCCTCTGTCCCCACCAGGACCAGGCGACGTGTTCTCCCCT  
 CCCTGGACCCTGTGCCAGATTCTCCAATTTTGAAGTGATCTGA



*도면21ad*

SEQ ID NO:30  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag – 64-93  
 PSMA scFV- 94-867  
 PD1 hinge- 868-944  
 PD1 TM- 945-1007  
 PD1 (signaling)-1008-1299

ATGGCACTGCCAGTGACCCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGGCACTGCCTGTGACAGCC  
 CTGCTGCTGCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGAGGTGCAGCTCCAGCAGAGCGG  
 ACCAGAGCTGGTGAAGCCAGGCACAAGCGTGC GGATCTCCTGCAAGACCTCTGGC  
 TACACCTTCACAGAGTATAACCATCCACTGGGTGAAGCAGAGCCACGGCAAGTCCCT  
 GGAGTGGATCGGCAACATCAATCCCAACAATGGCGGCACCACATAACAACCAGAAG  
 TTTGAGGACAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTATATGG  
 AGCTGAGGAGCCTGACCTCCGAGGACTCTGCCGTGTACTATTGCGCCGCCGGATGG  
 AATTCGATTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACCGTGAGCAGCGGCGGGCGGGCG  
 GCTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGGCTCCGACATCGTGATGACACAGTC  
 CCACAAGTTTATGTCTACCAGCGTGGGCGATCGCGTGTCTATCATCTGTAAGGCCA  
 GCCAGGACGTGGGCACCGCCGTGGATTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCC  
 TAAGCTGCTGATCTATTGGGCCTCTACAAGGCACACCGGCGTGCCCGACAGATTCA  
 CAGGCTCCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACAATCACCAACGTGCAGAGCGA  
 GGACCTGGCCGATTATTTCTGTCAGCAGTACAATTCCTATCCTCTGACATTTGGCGC  
 CGGCACCATGCTGGACCTGAAGAGGGCTGCCGCCACCGAGAGGAGAGCAGAGGTG  
 CCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCTGGT  
 GGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTGG  
 CCGTATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGGGGCCAGGCGCACAGGCCA  
 GCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGC  
 TGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCCAAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAG  
 CAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGC  
 AAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGAT  
 GGCCACTGTTCTTGCCCCCTGTGA

도면21ae

SEQ ID NO:31  
 CD8 SP 1-63  
 Myc tag- 64-93  
 HLA-A2 scFV 94-828  
 PD1 hinge – 829-906  
 PD1 TM – 907-969  
 PD1 (signaling)-970-1260  
 IRES-1264-1850  
 CD8 SP- 1857-1916  
 FLAG tag- 1917-1940  
 CD19 scFV-1941-2666  
 CD8 hinge- 2667-2801  
 CD8 TM-2802-2873  
 41BB-2874-2999  
 CD3z -3000-3335

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTC AAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAAGAGCAGCAGCACCCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTT CAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTT CAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTTCCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGTGACCCCTCTCCCTCC  
 CCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAAGGCCGGTGTGCGTTTGT  
 CTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACC  
 TGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCTAGGGGTCTTCCCTCTCGCCAAAGGAAT  
 GCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGAC  
 AACAACGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAG

도면21aee

GTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAA  
 CCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTC  
 AAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGA  
 TCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAA  
 ACGTCTAGGCCCCCGAACCACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGAT  
 AATATGGCCACAACCTGAATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGC  
 CTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGACTACAAAGACGATGACGACAAGGACATC  
 CAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCAT  
 CAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAA  
 CCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACCATAACATCAAGATTACACTCAGGAGT  
 CCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCA  
 ACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCG  
 TACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCG  
 GTGGTGGGTCGGGTGGCGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGG  
 CCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCAT  
 TACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGG  
 CTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAAATTCAGCTCTCAAATCCAG  
 ACTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTC  
 TGCAAACCTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGT  
 AGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCAC  
 TACCCACGACCCGAGGCCACCCACCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGT  
 CCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGG  
 TCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGT  
 CCTGCTGCTTTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTGCGAAGAAGCTGC  
 TGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGAC  
 GGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGA  
 AATTCAGCCGACGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTA  
 CAACGAACCTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGA  
 GGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAAGAATCCCCAAGAGGGC  
 CTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTA  
 TGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCA  
 GCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG  
 TGA

도면21af

SEQ ID NO:32  
 CD8 SP 1-63  
 Myc tag- 64-93  
 HLA-A2 scFV 94-828  
 PD1 hinge – 829-906  
 PD1 TM – 907-969  
 IRES-973-1559  
 CD8 SP- 1566-1625  
 FLAG tag-1626-1649  
 CD19 scFV-1650-2375  
 CD8 hinge-2376-2510  
 CD8 TM-2511-2582  
 41BB-2583-2708  
 CD3z 2709-3044

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAAGAGCAGCAGCACCCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGGACGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCGCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGACCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGT  
 TACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTC  
 CACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTT  
 GACGAGCATTCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGA  
 ATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTA  
 GCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCCTCTGCGGCC  
 AAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAGTGCCACGT  
 TGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACA  
 AGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCC  
 TCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCC  
 CGAACCACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAA  
 CCTGAATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACG  
 CCGCCAGGCCGACTACAAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGAC

**도면21aff**

TACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAA  
 GTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTTGGTATCAGCAGAAACCAGATGAACTGTT  
 AAACCTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAG  
 TGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAG  
 ATATTGCCACTTACTTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGGAGGG  
 GGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTTCGGGTG  
 GCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTC  
 ACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTG  
 TAAGCTGGATTCCGCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATG  
 GGGTAGTGAACACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCA  
 AGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGA  
 CACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTACTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGG  
 ACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCACTACCCCAGCACCG  
 AGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGA  
 GGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCT  
 GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGTCTGCTTTTAC  
 TCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG  
 CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCG  
 GTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC  
 GCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACCTCAATC  
 TTGGTCGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAG  
 AAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGC  
 TCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACG  
 CAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCCGCCACCAA  
 GGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGGTGA

**도면21ag**

SEQ ID NO:33  
 CD8 SP 1-63  
 Myc tag- 64-93  
 HLA-A2 scFV 94-828  
 PD1 hinge – 829-906  
 PD1 TM – 907-969  
 PD1 (signaling)-970-1260  
 P2A-1261-1326  
 CD8 SP-1327-1351  
 FLAG tag-1352-1410  
 CD19 scFV-1411-2136  
 CD8 hinge-2137-2271  
 CD8 TM-2272-2343  
 41BB-2344-2469  
 CD3z 2470-2805

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT

도면21agg

GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCGCGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCGGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTTTCCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCCTGGGtTCCGGCGCGACAA  
 ACTTTAGCTTGCTGAAGCAAGCTGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGCCCTGCCTTA  
 CCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGA  
 CTACAAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTG  
 TCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAG  
 TAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCT  
 ACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCT  
 GGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTA  
 CTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGG  
 AGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGGGATCTGA  
 GGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCC  
 GTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGGATTCTG  
 CCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACC  
 ACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAA  
 GAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATTTACT  
 ACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAA  
 GGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCC  
 GGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCG  
 CAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATT  
 TGGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTGGCGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTT  
 TACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCATCATGAG  
 GCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTATGCCGTTCCAGAGGAG  
 GAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAG  
 CCTACAAGCAGGGGAGAACAGCTCTACAACGAACCTCAATCTTGGTCGGAGAGA  
 GGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAA  
 GCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAG  
 ATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAA  
 GGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACG  
 CTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGGTGA

**도면21ah**

SEQ ID NO:34

CD8 SP 1-63

Myc tag- 64-93

HLA-A2 scFV 94-828

PD1 hinge – 829-906

PD1 TM – 907-969

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGA

**도면21ai**

SEQ ID:35

CD8 SP 1-63

Myc tag- 64-93

HLA-A2 scFV 94-828

PD1 hinge – 829-906

PD1 TM – 907-969

PD1 (signaling)-970-1260

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTC  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCCGCCGCGGCACCATCGG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCTAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGTGA

도면21aj

SEQ ID:36  
 CD8 SP 1-63  
 Myc tag- 64-93  
 HLA-A2 scFV 94-828  
 PD1 hinge – 829-906  
 PD1 TM – 907-969  
 PD1 (signaling)-970-1260  
 GS linker- 1261-1305  
 PD1 (signaling) 1306-1596

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGCGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTG  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACCTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTCAAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCG  
 CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTTCCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCAG  
 GCGGTGGTGGGTGCGGTGGCGGCGGATCTTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCAT  
 CGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTG  
 TTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCCAGAGCC  
 ACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTTCCATCCG  
 GAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGC  
 CCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGTGA

도면21ak

SEQ ID:37  
 CD8 signal peptide 1-63  
 Flag tag 64-87  
 CD19 scFV 88-813  
 CD8 hinge 814-948  
 CD8 TM 949-1020  
 CD28 1021-1677  
 CD3z 1678-2013

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCC  
 AGGCCGGACTACAAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGACTACAT  
 CCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAG  
 GACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACT  
 CCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCA  
 GTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATT  
 GCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGAC  
 CAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGC  
 GGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGA  
 GCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGC  
 TGGATTCCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTA  
 GTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGAC  
 AACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAAGTATGACACAG  
 CCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTAACGTTGGTAGCTATGCTATGGACTACT  
 GGGGCCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCACTACCCAGCACCGAGGCC  
 ACCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCAT  
 GTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGAT  
 ATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTCACTCGTG  
 ATCACTCTTACTGTCTCAGGCTGCTCTTGGCTCTCAACTATTCCCTTCAATTCAA  
 GTAACAGGAAACAAGATTTTGGTGAAGCAGTCGCCCATGCTTGTAGCGTACGACA  
 ATGCGGTCAACCTTAGCTGCAAGTATTCCTACAATCTCTTCTCAAGGGAGTCCGG  
 GCATCCCTTACAAAAGGACTGGATAGTGCTGTGGAAGTCTGTGTTGTATATGGGAA  
 TTAATCCAGCAGCTTCAGGTTTACTCAAAAACGGGGTTCAACTGTGATGGGAAAT  
 TGGGCAATGAATCAGTGACATTCTACCTCCAGAATTTGTATGTTAACCAAACAGAT  
 ATTTACTTCTGCAAAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTACCTAGACAATGAGAA  
 GAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCTAT  
 TTCCCGGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGTGGAGTCCTGGCTT  
 GCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTAATTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGG  
 AGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCAC  
 CCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCC  
 GCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCA  
 GCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAG  
 CGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAA  
 GAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGA  
 TTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGG  
 GACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTTTCACATGCAGGCCCTGCCG  
 CCTCGGTGA

**도면21a1**

SEQ ID: 38  
 CD8 SP- nucleotides 1-63.  
 Myc tag – nucleotides 64-93  
 scFV EGFR 94-816  
 CD8 hinge 817-951  
 CD8 TM 952-1023  
 41BB 1024-1149  
 CD3z 1150-1485

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGGACATCCTGCTGACCCAG  
 TCCCCAGTGATCCTGAGCGTGTCCCCAGGAGAGCGGGTGAGCTTCAGCTGCCGGGC  
 CTCCCAGTCTATCGGCACCAATATCCACTGGTATCAGCAGAGGACAAACGGCTCCC  
 CTCGCCTGCTGATCAAGTATGCCAGCGAGTCCATCTCTGGCATCCCATCTAGGTTC  
 AGCGGCTCCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGTCTATCAATAGCGTGGAGTCCGA  
 GGACATCGCCGATTACTATTGCCAGCAGAACAATAACTGGCCCACCACATTTGGCG  
 CAGGCACCAAGCTGGAGCTGAAGGGAGGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGCAGCG  
 GCGGAGGAGGCTCCCAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGACCAGGCCTGGTGCAGCC  
 TAGCCAGTCCCTGTCTATCACCTGTACAGTGTCTGGCTTCAGCCTGACCAACTACG  
 GAGTGCCTGGGTGCGGCAGTCTCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGCTGGGCGTGAT  
 CTGGAGCGGAGGCAATACAGACTATAACACCCCTTTTACATCCAGACTGTCTATCA  
 ATAAGGATAACAGCAAGTCCCAGGTGTTCTTTAAGATGAATAGCCTCCAGTCCAAC  
 GACACCGCATCTACTATTGTGCCAGAGCCCTGACATACTATGATTACGAGTTCGC  
 CTATTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACAGTGAGCGCCACCACTACCCAGCACCG  
 AGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGA  
 GGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCT  
 GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTTAC  
 TCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG  
 CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCG  
 GTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC  
 GCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATC  
 TTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAG  
 AAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGC  
 TCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACG  
 CAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCCGCCACCAA  
 GGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGGTGA

**도면21am**

SEQ ID NO:39  
 EGFR aCAR (based on Cetuximab scFv)  
 MALPVTALLLPLALLLHAARPDILLTQSPVILSVSPGERVVSFSCRASQSIGTNIHWYQQR  
 TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVSEEDIADYYCQNNNWPTTFGA  
 GTKLELKGSGSGSGSGSGSQVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH  
 WVRQSPGKLEWLGVIVSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIY  
 YCARALTYDYEFAYWQGQTLVTVSADYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP  
 EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ  
 PFMRPVQTTQEEDGCSRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR  
 EEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG  
 HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

**도면21an**

SEQ ID:40  
 EGFR aCAR (based on Panitumumab scFv)  
 MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQ  
 QKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIATYFCQHFHDLPLAF  
 GGGTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSSVSSGDY  
 YWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLSVTAADTAI  
 YYCVRDRVTGAFDIWGQGMVTVSSDYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE  
 ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPF  
 MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE  
 EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGH  
 DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

**도면21ao**

SEQ ID: 41  
 EGFR aCAR (based on Nimotuzumab scFv)  
 MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRSSQNIVHSNGNTYL  
 DWYQQTPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIATYFCFYSH  
 VPWTFGQGTKLQIGGGSGGGGSGGGGSQVQLQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTF  
 TNYIYVWRQAPGQGLEWIGGINPTSGGSNFNEKFKTRVTITADESSTAYMELSSLR  
 EDTAFYFCTRQGLWFDSDGRGDFWGGQTTVTVSSDYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTI  
 ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR  
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQL  
 YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM  
 KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

**도면21ap**

SEQ ID: 42  
 EGFR aCAR (based on Necitumumab scFv)  
 MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ  
 QKPGQAPRLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLPEDFAVYYCHQYGSTPLT  
 FGGTKAEIKGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGD  
 YYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTDYNPSLKSRTMSVDTSKNQFSLKVNSTAA  
 DTAVYYCARVSIFGVGTFDYWGQGLVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS  
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF  
 KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL  
 GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR  
 KGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

**도면21aq**

SEQ ID: 43  
 EGFR aCAR (based on C10 scFv)  
 MALPVTALLLPLALLLHAARQSVLTQDPAVSVVALGQTVKITCQGDSLRSYFASWYQ  
 QKPGQAPTLVYARNDPAGVPDRFSGSKSGTSASLSAISGLQPEDEAYYCAAWDDS  
 LNGYLFAGTKLTVLGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG  
 GTFSSYAIGWVRQAPGQGLEWMGGIIFIGIANYAQKFQGRVTITADESTSSAYMELSS  
 LRSEDTAVYYCAREEPYCSSTSCYAAFDIWGQGLVTLSSYKDDDDKTTTPAPRPPT  
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC  
 KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG  
 QNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS  
 EIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

**도면21ar**

SEQ ID: 44  
 HER2 aCAR based on Trastuzumab scFv  
 MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQ  
 QKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYYTPPTF  
 GQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI  
 HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT  
 AVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS  
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF  
 KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL  
 GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR  
 GKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

**도면21as**

SEQ ID: 45  
 HER2 aCAR based on Pertuzumab scFv  
 MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQ  
 QKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPFSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYIYYPY  
 FGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYI  
 MDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAE  
 DTAVYYCARNLPSFYFDYWGQGLTVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS  
 LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF  
 KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL  
 GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR  
 GKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

**도면21at**

SEQ ID NO:46  
Humanized HLA-A2scFv-IgG- VKA17/VH1-3  
 METDLLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYLE  
 WFQQRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGS  
 VPRTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT  
 FTSYHIQWVRQAPGQRLEWMGWIYPGDGSTQYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSS  
 LRSEDTAVYYCAREGTYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP  
 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ  
 YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
 SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV  
 DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

**도면21au**

SEQ ID NO:47  
Humanized HLA-A2scFv-IgG -VKA17/VH1-69  
 METDLLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYLE  
 WFQQRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGS  
 VPRTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGT  
 FSSYHIQWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGSTQYNEKFKGRVTITADKSTASTAYMELSS  
 LRSEDTAVYYCAREGTYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP  
 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ  
 YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
 SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV  
 DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

*도면21av*

SEQ ID NO:48

Humanized HLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-3

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYLE  
WYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGS  
HVPRTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASG  
YTFTSYHIQWVRQAPGQRLEWMGWIYPGDGSTQYNEKFKGRVTITRDTASTAYMEL  
SSLRSEDTAVYYCAREGTYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLG  
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP  
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT  
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

*도면21aw*

SEQ ID 49

Humanized HLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-69

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYLE  
WYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGS  
HVPRTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGG  
TFSSYHIQWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGSTQYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELS  
SLRSEDTAVYYCAREGTYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGG  
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ  
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP  
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV  
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

도면22a

Chr No.	iCAR 표적 유전자
1	ABCA4
1	ADAM30
1	CACNA1S
1	CD101
1	CD164L2
1	CD1A
1	CLCA2
1	CLSTN1
1	CR1
1	CR2
1	CSMD2
1	ELTD1
1	EMC1
1	EPHA10
1	FCGR2A
1	FCGR2B
1	FCGR3A
1	FCRL3
1	FCRL4
1	FCRL5
1	GPR37L1
1	GPR88
1	IGSF3
1	IL22RA1
1	ITGA10
1	LDLRAD2
1	LEPR
1	LRP8
1	MR1
1	NFASC
1	NOTCH2
1	OR10J1
1	OR10R2
1	OR10T2
1	OR2G2
1	OR6K3
1	OR6N1
1	PIGR
1	PLXNA2
1	PTCHD2
1	SDC3
1	SELE
1	SELL

도면22b

1	SELP
1	SEMA6C
1	TAS1R2
1	TLR5
1	TMEM81
1	TNFRSF1B
1	USH2A
2	DPP10
2	GPR35
2	ITGA4
2	ITGA6
2	LCT
2	LRP1B
2	LRP2
2	LY75
2	OR6B2
2	PLA2R1
2	SCN7A
2	THSD7B
3	ALCAM
3	ANO10
3	ATP13A4
3	CCRL2
3	CD200
3	CD200R1
3	CDCP1
3	CDHR4
3	CELSR3
3	CLDN18
3	CLSTN2
3	CSPG5
3	CX3CR1
3	DRD3
3	EPHB3
3	GABRR3
3	GPR128
3	GRM7
3	HEG1
3	HTR3C
3	HTR3D
3	IGSF11
3	IL17RC
3	IL17RD
3	IL5RA
3	IMPG2
3	ITGA9

도면22c

3	LRIG1
3	LRRC15
3	MST1R
3	NAALADL2
3	OR5AC1
3	OR5H1
3	OR5H14
3	OR5H15
3	OR5H6
3	PLXND1
3	PRRT3
3	PTPRG
3	ROBO2
3	RYK
3	SEMA5B
3	SLC22A14
3	SLC4A7
3	SUSD5
3	TFRC
3	TMEM44
3	ZPLD1
4	CNGA1
4	CORIN
4	EGF
4	EMCN
4	ENPEP
4	EPHA5
4	EVC2
4	FAT1
4	FAT4
4	FRAS1
4	GYPA
4	GYPB
4	KDR
4	KIAA0922
4	KLB
4	PARM1
4	PDGFRA
4	TLR1
4	TLR10
4	TLR6
4	TMEM156
4	TMPRSS11A
4	TMPRSS11B
4	TMPRSS11E
5	ADAM19

도면22d

5	ADRB2
5	CDH12
5	CDHR2
5	COL23A1
5	FAT2
5	FGFR4
5	GABRG2
5	GPR98
5	GRM6
5	HAVCR1
5	HAVCR2
5	IL6ST
5	LNPEP
5	MEGF10
5	PCDH12
5	PCDHA2
5	PCDHA4
5	PCDHA8
5	PCDHA9
5	PCDHB10
5	PCDHB11
5	PCDHB13
5	PCDHB15
5	PCDHB16
5	PCDHB3
5	PCDHB4
5	PCDHB6
5	SLCO6A1
5	SV2C
6	BAI3
6	BTN1A1
6	BTN3A2
6	BTNL2
6	ENPP1
6	ENPP3
6	GABRR1
6	GFRAL
6	GPR111
6	GPR116
6	GPR126
6	GPRC6A
6	HFE
6	HLA-A
6	HLA-B
6	HLA-C
6	HLA-DPA1

도면22e

6	HLA-DQA1
6	HLA-DQB1
6	HLA-DQB2
6	HLA-DRB1
6	HLA-DRB5
6	HLA-E
6	HLA-F
6	HLA-G
6	ITPR3
6	LMBRD1
6	LRFN2
6	LRP11
6	MEP1A
6	MICA
6	MICB
6	MUC21
6	MUC22
6	NCR2
6	NOTCH4
6	OPRM1
6	OR10C1
6	OR12D2
6	OR14J1
6	OR2J1
6	OR5V1
6	PKHD1
6	PTCRA
6	RAET1E
6	RAET1G
6	ROS1
6	SDIM1
6	SLC44A4
6	TREM1
6	TREML2
7	AQP1
7	CDHR3
7	CNTNAP2
7	DPP6
7	EGFR
7	ERVW-1
7	GRM8
7	HYAL4
7	MUC12
7	MUC17
7	NPSR1
7	OR2A12

도면2f

7	OR2A14
7	OR2A2
7	OR2A25
7	OR2F2
7	PKD1L1
7	PODXL
7	PTPRN2
7	PTPRZ1
7	TAS2R4
7	THSD7A
7	TMEM213
7	ZAN
7	ZP3
8	ADAM7
8	CHRNA2
8	CSMD1
8	CSMD3
8	NRG1
8	PRSS55
8	SLC39A14
8	TNFRSF10A
8	TNFRSF10B
9	ABCA1
9	AQP7
9	CNTNAP3
9	CNTNAP3B
9	GPR144
9	GRIN3A
9	KIAA1161
9	MUSK
9	OR13C2
9	OR13C5
9	OR13C8
9	OR13C9
9	OR13D1
9	OR13F1
9	OR1B1
9	OR1L6
9	OR1N1
9	OR1N2
9	OR1Q1
9	OR2S2
9	PCSK5
9	ROR2
9	SEMA4D
9	TMEM2

도면22g

10	ADRB1
10	ANTXRL
10	ATRNL1
10	C10orf54
10	CDH23
10	COL17A1
10	IL15RA
10	MRC1
10	NRP1
10	OPN4
10	PCDH15
10	PKD2L1
10	PLXDC2
10	SLC29A3
10	SLC39A12
10	TACR2
10	VSTM4
11	AMICA1
11	C11orf24
11	CD248
11	CD44
11	CD5
11	CD6
11	CDON
11	DCHS1
11	DSCAML1
11	FAT3
11	FOLH1
11	GDPD4
11	GDPD5
11	HTR3B
11	IL10RA
11	LRP4
11	LRP5
11	MFRP
11	MPEG1
11	MRGPRE
11	MRGPRF
11	MRGPRX3
11	MRGPRX4
11	MS4A4A
11	MUC15
11	NAALAD2
11	OR10A2
11	OR10D3
11	OR10G4

도면22h

11	OR10G7
11	OR10G9
11	OR10Q1
11	OR10S1
11	OR1S1
11	OR2AG1
11	OR2AG2
11	OR2D2
11	OR4A15
11	OR4A5
11	OR4C11
11	OR4C16
11	OR4C3
11	OR4C5
11	OR4D6
11	OR4X1
11	OR51L1
11	OR52A1
11	OR52E1
11	OR52E2
11	OR52E4
11	OR52E6
11	OR52J3
11	OR52L1
11	OR52N1
11	OR52N2
11	OR56B4
11	OR5A1
11	OR5A2
11	OR5AK2
11	OR5AR1
11	OR5B17
11	OR5B3
11	OR5D18
11	OR5M11
11	OR5R1
11	OR5T2
11	OR6A2
11	OR6X1
11	OR8A1
11	OR8B2
11	OR8B3
11	OR8B4
11	OR8D1
11	OR8D2
11	OR8H1

도면22i

11	OR8H3
11	OR8J3
11	OR8K1
11	OR8U1
11	OR9G1
11	OR9G4
11	OR9Q2
11	PTPRJ
11	ROBO3
11	SLC22A10
11	TMPRSS5
11	TSPAN18
11	ZP1
12	CD163
12	CD27
12	CLEC12A
12	CLEC2A
12	CLEC4C
12	ITGA7
12	KLRB1
12	KLRC2
12	KLRC4
12	KLRF2
12	LRP6
12	MANSC4
12	OLR1
12	OR10AD1
12	OR10P1
12	OR6C1
12	OR6C74
12	OR8S1
12	OR9K2
12	P2RX4
12	P2RX7
12	PTPRB
12	PTPRQ
12	SELPLG
12	SLC38A4
12	SLC5A8
12	SLCO1B1
12	SLCO1B7
12	STAB2
12	TAS2R13
12	TAS2R20
12	TAS2R30
12	TAS2R31

도면22j

12	TAS2R42
12	TAS2R43
12	TAS2R46
12	TMEM119
12	TMEM132B
12	TMEM132C
12	TMPRSS12
13	ATP7B
13	FLT3
13	FREM2
13	KL
13	SGCG
13	SHISA2
13	SLC15A1
13	TNFRSF19
14	ADAM21
14	C14orf37
14	FLRT2
14	GPR135
14	GPR137C
14	JAG2
14	MMP14
14	SYNDIG1L
15	ANPEP
15	CD276
15	CSPG4
15	DUOX2
15	IGDCC4
15	ITGA11
15	LYSMD4
15	MEGF11
15	PRTG
15	SEMA4B
15	SEMA6D
15	SLC24A1
15	SLC28A1
15	TRPM1
15	TYRO3
16	ATP2C2
16	CACNA1H
16	CD19
16	CDH11
16	CDH3
16	CDH5
16	CNGB1
16	CNTNAP4

도면22k

16	GPR56
16	IL4R
16	ITGAL
16	ITGAM
16	ITGAX
16	KCNG4
16	MMP15
16	NOMO1
16	OR2C1
16	PKD1
16	PKD1L2
16	TMC7
17	ACE
17	ASGR2
17	C17orf80
17	CD300A
17	CD300E
17	CD300LG
17	CHRNB1
17	CXCL16
17	GP1BA
17	GUCY2D
17	ITGA2B
17	ITGA3
17	ITGAE
17	ITGB3
17	KCNJ12
17	LRRC37A
17	LRRC37A2
17	LRRC37A3
17	LRRC37B
17	MRC2
17	OR1A2
17	OR3A2
17	OR4D1
17	OR4D2
17	RNF43
17	SCN4A
17	SDK2
17	SEZ6
17	TMEM132E
17	TNFSF12
17	TTYH2
17	TUSC5
18	APCDD1
18	CDH19

도면221

18	CDH20
18	CDH7
18	COLEC12
18	DCC
18	DSC1
18	DSG1
18	DYNAP
18	MEP1B
18	TNFRSF11A
19	ABCA7
19	BCAM
19	CATSPERD
19	CATSPERG
19	CD33
19	CD97
19	CEACAM21
19	CLEC4M
19	DLL3
19	EMR1
19	EMR2
19	EMR3
19	ERVV-2
19	FAM187B
19	FFAR3
19	FPR1
19	GFY
19	GRIN3B
19	ICAM3
19	IL12RB1
19	IL27RA
19	KIR2DL3
19	KIR2DL4
19	KIR3DL1
19	KIR3DL2
19	KIR3DL3
19	LAIR1
19	LILRA2
19	LILRB3
19	LILRB4
19	LILRB5
19	MADCAM1
19	MUC16
19	OR10H1
19	OR10H2
19	OR10H3
19	OR7C1

도면22m

19	OR7D4
19	OR7G1
19	PTPRH
19	SIGLEC10
19	SIGLEC11
19	SIGLEC12
19	SIGLEC5
19	SIGLEC6
19	SIGLEC8
19	SIGLEC9
19	SLC44A2
19	SLC7A9
19	TMPRSS9
19	VN1R2
19	VSIG10L
19	VSTM2B
20	JAG1
20	LRRN4
20	PTPRA
20	SEL1L2
20	SIGLEC1
20	SIRPA
20	SIRPB1
20	SIRPG
20	SLC24A3
21	CLDN8
21	DSCAM
21	ICOSLG
21	IFNAR1
21	IFNGR2
21	IGSF5
21	KCNJ15
21	NCAM2
21	TMPRSS15
21	TMPRSS2
21	TMPRSS3
21	UMODL1
22	CELSR1
22	COMT
22	CSF2RB
22	GGT1
22	GGT5
22	KREMEN1
22	MCHR1
22	P2RX6
22	PKDREJ
22	SCARF2
22	SEZ6L
22	TMPRSS6

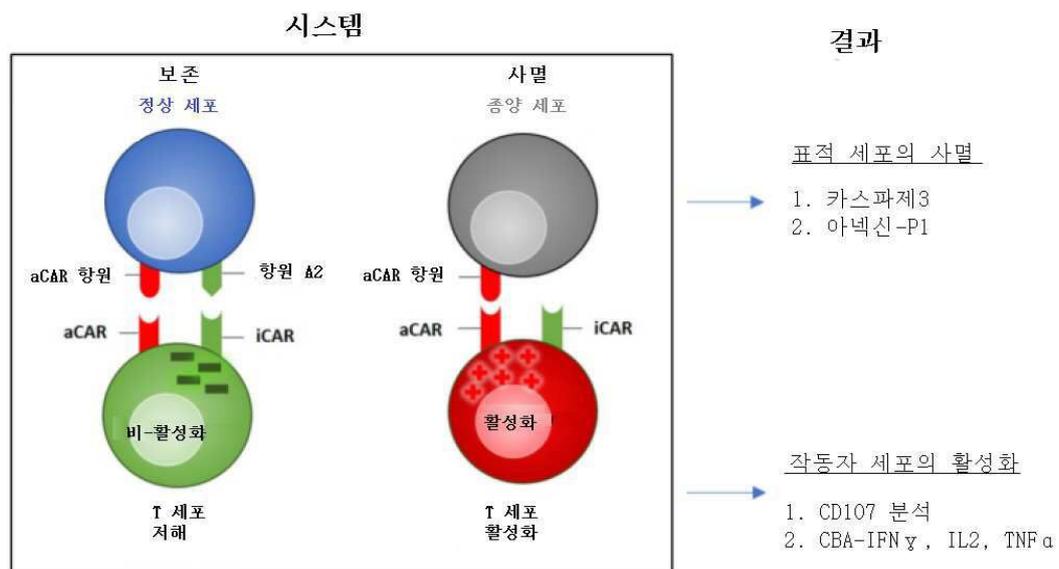
도면23

aCAR 표적
5T4
AFP
AXL
B7H6
CD133
CD19
CD20
CD22
CD30
CD44v6
CD5
CD7
CD70
CD80
CD89
CDH17
CEA
CLD18
CLEC14a
CLL-1
cMet
CS1
EGFR
EGFRvIII
EpCAM
NY-ESO-1
FAP
FHSR
GP100
GPC3
HER2
IL-13R_
IL-13R_2
K-Ras
메소탈린
MUC1
MUC-CD
NKG2D 리간드
NKG2D 리간드
PDL1
PSCA
PSMA
ROR1
ROR-2
서비빈
TEM8
TGF_
VEGFR2
ALK

도면24

종양 유형
ov
prad
meso
coadread
hnsc
luad
lusc
lihc
kirc
kirp
kich
dlbc
laml
gbm
brca
sarc
paad
chol
stad
blca
tgct
skcm
lgg
ucs
ucec
cesc
esca

도면25



도면26

프로토콜 - CD107a

T 세포에 aCAR 및 iCAR mRNA를 여러가지 비율로 BP 처리한다



CAR 구조체의 발현을 유세포 측정에 의해 정량한다



작동자 T 세포와 Raji/Raji-A2 세포를 공동 배양한다 (CD107a)



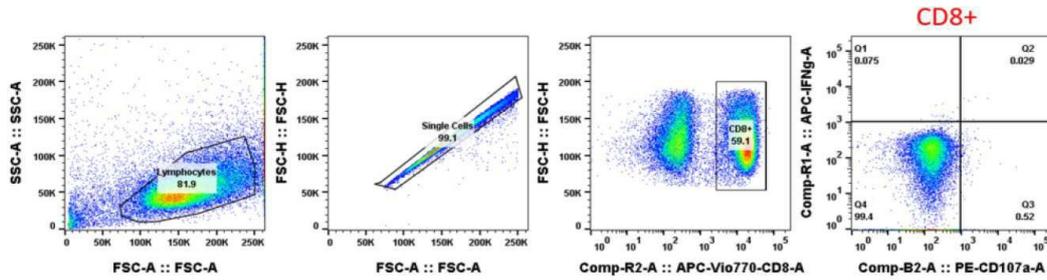
곰지 스타프 및 브레펠딘을 첨가하여,  
사이토카인 분비 및 탈과립화를 방지한다



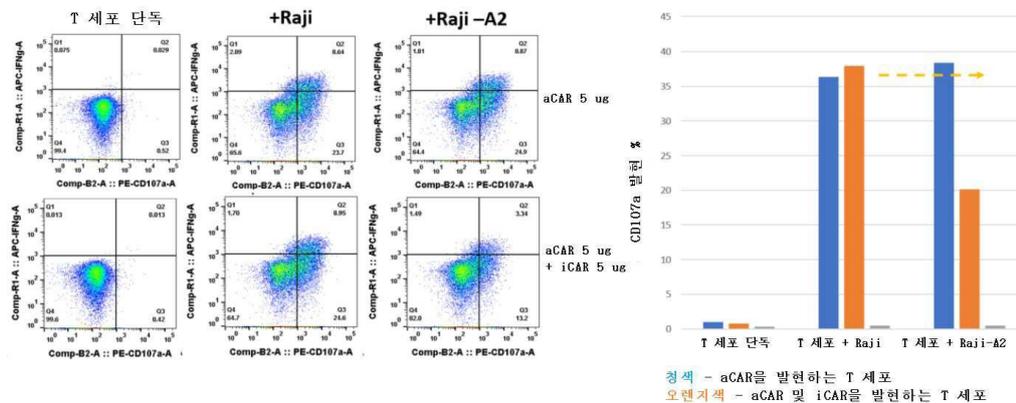
4시간 공동 배양

세포를 고정하고, CD8 및 IFN $\gamma$ 에 대해 염색하여 FACS로 분석한다

도면27



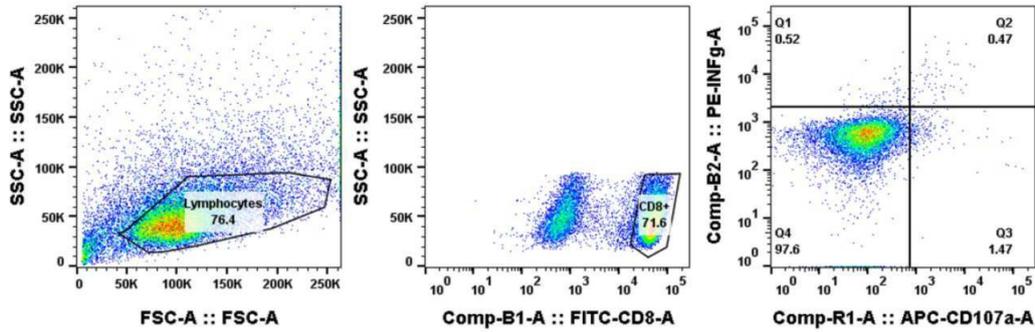
도면28



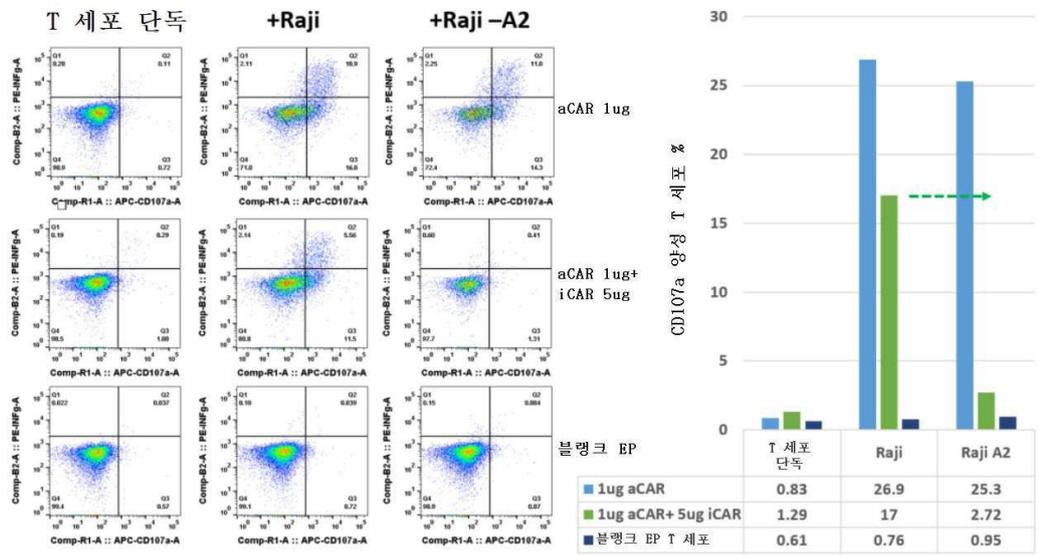
청색 - aCAR을 발현하는 T 세포  
오렌지색 - aCAR 및 iCAR을 발현하는 T 세포

도면29

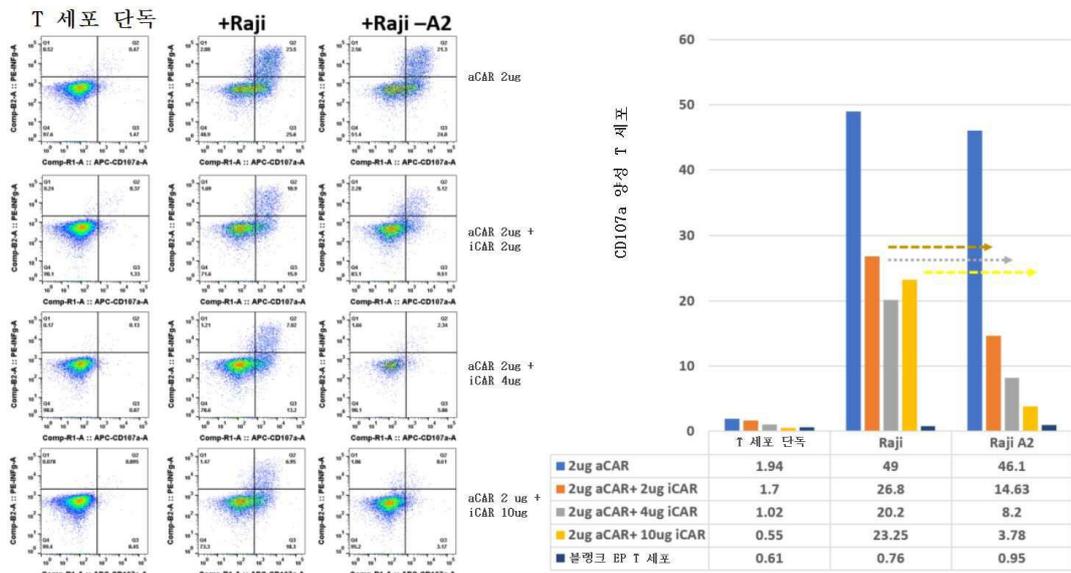
게이팅 전략



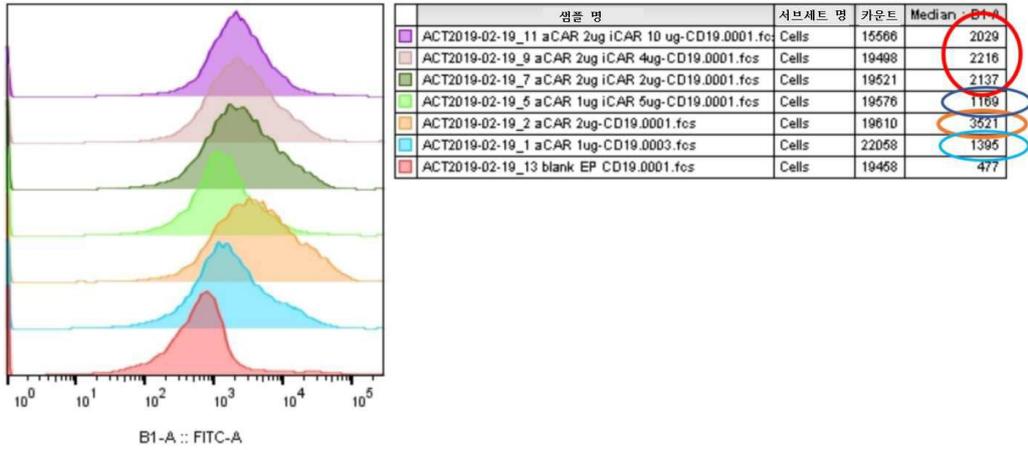
도면30



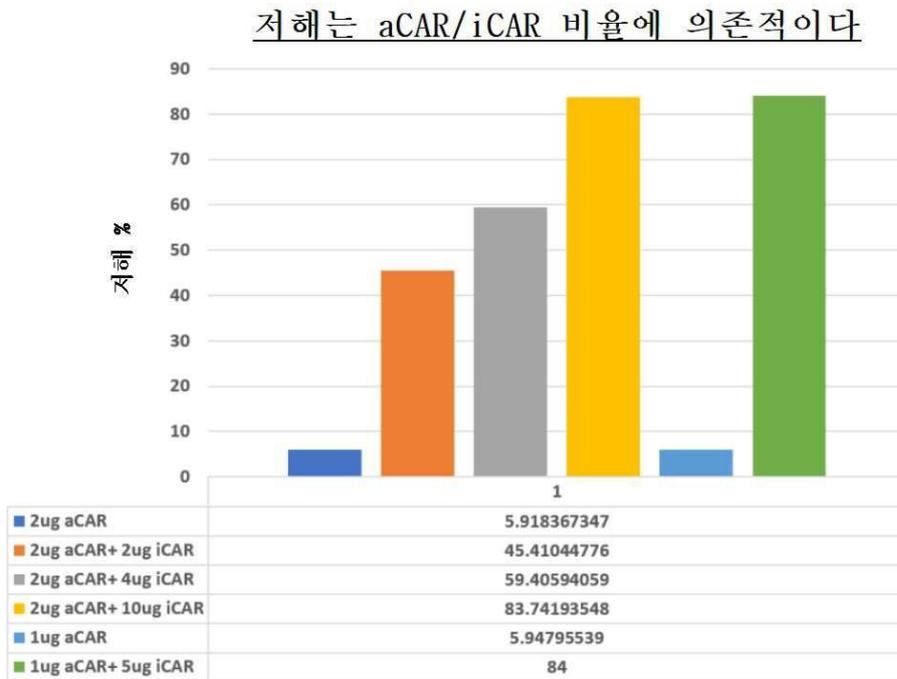
도면31



도면32

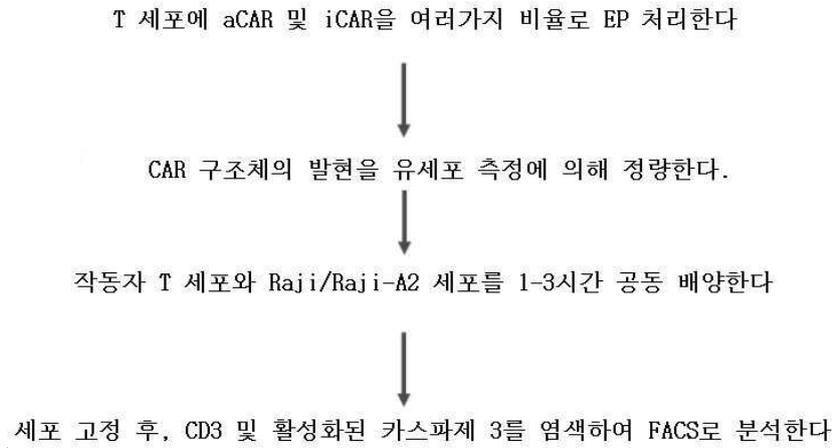


도면33

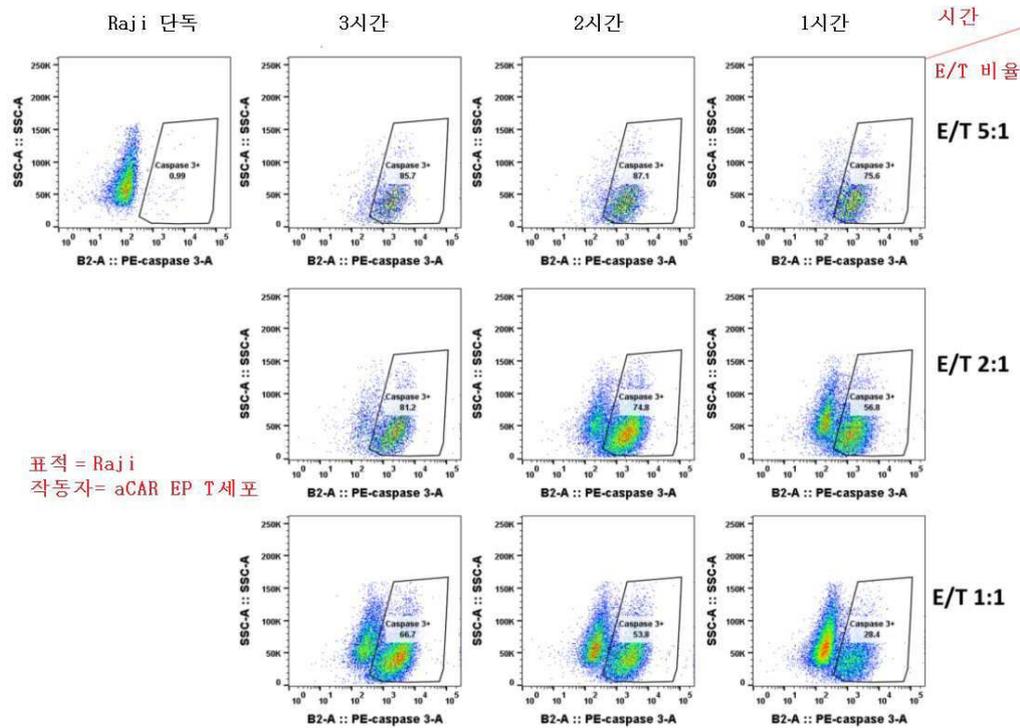


도면34

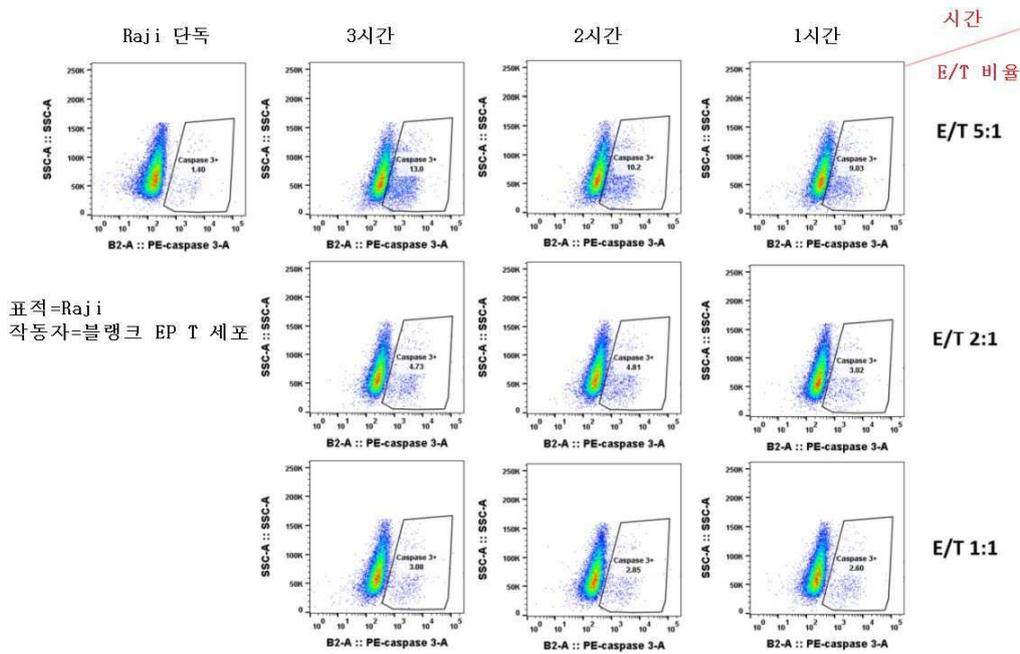
프로토콜 - 카스파제 3



도면35

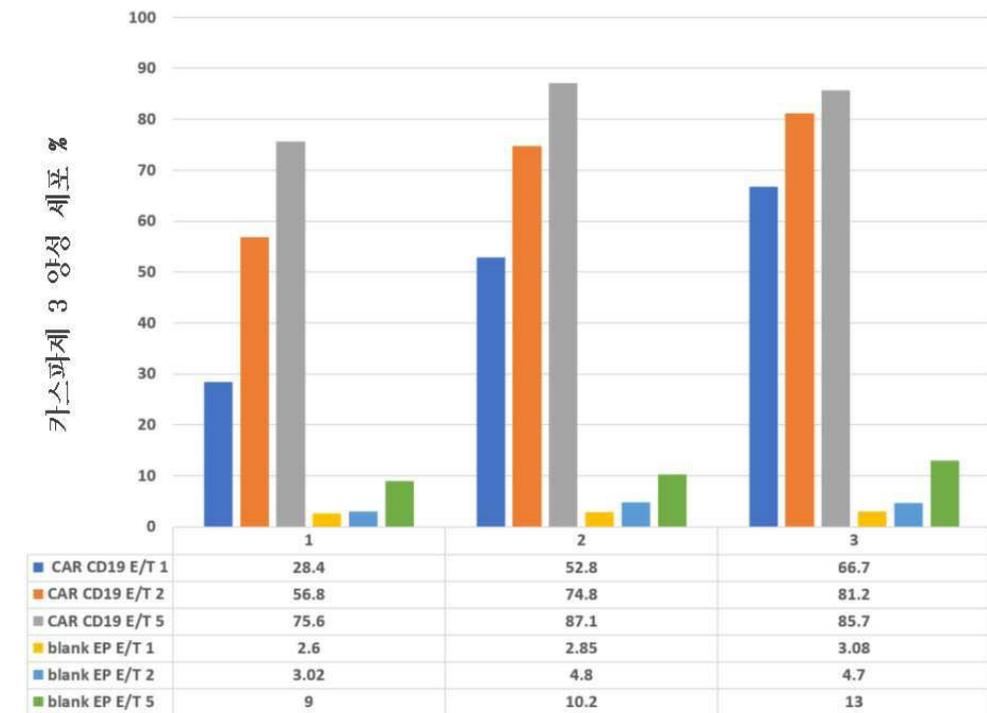


도면36



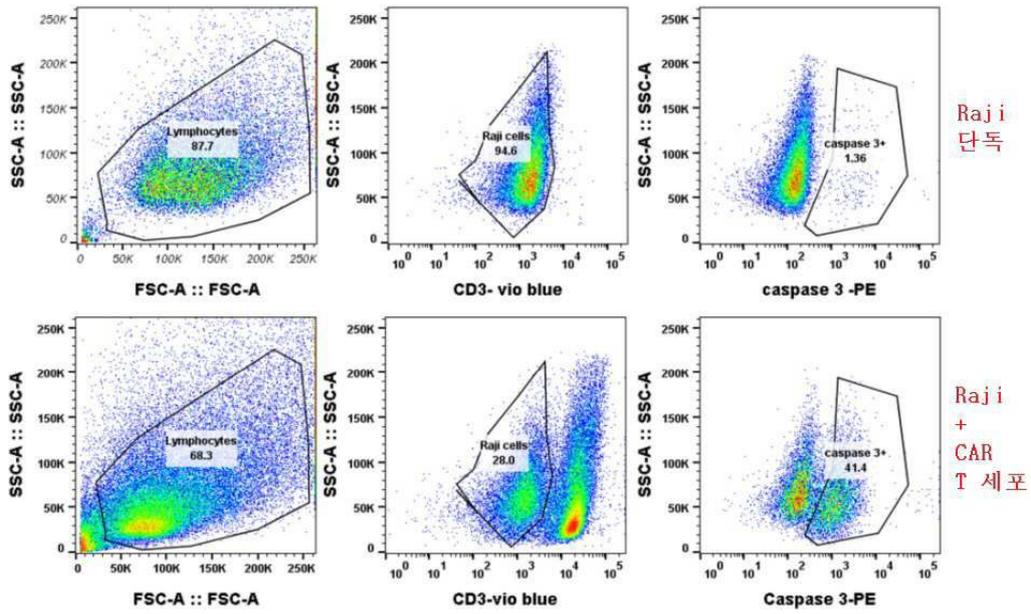
도면37

카스파제 3 활성화 수준에 대한 시간 및 E/T 비율 효과

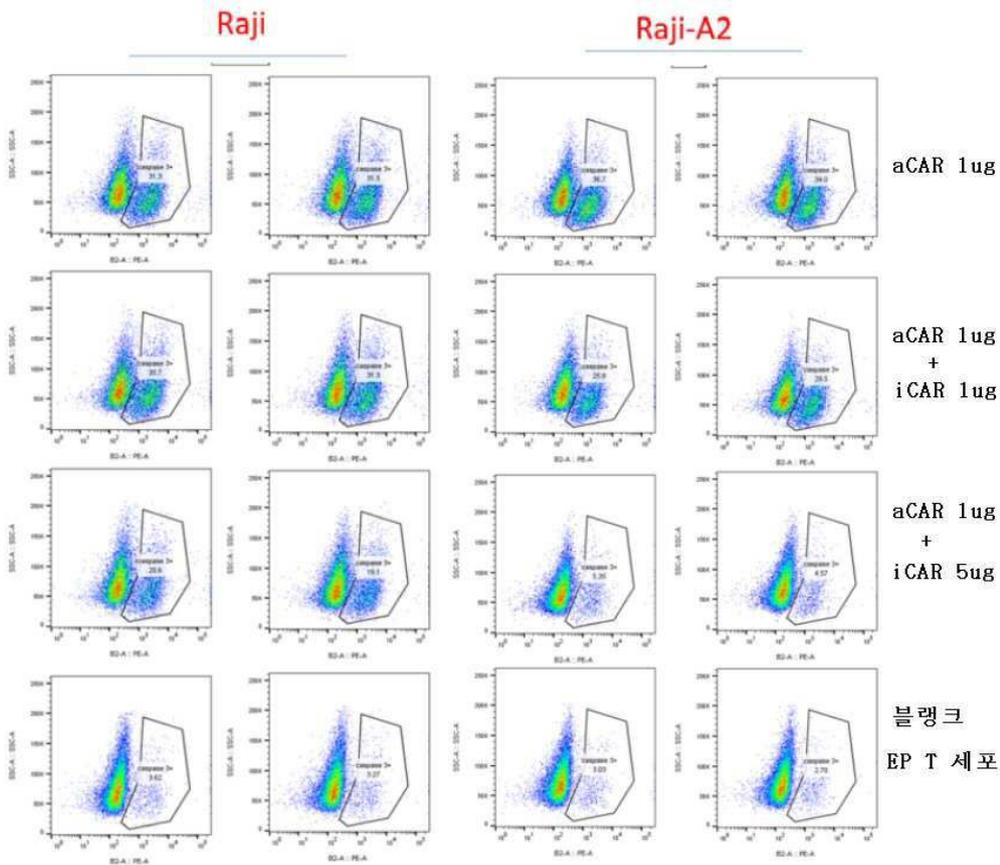


도면38

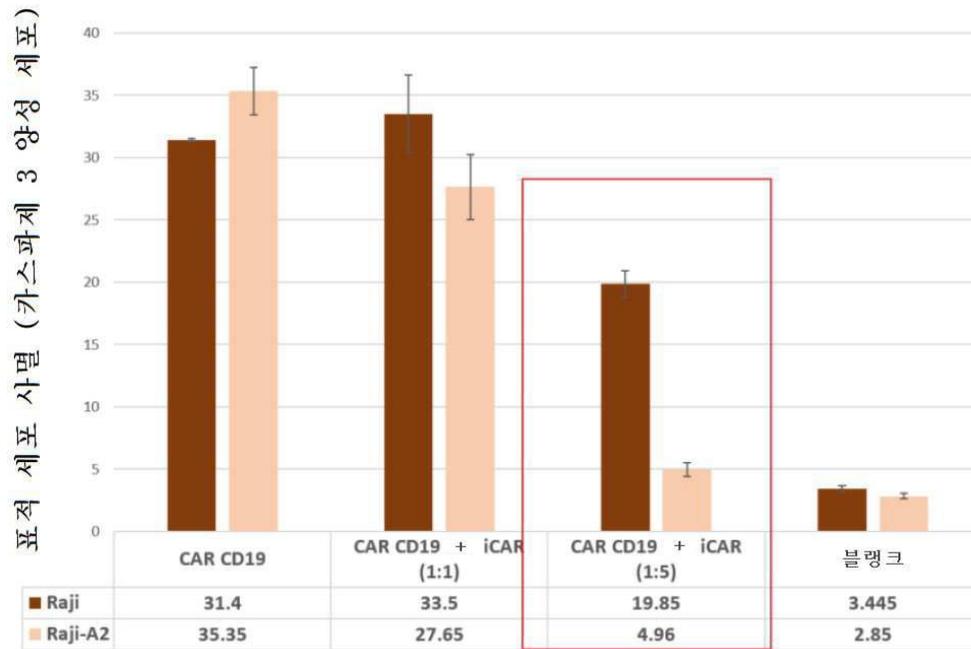
게이팅 전략 - 카스파제 3 분석



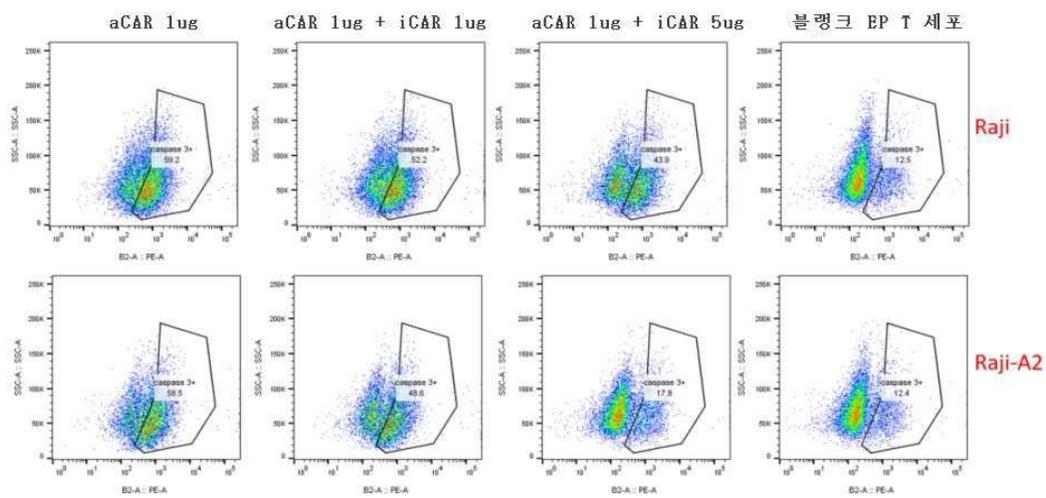
도면39



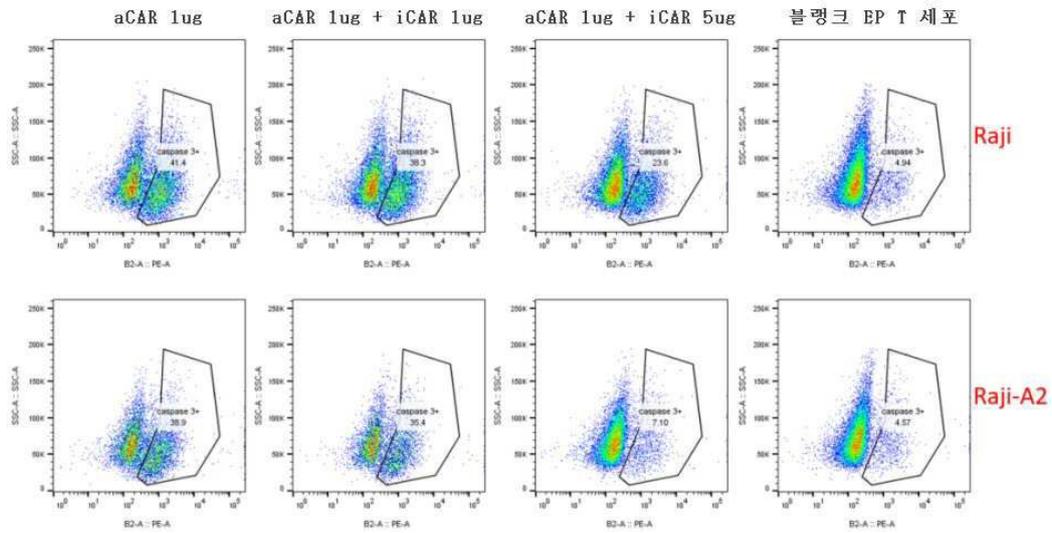
도면40



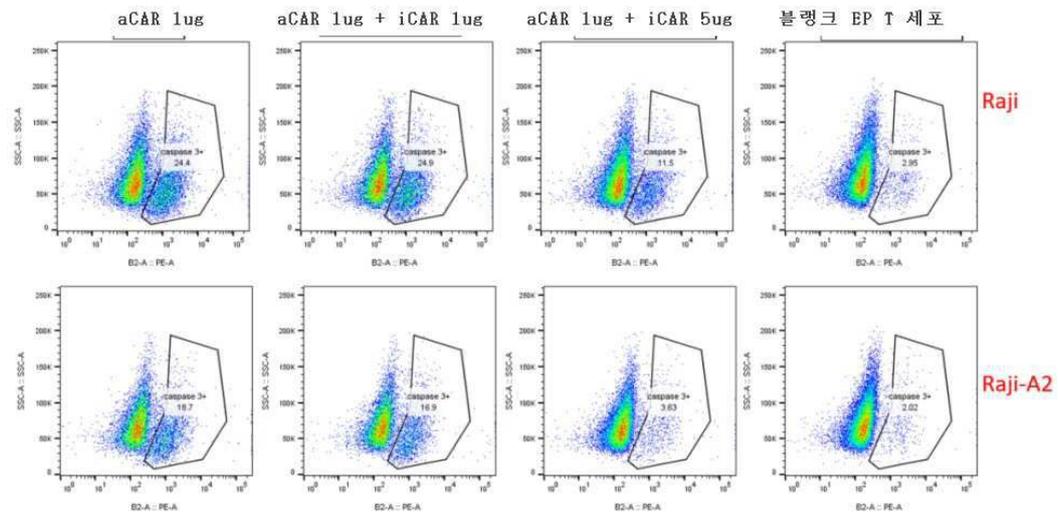
도면41



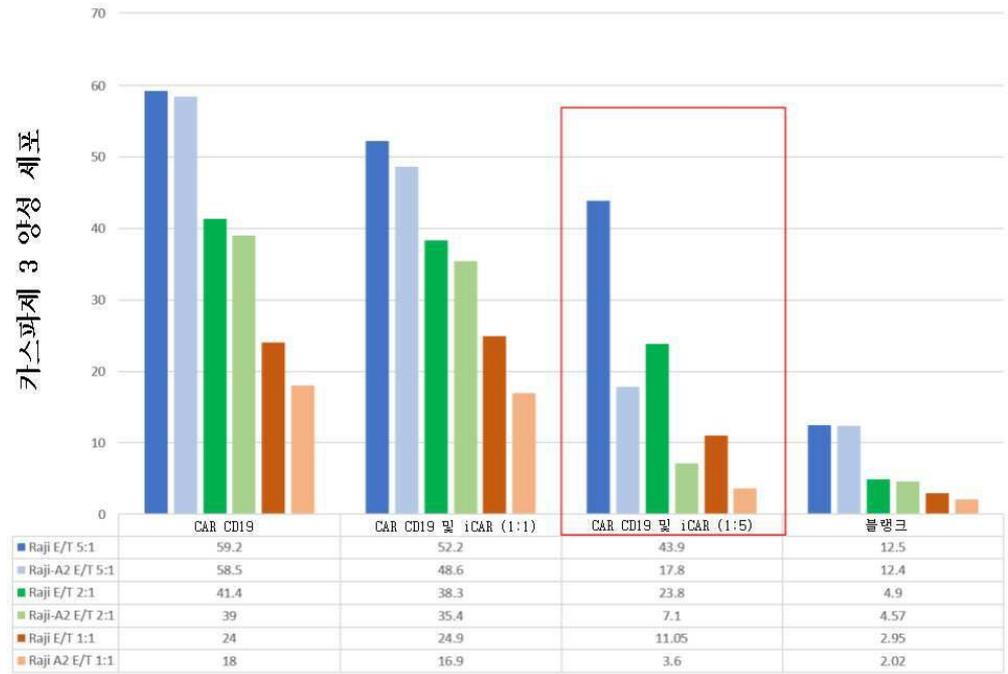
도면42



도면43

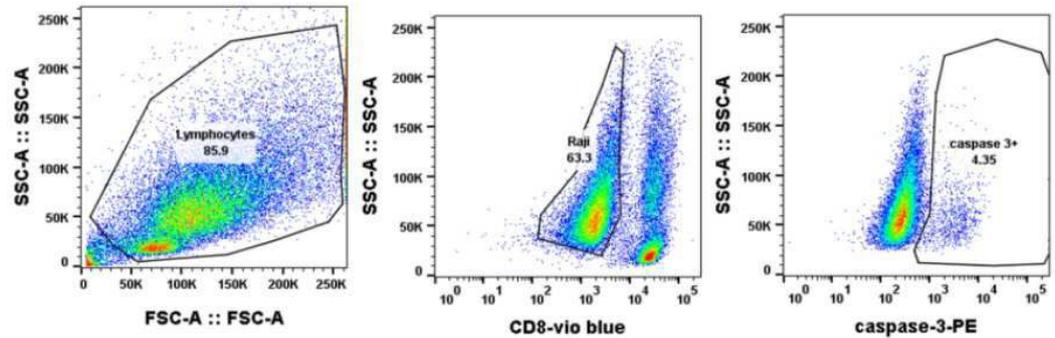


도면44



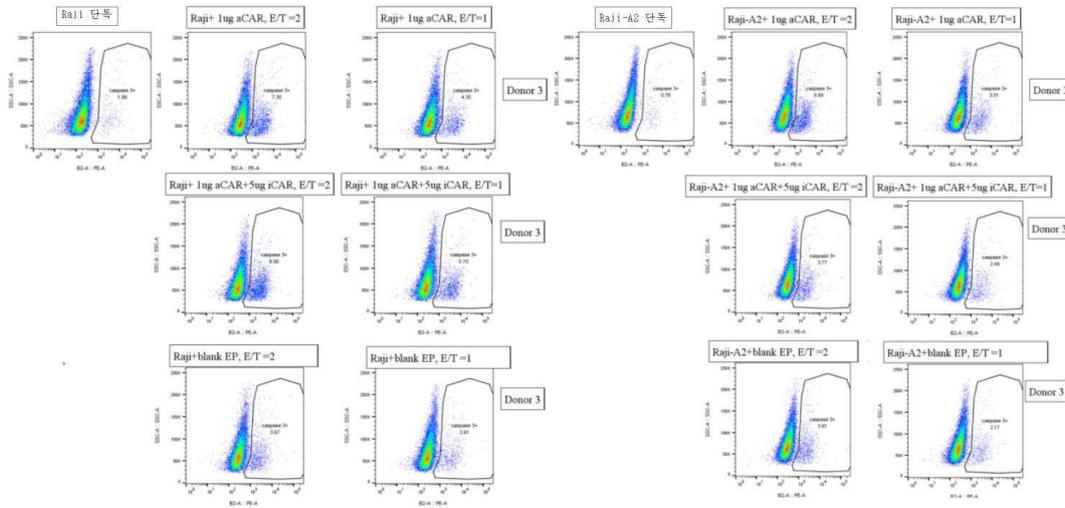
도면45

게이팅 전략



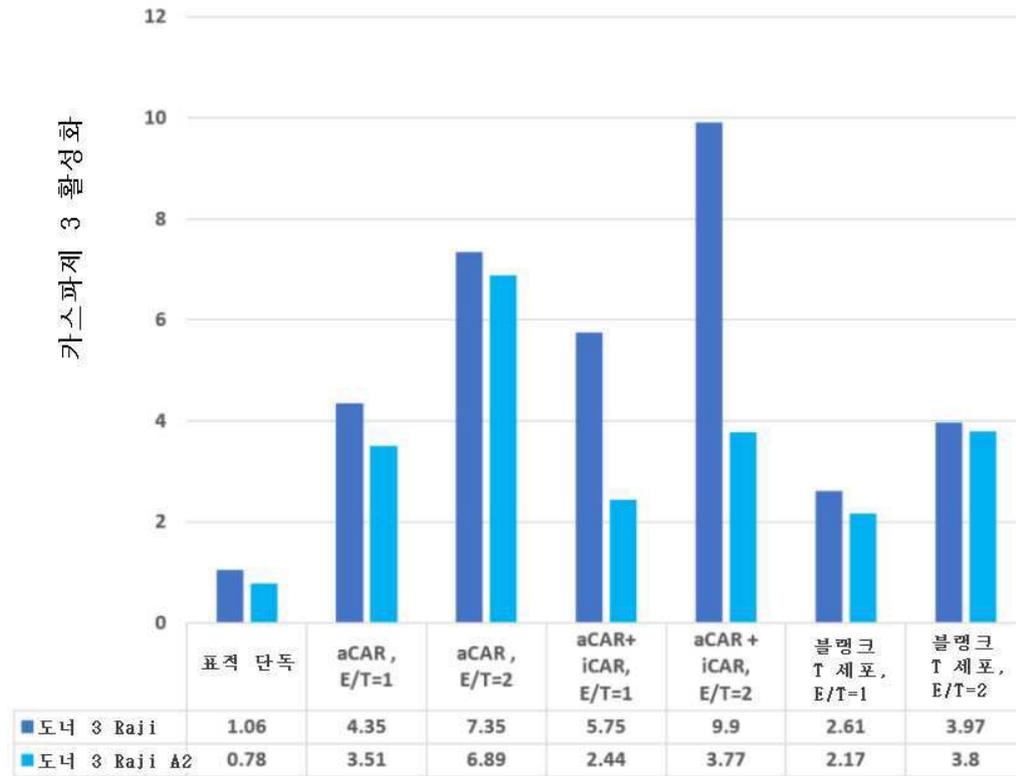
도면46

E/T 비율 2:1 또는 1:1,  
aCAR (1 ug) 및 iCAR (5 ug), EP T 세포, Exp42, 도너 3



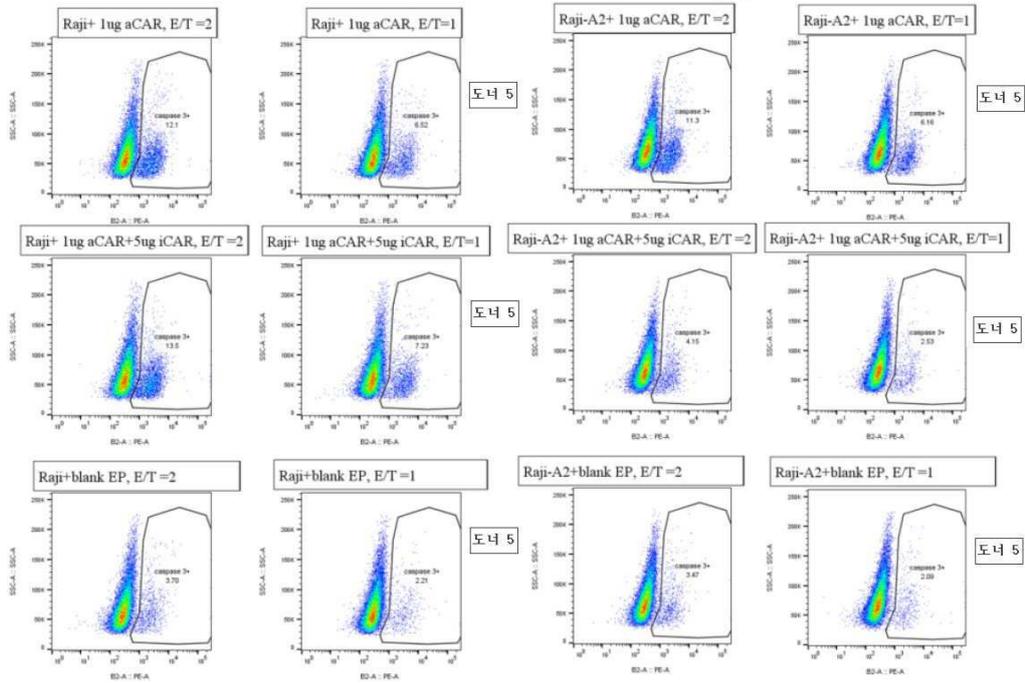
도면47

도너 3, 백그라운드 수준으로 현저한 저해



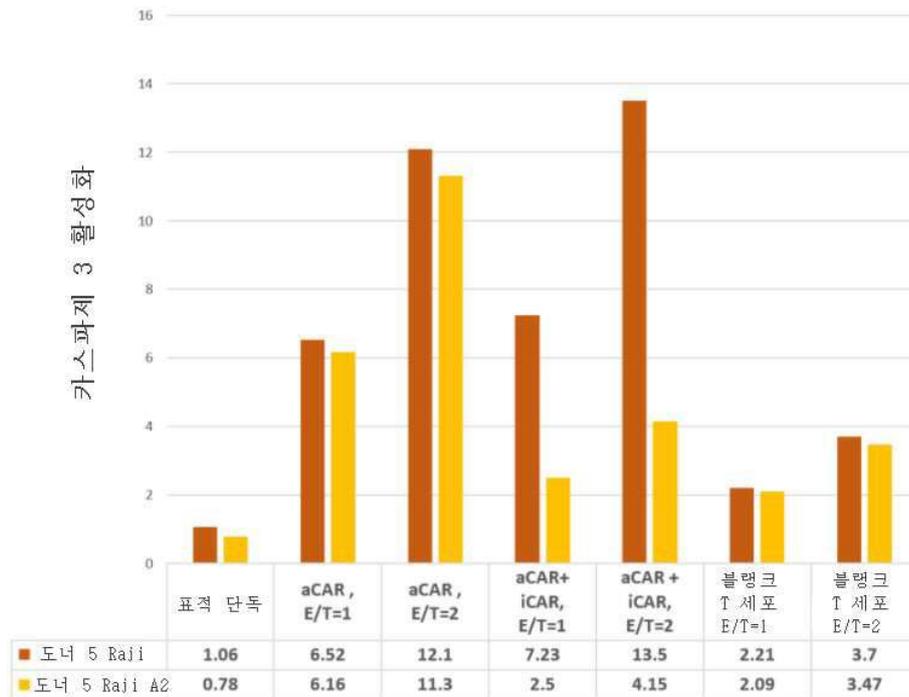
도면48

E/T 비율 2:1 또는 1:1,  
aCAR (1 ug) 및 iCAR (5 ug), EP T 세포, Exp42, 도너 5

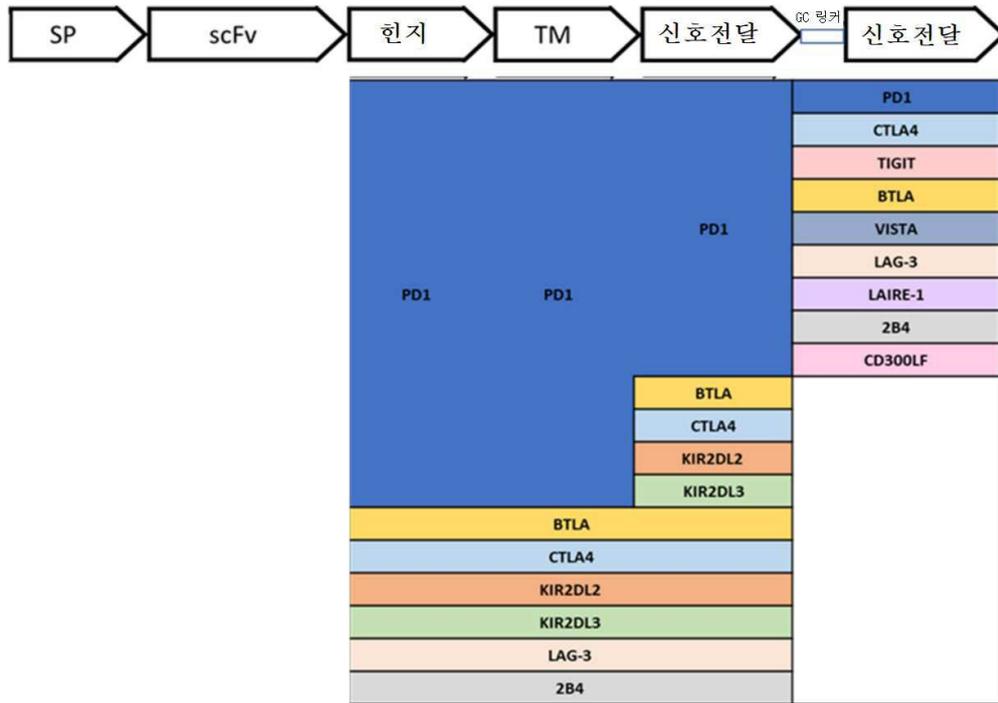


도면49

도너 5, 도너 3과 유사하게 백그라운드 수준으로 현저한 저해



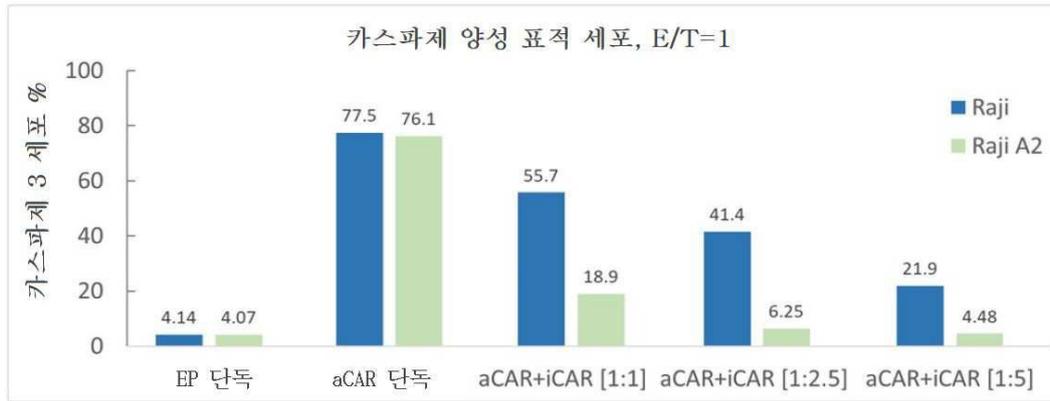
도면50



도면50b

백터 ID	Tag	iCAR scFv	iCAR 힌지	iCAR TM	iCAR 신호 1	iCAR 신호 2	BICISTRONIC	리포터	Tag2	aCAR scFv	aCAR 힌지	aCAR 신호 1	aCAR 신호 2
PL38	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	NA	IRE5	EGFP		NA	NA	NA	NA
PL55	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
pl59	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	PD1	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL65	Myc	BB7.2	PD1	PD1	NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL76	Myc	BB7.2	PD1	PD1	KIR2DL2	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL77	Myc	BB7.2	PD1	PD1	CSK	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL78	Myc	BB7.2	PD1	PD1	BTLA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL79	Myc	BB7.2	PD1	PD1	CTLA4	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL87	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	CTLA4mut	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL88	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	LAG-3	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL89	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	2B4	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL81	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	CD300LF	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL86	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	BTLA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL82	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	LAIR1	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL83	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	TIGIT	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL84	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	VISTA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL85	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	Ly9	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL91	Myc	PSMA	PD1	PD1	PD1	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL92	Myc	EGFR	PD1	PD1	PD1	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL69	Myc	BB7.2	CLTA4mut	CLTA4mut	CLTA4mut	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL70	Myc	BB7.2	LAG-3	LAG-3	LAG-3	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL71	Myc	BB7.2	2B4	2B4	2B4	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL72	Myc	BB7.2	BTLA	BTLA	BTLA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL73	Myc	BB7.2	KIR2DL3	KIR2DL3	KIR2DL3	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL74	Myc	BB7.2	KIR2DL2	KIR2DL2	KIR2DL2	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA
PL93	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	NA	IRE5	NA	Flag	FMC63	CD8	41BB	CD3 zeta
PL94	Myc	BB7.2	PD1	PD1	NA	NA	IRE5	NA	Flag	FMC63	CD8	41BB	CD3 zeta
PL95	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Flag	FMC63	CD8	CD28	CD3 zeta
PL96	Myc	BB7.2	PD1	PD1	PD1	NA	P2A	NA	Flag	FMC63	CD8	41BB	CD3 zeta

도면51

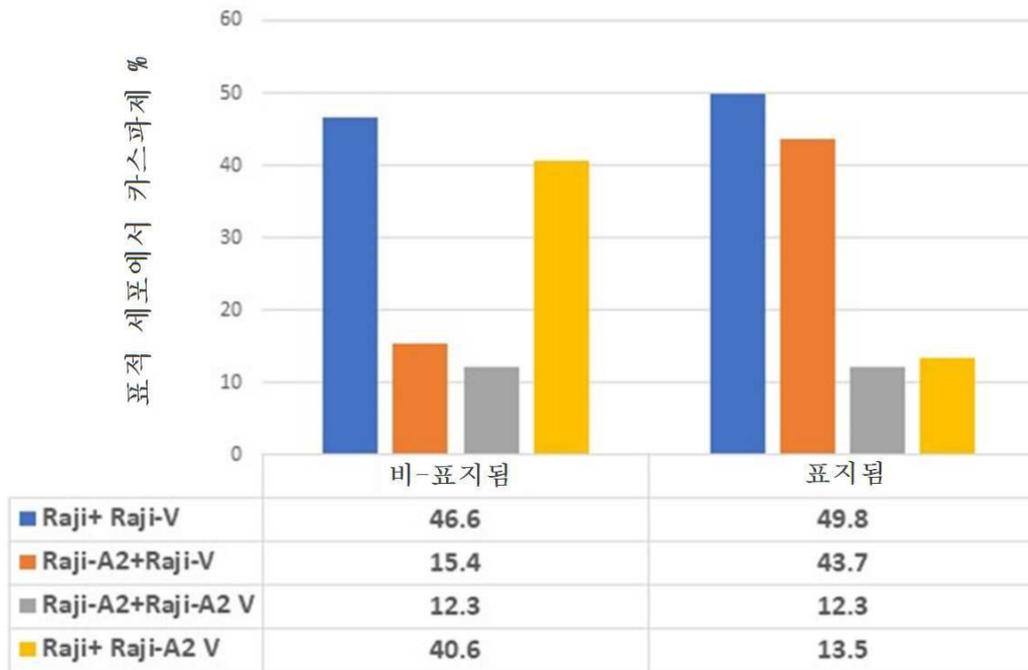


도면52

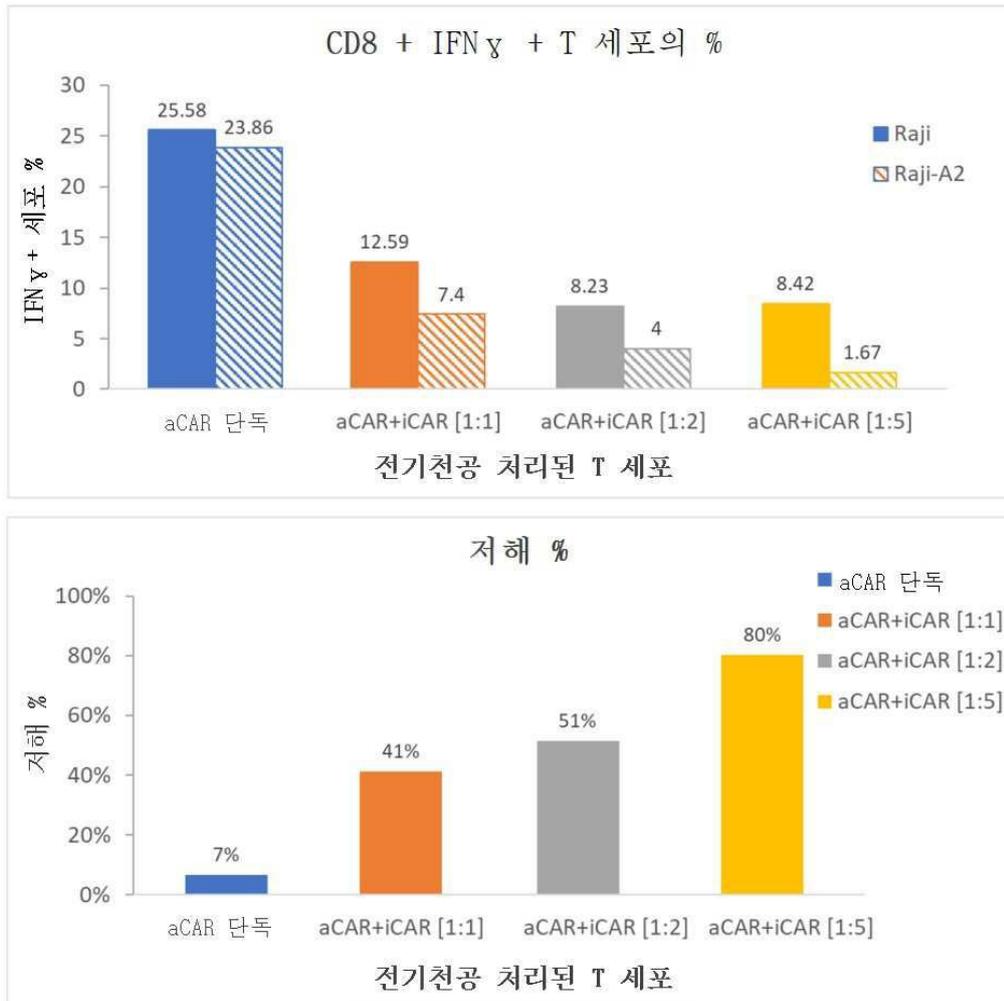


도면53

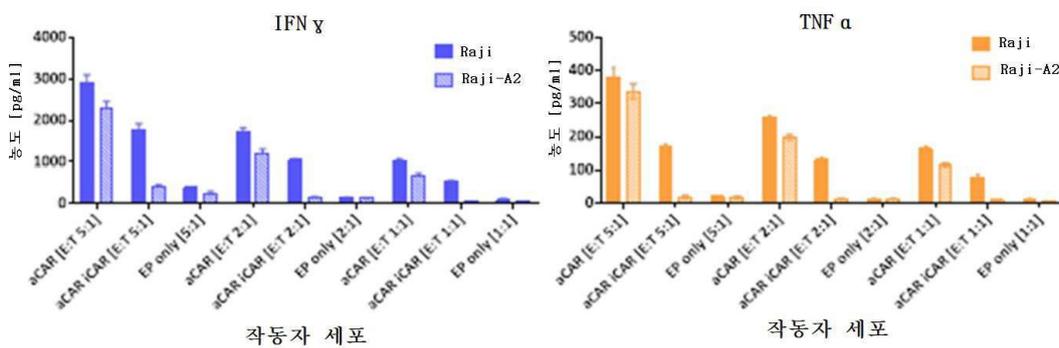
더블 EP T 세포에 의한 표적 세포의 사멸, E/T=1



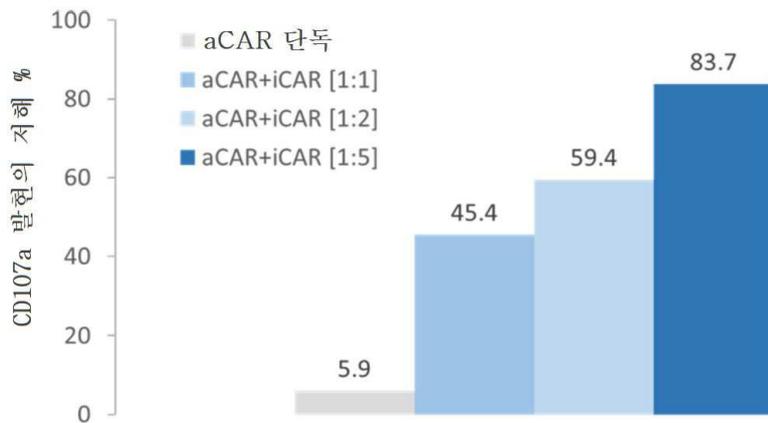
도면54



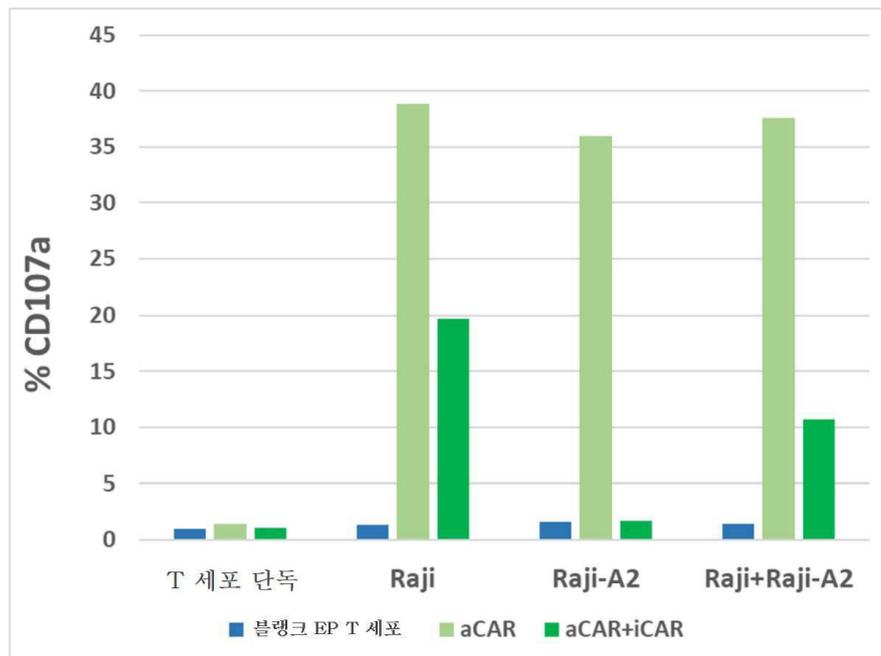
도면55



도면56



도면57



서열 목록

- <110> ImmPACT-Bio Ltd.
- <120> METHODS FOR IDENTIFYING ACTIVATING ANTIGEN RECEPTOR (aCAR)/INHIBITORY CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR (iCAR) PAIRS FOR USE IN CANCER THERA
- <130> 120575-5004-WO
- <140> PCT/IB2019/001108
- <141> 2019-09-27
- <150> US 62/847,830
- <151> 2019-05-14
- <150> US 62/738,895

<151> 2018-09-28  
 <160> 49  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 3432  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CD19 aCAR\_IRES\_RFP\_P2A\_Puro

<400> 1

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg	60
ccggacatcc agatgacaca gactacatcc tcctgtctg cctctctggg agacagagtc	120
accatcagtt gcagggcaag tcaggacatt agtaaatt taaattggta tcagcagaaa	180
ccagatggaa ctgttaaact cctgatctac catacatcaa gattacactc aggagtccca	240
tcaagttca gtggcagtgg gtctggaaca gattattctc tcaccattag caacctggag	300
caagaagata ttgccactta cttttgcaa cagggtaata cgcttccgta cacgttcgga	360
ggggggacca agctggagat cacagtggc ggtggctcgg gcggtggtgg gtcgggtggc	420
ggcggatctg aggtgaaact gcaggagtca ggacctggcc tggaggcgc ctcacagagc	480
ctgtccgta catgcactgt ctcaggggtc tcattaccg actatggtgt aagctggatt	540
cgccagcctc cacgaaaggg tctggagtgg ctgggagtaa tatgggtag tgaaccaca	600
tactataatt cagctctcaa atccagactg accatcatca aggacaactc caagagccaa	660
gttttcttaa aatgaacag tctgcaaact gatgacacag ccatttacta ctgtgcaaaa	720
cattattact acggtgtag ctatgctatg gactactggg gccaaggaac ctcagtcacc	780
gtctctcaa cactacccc agcaccgagg ccaccaccc cggctcctac catcgctcc	840
cagcctctgt cctgctgcc ggaggcatgt agaccgcag ctggtggggc cgtgcatacc	900
cggggtcttg acttcgctg cgatatctac atttgggcc ctctggctgg tacttgcggg	960
gtcctgctgc tttcactctg gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg	1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt	1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgctgaa attcagccg	1140
agccagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt	1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggacc agaaatgggc	1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggctgtaca acgagctcca aaaggataag	1320

atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380  
 gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440  
 caggccctgc cgcctcgggtg agcggccgca aattccgccc ctctccctcc ccccccccta 1500  
 acgttactgg ccgaagccgc ttggaataag gccggtgtgc gtttgtctat atgttatatt 1560  
 ccacatatt gccgtctttt ggcaatgtga gggccccgaa acctggccct gtcttcttga 1620  
 cgagcattcc taggggtctt tcccctctcg ccaaaggaat gcaaggtctg ttgaatgtcg 1680  
  
 tgaaggaagc agttcctctg gaagcttctt gaagacaaac aacgtctgta gcgacccttt 1740  
 gcaggcagcg gaacccccca cctggcgaca ggtgcctctg cggccaaaag ccacgtgtat 1800  
 aagatacacc tgcaaaggcg gcacaacccc agtgccacgt tgtgagttgg atagtgtgg 1860  
 aaagagtcaa atggctctcc tcaagcgtat tcaacaaggg gctgaaggat gcccagaagg 1920  
 taccctattg tatgggatct gatctggggc ctcggtgcac atgctttaca tgtgtttagt 1980  
 cgaggttaaa aaaacgtcta ggccccccga accacgggga cgtggttttc ctttgaaaaa 2040  
 cacgataata ccatggtgtc taaggcgcaa gagctgatta aggagaacat gcacatgaag 2100  
  
 ctgtacatgg agggcacctg gaacaaccac cacttcaagt gcacatccga gggcgaaggc 2160  
 aagccctacg agggcaccca gaccatgaga atcaaggtgg tcgagggcgg ccctctcccc 2220  
 ttgccttcg acatcctggc taccagcttc atgtacggca gcagaacctt catcaaccac 2280  
 acccagggca tcccgactt cttaagcag tccttccctg agggcttcac atgggagaga 2340  
 gtcaccacat acgaagacgg gggcgtgtctg accgctacc aggacaccag cctccaggac 2400  
 ggtgcctca tctacaacgt caagatcaga ggggtgaact tccatcca cggccctgtg 2460  
 atgcagaaga aaacactcgg ctgggaggcc aacaccgaga tgctgtacc cgctgacggc 2520  
  
 ggcttgaag gcagaagcga catggccctg aagctcgtgg gcgggggcca cctgatctgc 2580  
 aacttcaaga ccacatacag atccaagaaa cccgctaaga acctcaagat gcccgcgctc 2640  
 tactatgtgg accacagact ggaaagaatc aaggaggccg acaaagagac ctacgtcgag 2700  
 cagcacgagg tggtgtggc cagatactgc gacctccta gcaaactggg gcacaaactt 2760  
 aatggatccg gcgcgacaaa ctttagcttg ctgaagcaag ctggtgacgt ggaggagaat 2820  
 cccggcccta tggccaccga gtacaagccc acggtgcgcc tcgccaccgg cgacgacgtc 2880  
 cccggggcgg tacgcacct cgcgcccggc ttgcggact accccgccac gcgccacacc 2940  
  
 gtcgatccgg accgccacat cgagcgggtc accgagctgc aagaactctt cctcacgcgc 3000  
 gtcgggctcg acatcggcaa ggtgtgggtc gcggacgacg gcgccgcggt ggcggtctgg 3060  
 accacgccgg agagcgtcga agcgggggcg gtgttcgccg agatcggccc gcgcatggcc 3120  
 gagttgagcg gttcccggct ggccgcgcag caacagatgg aaggcctcct ggcgccgcac 3180

cggcccaagg agccccgctg gttcctggcc accgtcggcg tctcgcccga ccaccagggc 3240  
 aagggtctgg gcagcgcctg cgtgtctccc ggagtggagg cggccgagcg cgccggggtg 3300  
 cccgccttcc tggagacctc cgcgccccgc aacctcccct tctacgagcg gctcggcttc 3360

accgtcaccg ccgacgtcga ggtgccccga ggaccgcgca cctggtgcat gacccgcaag 3420  
 cccggtgcct ga 3432

<210> 2  
 <211> 486  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CD19 aCAR  
 <400> 2

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu  
 1 5 10 15  
 His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu  
 20 25 30

Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln  
 35 40 45

Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr  
 50 55 60

Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro  
 65 70 75 80

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile  
 85 90 95

Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly  
 100 105 110

Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr  
 115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu  
 130 135 140

Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser  
 145 150 155 160

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



Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu  
 420 425 430

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile  
 435 440 445

Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr  
 450 455 460

Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met  
 465 470 475 480

Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
 485

<210> 3

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> RFP

<400> 3

Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met His Met Lys  
 1 5 10 15

Leu Tyr Met Glu Gly Thr Val Asn Asn His His Phe Lys Cys Thr Ser  
 20 25 30

Glu Gly Glu Gly Lys Pro Tyr Glu Gly Thr Gln Thr Met Arg Ile Lys  
 35 40 45

Val Val Glu Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Phe Asp Ile Leu Ala Thr  
 50 55 60

Ser Phe Met Tyr Gly Ser Arg Thr Phe Ile Asn His Thr Gln Gly Ile  
 65 70 75 80

Pro Asp Phe Phe Lys Gln Ser Phe Pro Glu Gly Phe Thr Trp Glu Arg  
 85 90 95

Val Thr Thr Tyr Glu Asp Gly Gly Val Leu Thr Ala Thr Gln Asp Thr  
 100 105 110

Ser Leu Gln Asp Gly Cys Leu Ile Tyr Asn Val Lys Ile Arg Gly Val  
 115 120 125

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

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

<210> 4  
 <211> 200  
 <212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Puromycin resistance

<400> 4

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

Ala Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu Ala Ala Gln Gln Gln Met Glu Gly  
 100 105 110  
 Leu Leu Ala Pro His Arg Pro Lys Glu Pro Ala Trp Phe Leu Ala Thr  
 115 120 125  
 Val Gly Val Ser Pro Asp His Gln Gly Lys Gly Leu Gly Ser Ala Val  
 130 135 140  
 Val Leu Pro Gly Val Glu Ala Ala Glu Arg Ala Gly Val Pro Ala Phe  
 145 150 155 160  
 Leu Glu Thr Ser Ala Pro Arg Asn Leu Pro Phe Tyr Glu Arg Leu Gly  
 165 170 175  
 Phe Thr Val Thr Ala Asp Val Glu Val Pro Glu Gly Pro Arg Thr Trp  
 180 185 190  
 Cys Met Thr Arg Lys Pro Gly Ala

195 200  
 <210> 5  
 <211> 3669  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CD20 iCAR\_IRES\_GFP\_P2A\_Hygro  
 <400> 5

atggcactgc ctgtgaccgc cctgtctgtg cactggccc tgctgctgca cgcagccagg 60  
 cccgacatcg tctgacaca gagcccagca atcctgtccg cctctcctgg agagaaggtg 120  
 accatgacat gccgcgccg ctctctgtg aactacatgg attggtatca gaagaagcct 180  
 ggcagctccc caaagccctg gatctacgc accagcaatc tggcctcgg cgtgccagca 240  
 cggttcagcg gctccggctc tggcaccagc tattccctga caatctccag agtggaggca 300  
 gaggacgcag caacctacta ttgccagcag tggctttca acccccctac ctttgccggc 360  
 ggcacaaagc tggagatcaa gggctctaca agcggaggag gctctggagg aggcagcgga 420  
 ggccggcggt ctacgaggt gcagctgcag cagagcggag cagagctggt gaagcctgga 480  
 gcctccgtga agatgtcttg taaggccagc ggctacacct tcacatccta taatatgcac 540  
 tgggtgaagc agaccccagg acagggcctg gactggatcg gagcaatcta cccaggaaac 600  
 ggcgacacaa gctataatca gaagttaag ggcaaggcca ccctgacagc cgataagtcc 660

tctagcacccg cctacatgca gctgtcctct ctgacatccg aggactctgc cgattactat 720

tgtgccccgt ccaactacta tggcagctcc tactggttct ttgacgtgtg gggagcaggc 780

accacagtga ccgtgtctag caccgagagg agagcagagg tgcccacagc acacccatct 840

ccaagcccta ggccagcagg acagttccag accctggtgg tgggagtggg gggaggcctg 900

ctgggctctc tgggtctgtt ggtgtgggtg ctggccgtga tctgcagcag ggccgcccgc 960

ggcaccatcg gcgccaggcg cacaggccag cctctgaagg aggacccttc cgccgtgcca 1020

gtgttctctg tggactacgg cgagctggat ttctcagtggc gggagaaaac cccagagcca 1080

cctgtgccct gcgtgcctga gcagaccgag tatgccacaa tcgtgtttcc atccggaatg 1140

ggcacaagct ccctgcaag gagaggcagc gccgacggac cacggtccgc ccagccactg 1200

cggcccaggg atggccactg ttcttggccc ctgtgacgcc cctctcccc cccccctct 1260

ccctcccccc ccctaactg tactggccga agccgcttgg aataaggccg gtgtgcgttt 1320

gtctatatgt tattttccac catattgccg tcttttggca atgtgagggc ccggaacct 1380

ggccctgtct tcttgacgag cattcctagg ggtctttccc ctctcgcaa aggaatgcaa 1440

ggtctgttga atgtcgtgaa ggaagcagtt cctctggaag cttcttgaag acaaacacg 1500

tctgtagcga ccctttgcag gcagcggaac cccccactg gcgacaggtg cctctgcggc 1560

caaaagccac gtgtataaga tacacctgca aaggcggcac aaccccagtg ccacgttgtg 1620

agttggatag ttgtgaaaag agtcaaattg ctctctcaa gcgtattcaa caaggggctg 1680

aaggatgccc agaaggtacc ccattgtatg ggatctgatc tggggcctcg gtgcacatgc 1740

tttacctgtg tttagtgcag gttaaaaaaaa cgtctaggcc ccccgaacca cggggacgtg 1800

gttttctttt gaaaaacacg atgataaggc ttgccacaac ccgtaccaa gatggtgtcc 1860

aaggagaggg agctgttcc cggagtgggt cccatcctgg tggagctgga cggcgtatgt 1920

aatggccaca agtttagcgt gtccggagag ggagagggcg acgcaacctc cggcaagctg 1980

acactgaagt tcatctgcac cacaggcaag ctgccctgac cttggccaac cctggtgacc 2040

acactgacat acggcgtgca gtgtttttct cgctatcccg accacatgaa gcagcacgat 2100

ttctttaaga gcgccatgcc tgagggttac gtgcaggagc ggaccatctt cttaaggac 2160

gatggcaact ataagaccag agccgaggtg aagtctgagg gcgacacact ggtgaacagg 2220

atcgagctga agggcatcga ctttaaggag gatggcaata tcttgggcca caagctggag 2280

tacaactata attcccaca cgtgtacatc atggccgata agcagaagaa cggcatcaag 2340

gtcaatttca agatcagaca caatatcgag gacggctctg tgcagctgac cgatcactac 2400

cagcagaaca cccaatcgg cgacggacc gtgctgctgc ctgataatca ctatctgtct 2460  
 acacagagcg ccctgtccaa ggaccccaac gagaagaggg atcacatggt gctgctggag 2520  
 tttgtgaccg cagcaggaat cacactggga atggacgagc tgtataaggg cagcggcgcc 2580  
 accaacttct ccctgctgaa gcaggcaggc gacgtggagg agaatccagg acctatggat 2640  
 agaagcggca agccagagct gaccgccaca tccgtggaga agttcctgat cgagaagttt 2700  
 gactctgtga gcgatctgat gcagctgtcc gagggagagg agtccagggc ctctctttt 2760  
 gatgtggcg gcaggggata cgtgctgagg gtgaatagct gcgccgacgg ctctataag 2820

gatagatacg tgtatagaca ctttgctcc gccgcctgc caatcccaga ggtgctggac 2880  
 atcggcgagt tticcagtc tctgacctac tgtatcagcc ggagagccca gggagtgacc 2940  
 ctgcaggatc tgctgagac agagctgcc gccgtgctgc agccagtggc agaggctatg 3000  
 gacgcaatcg ccgcccca cctgtctcag acaagcggt tcggccctt tggcccacag 3060  
 ggcacggcc agtacaccac atggaggac ttcactcgc ccatcgcca tcctcacgtg 3120  
 tatcactggc agaccgtgat ggacgataca gtgagcgct ccgtggcaca ggcctggac 3180  
 gagctgatgc tgtggccga ggattgtcca gaggtgcgcc acctggtgca cgcagacttt 3240

ggcagcaaca atgtgctgac cgataatggc cggatcacag ccgtgatcga ctggtccgag 3300  
 gccatgttcg gcgattctca gtacaggtg gccaacatct tcttttgag gccttggtg 3360  
 gcctgcatgg agcagcagc ccgtatctt gagagcgcc acctgagct ggccgctct 3420  
 ccacggctga gagcatacat gctgcgcatc ggctggacc agctgtatca gaccctggtg 3480  
 gatggcaatt tcgacgatgc agcatggca cagggccggt gcgacgcaat cgtgagatcc 3540  
 ggccggcga ccgtgggccc gacacagatc gcacggcgga gcgcccgct gtggaccgac 3600  
 ggatgcgtgg aggtgctggc cgattctggc aacaggcgcc caagcacaag gccccgccc 3660

aaggagtga 3669

<210> 6

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD20 iCAR

<400> 6

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu

20 25 30

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

275                              280                              285  
 Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser Leu  
 290                              295                              300  
 Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala Arg  
 305                              310                              315                              320  
 Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp Pro  
 325                              330                              335  
  
 Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Gln  
 340                              345                              350  
 Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu Gln  
 355                              360                              365  
 Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser Ser  
 370                              375                              380  
 Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Ala Gln Pro Leu  
 385                              390                              395                              400  
 Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu

405                              410  
 <210>     7  
 <211>     239  
 <212>     PRT  
 <213>     Artificial Sequence  
 <220><223>     GFP  
 <400>     7  
 Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu  
 1                              5                              10                              15  
 Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly  
 20                              25                              30  
 Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile  
 35                              40                              45  
  
 Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr  
 50                              55                              60  
 Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys

65                      70                      75                      80  
 Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu  
                                  85                      90                      95  
 Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu  
                                  100                      105                      110  
 Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly  
                                  115                      120                      125  
 Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr  
                                  130                      135                      140  
 Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn  
 145                      150                      155                      160  
 Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser  
                                  165                      170                      175  
 Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly  
                                  180                      185                      190  
  
 Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu  
                                  195                      200                      205  
 Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe  
                                  210                      215                      220  
 Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys  
 225                      230                      235  
 <210>    8  
 <211>    344  
 <212>    PRT  
 <213>    Artificial Sequence  
 <220><223>    Hygromycin resistance  
 <400>    8  
 Met Asp Arg Ser Gly Lys Pro Glu Leu Thr Ala Thr Ser Val Glu Lys  
  
                                  1                      5                      10                      15  
 Phe Leu Ile Glu Lys Phe Asp Ser Val Ser Asp Leu Met Gln Leu Ser  
                                  20                      25                      30  
 Glu Gly Glu Glu Ser Arg Ala Phe Ser Phe Asp Val Gly Gly Arg Gly

35 40 45  
 Tyr Val Leu Arg Val Asn Ser Cys Ala Asp Gly Phe Tyr Lys Asp Arg  
 50 55 60  
 Tyr Val Tyr Arg His Phe Ala Ser Ala Ala Leu Pro Ile Pro Glu Val  
 65 70 75 80  
  
 Leu Asp Ile Gly Glu Phe Ser Glu Ser Leu Thr Tyr Cys Ile Ser Arg  
 85 90 95  
 Arg Ala Gln Gly Val Thr Leu Gln Asp Leu Pro Glu Thr Glu Leu Pro  
 100 105 110  
 Ala Val Leu Gln Pro Val Ala Glu Ala Met Asp Ala Ile Ala Ala Ala  
 115 120 125  
 Asp Leu Ser Gln Thr Ser Gly Phe Gly Pro Phe Gly Pro Gln Gly Ile  
 130 135 140  
 Gly Gln Tyr Thr Thr Trp Arg Asp Phe Ile Cys Ala Ile Ala Asp Pro  
  
 145 150 155 160  
 His Val Tyr His Trp Gln Thr Val Met Asp Asp Thr Val Ser Ala Ser  
 165 170 175  
 Val Ala Gln Ala Leu Asp Glu Leu Met Leu Trp Ala Glu Asp Cys Pro  
 180 185 190  
 Glu Val Arg His Leu Val His Ala Asp Phe Gly Ser Asn Asn Val Leu  
 195 200 205  
 Thr Asp Asn Gly Arg Ile Thr Ala Val Ile Asp Trp Ser Glu Ala Met  
 210 215 220  
  
 Phe Gly Asp Ser Gln Tyr Glu Val Ala Asn Ile Phe Phe Trp Arg Pro  
 225 230 235 240  
 Trp Leu Ala Cys Met Glu Gln Gln Thr Arg Tyr Phe Glu Arg Arg His  
 245 250 255  
 Pro Glu Leu Ala Gly Ser Pro Arg Leu Arg Ala Tyr Met Leu Arg Ile  
 260 265 270  
 Gly Leu Asp Gln Leu Tyr Gln Ser Leu Val Asp Gly Asn Phe Asp Asp  
 275 280 285

Ala Ala Trp Ala Gln Gly Arg Cys Asp Ala Ile Val Arg Ser Gly Ala

290 295 300

Gly Thr Val Gly Arg Thr Gln Ile Ala Arg Arg Ser Ala Ala Val Trp

305 310 315 320

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

325 330 335

Ser Thr Arg Pro Arg Ala Lys Glu

340

<210> 9

<211> 3696

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A2 iCAR\_IRES\_ GFP\_P2A\_Hygro

<400> 9

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gctctggacct 120  
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
acatcttata acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
  
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gacgctgggc 540  
gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtccccca agctgctgat ctataaggtg 660  
tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
acctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
tcccactgca cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
  
gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
ctggtggtgg gagggtggg aggcctctctg gctctctctg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
gccgtgatct gcagcagggc cgccccggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020

ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatfff 1080  
 cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgcctgagca gaccgagtat 1140  
 gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcggc 1200  
 gacggaccac ggtccgccc gccactgagg cccgaggatg gccactgttc ttggccctg 1260  
  
 tgacgccct ctccccccc cccctctccc tcccccccc ctaacgttac tggccgaagc 1320  
 cgcttggaaat aaggccgggtg tgcgtttgtc tatatgttat tttccacat attgccgtct 1380  
 tttggcaatg tgagggcccg gaaacctggc cctgtcttct tgacgagcat tcctaggggt 1440  
 ctttcccctc tcgcaaaagg aatgcaaggt ctgttgaatg tegtgaagga agcagttcct 1500  
 ctggaagctt ctigaagaca aacaacgtct gtagcgacc tttgcaggca gcggaacccc 1560  
 ccacctggcg acaggtgctt ctgcgccca aagccactg tataagatac acctgcaaag 1620  
 gcggcacaac cccagtgcc cgttgtgagt tggatagttg tggaaagagt caaatggctc 1680  
  
 tcctcaagcg tattcaaca ggggctgaag gatgccaga aggtaccca ttgtatggga 1740  
 tctgatctgg ggcctcgggt cacatgcttt acatgtgttt agtcgaggtt aaaaaaacgt 1800  
 ctaggcccc cgaaccacgg ggactgggtt ttctttgaa aaacacgatg ataaggtttg 1860  
 ccacaacccg taccaaagat ggtgtccaag ggagaggagc tgttcaccgg agtggtgccc 1920  
 atcctgggtg agctggacgg cgatgtgaat ggccacaagt ttagcgtgtc cggagaggga 1980  
 gagggcgacg caacctacgg caagetgaca ctgaagtca tctgcaccac aggcaagctg 2040  
 cccgtgcctt ggccaacct ggtgaccaca ctgacatacg gcgtgcagtg tttttctcgc 2100  
  
 tatcccgacc acatgaagca gcacgatttc ttaagagcg ccatgcctga gggctacgtg 2160  
 caggagcggg ccatcttctt taaggacgat ggcaactata agaccagagc cgaggtgaag 2220  
 ttcgaggcgg acacactggt gaacaggatc gagctgaagg gcatcgactt taaggaggat 2280  
 ggcaatatcc tgggccacaa gctggagtac aactataatt cccacaacgt gtacatcatg 2340  
 gccgataagc agaagaacgg catcaaggtc aatttcaaga tcagacacaa tatcgaggac 2400  
 ggctctgtgc agctggccga tcaactaccag cagaacaccc caatcgcgca cggaccctg 2460  
 ctgctgcctg ataatacta tctgtctaca cagagcggcc tgtccaagga ccccaacgag 2520  
  
 aagagggatc acatggtgct gctggagttt gtgaccgag caggaatcac actgggaatg 2580  
 gacgagctgt ataaggcgag gggcgccacc aacttctccc tgctgaagca ggcaggcgac 2640  
 gtggaggaga atccaggacc tatggataga agcggcaagc cagagctgac cgccacatcc 2700  
 gtggagaagt tctgatcga gaagttgac tctgtgagcg atctgatgca gctgtccgag 2760  
 ggagaggagt ccaggccctt ctctttgat gtggcgccga ggggatacgt gctgagggtg 2820  
 aatagctgcg ccgacggctt ctataaggat agatacgtgt atagacactt tgccctcgcc 2880

gccctgcaa tcccagaggt gctggacatc ggcgagtttt ccgagtctct gacctactgt 2940  
 atcagccgga gagcccagg agtgaccctg caggatctgc ctgagacaga gctgccagcc 3000  
 gtgtgcage cagtggcaga ggctatggac gcaatcggc cgcgcgacct gtctcagaca 3060  
 agcggcttcg gcccttttgg cccacagggc atcggccagt acaccacatg gagggacttc 3120  
 atctgcgcca tcgccgatcc tcacgtgtat cactggcaga ccgtgatgga cgatacagtg 3180  
 agcgcctccg tggcacaggc cctggacgag ctgatgctgt gggccgagga ttgtccagag 3240  
 gtgcccacc tggcgcagc agactttggc agcaacaatg tgctgaccga taatggccgg 3300  
 atcacagccg tgatcgactg gtccgaggcc atgttcggcg attctcagta cgaggtggcc 3360  
 aacatcttct ttiggaggcc ttggctggcc tgcatggagc agcagaccg ctattttgag 3420  
 aggcgccacc ctgagctggc cggctctcca cgctgagag catacatgct gcgcatcggc 3480  
 ctggaccage tgtatcagac cctggtggat ggcaatttcg acgatgcagc atgggcacag 3540  
 ggccggtgcg acgcaatcgt gagatccggc gccggcaccg tgggcccggac acagatcgca 3600  
 cggcggagcg ccgccgtgtg gaccgacgga tgcgtggagg tgctggccga ttctggcaac 3660  
 aggcgcccga gcacaaggcc ccgcgccaag gagtga 3696

<210> 10  
 <211> 420  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A2 iCAR

<400> 10

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr His

50 55 60

Ile Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly

65 70 75 80

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

	85	90	95
Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met			
	100	105	110
Leu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys Ala			
	115	120	125
Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser			
	130	135	140
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly			
145	150	155	160
Gly Gly Gly Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro			
	165	170	175
Val Ser Leu Gly Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser			
	180	185	190
Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys			
	195	200	205
Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe			
	210	215	220
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe			
225	230	235	240
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr			
	245	250	255
Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys			
	260	265	270
Leu Glu Ile Lys Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro			
	275	280	285
Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly			
	290	295	300
Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu			
305	310	315	320
Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg			
	325	330	335
Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser			



ggcacccaaa tctacgtgat cgaccagag ccctgcctg acagcgattt cctgctgtgg 900  
 attctggccg ccgtgagcag cggcctgttc ttttattcct ttctgctgac cgccgtgtct 960  
 ctgagcaaga tgctgaagaa gcggtctcct ctgaccacag gcgtgggcgt gaagatgccc 1020  
 cctacagagc ccgagtgtga gaagcagttc cagccatact ttatccccat caattga 1077

<210> 12  
 <211> 1146  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 12

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gctctggacct 120  
 gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300  
 ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctacttttg cgccaggagagg ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggga ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggccggcgga gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gagcctgggc 540  
 gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgactccaa cggcaatacc 600  
 tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaacgggt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
 accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780

tcccactgac cagcaccctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagct gggcgccgcc 840  
 gtgtacttca ccgagctgag cagccctggc gccagcgggt ccggcagggc cccagcgccc 900  
 ctgcctgccg gccacctgct gctgtttctg atcctgggcg tgctgtctct gctgctgctg 960  
 gtgacaggcg ccttcggctt tcacctgtgg cggagacagt ggcggcccag gcgcttctct 1020  
 gccctggagc agggcatcca cccacctcag gcacagagca agatcgagga gctggagcag 1080  
 gagccagagc cagagcctga acctgagcca gagcctgaac ccgagccaga gcctgagcag 1140  
 ctgtga 1146

<210> 13

<211> 1272

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 13

```

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga      60
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct      120
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc      180
acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga      240
tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca      300

ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag      360
gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc      420
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc      480
ggcggcgcca gcgactgct gatgaccagc acaccactga gcctgccctg gacgctgggc      540
gatcaggtga gcatctctg tagatcctct cagagcatcg tgactccaa cggcaatacc      600
tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg      660
tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggtccgg caccgacttc      720

accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc      780
tcccactgac cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagga gttccggttt      840
tggcccttcc tggatcatc cgtgatcctg tctgcctgt tcctgggcac cctggcctgc      900
ttttgcgtgt ggcggagaaa gcggaaggag aagcagagcg agacctccc caaggagttc      960
ctgacaatct acgaggacgt gaaggatctg aagacaaggc gcaaccacga gcaggagcag      1020
acctttcctg gcggcggtc tacaatctat agcatgatcc agtcccagag cagcgcccc      1080
accagccagg agcctgccta cacactgtat tctctgatcc agcctagcag aaagtctggc      1140

agccggaaga gaaaccactc cccatctttc aattccacca tctacgaagt gatcggaag      1200
tctcagcaa aggcacagaa cccagcaagg ctgagccgca aggagctgga gaattttgac      1260
gtgtattcct ga      1272

```

<210> 14

<211> 1296

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 14

atggcactgc cagtgaccgc cctgtctgtg cctctggccc tgctgtctgca cgcagccaga	60
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct	120
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc	180
acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggcccggac agggcctgga gtggatcgga	240
tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca	300
ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgtctg tgagcagcct gaccagcgag	360
gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc	420
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc	480
ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gacctgggc	540
gatcaggtga gcatctcttg tagatcctct cagagcatcg tgcactccaa cggcaatacc	600
tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataagggtg	660
tctaatcggg tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc	720
acctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctggggc tgtactattg tttccagggc	780
tcccacgtgc caccacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagga tgtgaagagc	840
gcctccgaga gaccttctaa ggacgagatg gccagccggc catggctgct gtacagactg	900
ctgccactgg gaggactgcc tctgtctgac accacatgct tctgtctgtt ttgtgtctg	960
cggagacacc agggcaagca gaacgagctg tccgataccg ccggcaggga gatcaatctg	1020
gtggacgccc acctgaagtc tgagcagacc gaggccagca caccagcaga ctcccagggtg	1080
ctgtgtctg agacaggcat ctacgacaat gatcccgacc tgtgcttccg gatgcaggag	1140
ggctctgagg tgtacagcaa cccatgtctg gaggagaata agcccggcat cgtgtatgcc	1200
tccctgaacc actctgtgat cggacceaac tccaggetgg ccaggaatgt gaaggaggec	1260
cctaccgagt atgccagcat ctgctgtcgg tctctga	1296

<210> 15

<211> 1188

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 15

atggcactgc cagtgaccgc cctgtctgtg cctctggccc tgctgtctgca cgcagccaga	60
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct	120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300  
 ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggccggcgga gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gacctggggc 540  
 gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggaataacc 600  
 tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaacgggt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
 accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780

tcccacgtgc cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagtc tccaaccgag 840  
 cccagctcca agacaggcaa cccaaggcac ctgcacatcc tgatcggcac cagcgtggtc 900  
 atcatcctgt teatcctgct gttctttctg ctgcaccgct ggtgcagcaa caagaagaat 960  
 gcccccgatg tggaccagga gtcccgccgc aacaggacag ccaattccga ggactctgat 1020  
 gagcaggacc cccaggaggt gacctacaca cagctgaacc actgcgtgtt taccagcgg 1080  
 aagatcaaa gaccttcca gaggcctaaag accccccta cagacatcat cgtgtatgcc 1140  
 gagctgcca atgccgagtc tcggagcaag gtggtgtctt gtccttga 1188

<210> 16  
 <211> 1167  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 16

atggcactgc cagtgaccgc cctgetgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120  
 gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300

ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
 gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggacatact atgctatgga ctattggggc 420

cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggcgcgcgca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gacgctgggc 540  
 gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
 tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaacggt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720

accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
 tcccactgac cagcacctt tggcgcgcgca acaaagctgg agatcaagtc tccaaccgag 840  
 cccagctccg agacaggcaa ccctaggcac ctgcacgtgc tgatcggcac cagcgtggtc 900  
 atcatcctgt tcactcctg gctgttcttt ctgctgcacc ggtggtgctg taacaagaag 960  
 aatgcagtgg tcatggacca ggagccagcc ggcaacagga ccgtgaatag agaggactcc 1020  
 gatgagcagg acccccagga ggtgacatac gccagctga accactgctg gtttaccag 1080  
 aggaagatca cagcccttc tcagcggcca aagaccccc ctacagacat catcgtgat 1140

acagagctgc ccaatgccga gccttga 1167

<210> 17  
 <211> 1224  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 17

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctcagca gcttgacct 120  
 gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttacc acatccagtg ggtgaagcag cggcccggac agggcctgga gtggatcgga 240

tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
 ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
 gacagcgcca tctactttg cgccaggag ggacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggcgcgcgca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gacgctgggc 540  
 gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
 tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaacggt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720

accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
 tcccactgac cacgcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
 gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctagge cagcaggaca gttccagacc 900  
 ctggtggtgg gagtgggtgg aggctctctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
 gccgtgatcc accgctggtg ctccaacaag aagaatgccg ccgtgatgga ccaggagtct 1020  
 gccggcaaca ggaccgcca tttctaggac agcgtatgagc aggaccccca ggaggtgacc 1080

tacacacagc tgaaccactg cgtgttcacc cagcgggaaga tcacaagacc aagccagagg 1140  
 cccaagacc ccctacaga catcatcgtg tatgccgagc tgcctaatgc cgagagcagg 1200  
 tccaaggtgg tgcctgtcc atga 1224

<210> 18  
 <211> 1305  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 18

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttga agccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttacc acatccagtg ggtgaagcag cggccccggc agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
 ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
 gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggccggcgca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gacccctggc 540

gatcaggtga gcactctctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
 tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
 accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
 tcccactgac cacgcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
 gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctagge cagcaggaca gttccagacc 900  
 ctggtggtgg gagtgggtgg aggctctctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960

gccgtgatcc ggagacacca gggcaagcag aacgagctga gcgataccgc cggccgggag 1020  
 atcaatctgg tggacgcccc cctgaagtcc gagcagaccg aggcctccac aagacagaac 1080  
 tctcaggtgc tgctgagcga gacaggcatc tacgacaatg atccccacct gtgcttcagg 1140  
 atgcaggagg gcagcgaggt gtactccaac ccctgtctgg aggagaataa gcctggcatc 1200  
 gtgtatgcct ctctgaacca cagcgtgatc ggcccaact ctaggctggc ccgcaatgtg 1260  
 aaggaggccc ccaccgagta tgctccatc tgcgtgaggt cttga 1305

<210> 19

<211> 1095

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 19

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gcttgacct 120  
 gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttacc acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300  
 ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggccggcggca gcagctgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gacccctggc 540  
 gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcaactcaa cggcaatacc 600  
 tacctggagt ggiatctgca gaagccaggc cagtccccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaactcgt ttagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
 acctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780

tcccactgac cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
 gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
 ctggtggtgg gactggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
 gccgtgatcg ccgtgagcct gtccaagatg ctgaagaagc ggtctcctct gaccacaggc 1020  
 gtgggcgtga agatgcccc taccagccc gagtgcgaga agcagttcca gccatacttt 1080  
 atccccatca actga 1095

<210> 20

<211> 1737

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 20

atggcactgc cagtgaccgc cctgetgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga	60
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct	120
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttga aggccagcgg ctacaccttc	180
acatcttata acatccagtg ggtgaagcag cggccccgac agggcctgga gtggatcgga	240
tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca	300
ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag	360
gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc	420
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc	480
ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccagc acaccactga gcctgcccgt gacgctgggc	540
gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgactccaa cggcaatacc	600
tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtccccca agctgctgat ctataaggtg	660
tctaatcggg tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc	720
accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc	780
tcccacgtgc caccacactt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga	840
gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc	900
ctggtggtgg gagtgggtgg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg	960
gccgtgatcc tgaagctgct ccagaccatc ggcaagggcg agttcggcga cgtgatgctg	1020
ggcgattaca gaggcaacaa ggtggccgtg aagtgcatac agaatgacgc aaccgcacag	1080
gcctttctgg cagaggccag cgtgatgaca cagctgaggc actccaacct ggtgcagctg	1140
ctgggcgtga tcgtggagga gaagggcggc ctgtacatcg tgacagagta tatggccaag	1200
ggcagcctgg tggactacct gcggtccaga ggcaggtctg tgctgggagg cgactgcctg	1260
ctgaagttea gcttggacgt gtgcgaggcc atggagtatc tggagggcaa caattttgtg	1320
caccgcgata tggcagcaag gaactgctg gtgtctgagg acaatgtggc caaggtgagc	1380
gatttcggcc tgaccaagga ggccagctcc acccaggaca caggcaagct gcctgtgaag	1440
tggaccgcac cagaggccct gagggagaag aagtctctca caaagagcga cgtgtggtec	1500
tttggcatcc tgctgtggga aatctactct tttggcagag tgccatatcc cagaatcccc	1560

ctgaaggacg tggatgcctcg ggtggagaag ggctacaaga tggacgcacc agatggatgc 1620

ccacctgccg tgtatgaagt gatgaagaat tgttggcacc tggatgcagc aatgaggccc 1680

agcttctctc agctgagggg gcagctggag cacatcaaga cacacgagct gcaactga 1737

<210> 21

<211> 1431

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 21

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gctcggacct 120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180

acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240

tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300

ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgtctg tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420

cagggcacca gctgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480

ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gacccctggc 540

gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600

tacctggagt ggiatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660

tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720

acctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctggggc tgtactattg tttccagggc 780

tcccactgac cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840

gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900

ctggtggtgg gactggtggg aggctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960

gccgtgatct gcagcagggc cggccggcgg accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020

ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatttt 1080

cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgcctgagca gaccgagtat 1140

gccacaatcg tgttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200

gacggaccac ggtccgccc gccactgcgg ccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260

ggtggcgggt gctcgggccc tgggtgggtcg ggtggcggcg gatctgccgt gacccctgtcc 1320

aagatgctga agaagcggtc tcctctgacc acaggcgtgg gcgtgaagat gccccctacc 1380  
gagccccgagt gcgagaagca gttccagcca tactttatcc ccatcaactg a 1431

<210> 22

<211> 1470

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 22

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120  
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
acatcttata acatccagtg ggtgaagcag cggccccgac agggcctgga gtggatcgga 240  
tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300

ctgaccgccc ataagagcag cagcaccgcc tacatgetgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
gacagcgcca tctactttg cgccagggag ggacataact atgctatgga ctattggggc 420  
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gaggctgggc 540  
gatcaggtga gcatctctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtccccca agctgctgat ctataagtg 660  
tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720

accctgaaga tcagccgggt ggagcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
tcccacgtgc cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
ctggtggtgg gagtgggtgg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
gccgtgatct gcagcagggc cgcccgggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatctt 1080  
cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtcccctgcg tgccctgagca gaccagat 1140

gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200  
gacggaccac ggtccgccc gccactgcgg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260  
ggtggcgggt gctcggcgcg tgggggctcg ggtggcggcg gatctcacct gtggcggaga 1320  
cagtggcggc ccaggcgctt cagcgcctg gagcagggca tccaccacc tcaggcacag 1380

tccaagatcg aggagctgga gcaggagcca gagccagagc ctgaacctga gccagagcct 1440  
 gaacccgagc cagagcctga gcagctgtga 1470  
 <210> 23  
 <211> 1668  
 <212> DNA  
  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 23  
  
 atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120  
 gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttata acatccagtg ggtgaagcag cggccccgac agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
 ctgaccgccc ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
  
 gacagcgcca tctactttg cgccagggag ggacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggccggcgca gcgacgtgct gatgacccag acaccactga gcctgcccgt gaggctgggc 540  
 gatcaggtga gcatctctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
 tacttggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga tttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
 accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
  
 tcccactgac cagcaccctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
 gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
 ctggtggtgg gagggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
 gccgtgatct gcagcagggc cgcccgggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
 ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatctt 1080  
 cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtcccctgcg tgccctgagca gaccagat 1140  
 gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200  
  
 gacggaccac ggtccgccc gccactgcgg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260  
 ggtggcgggt gctcggcgcg tgggtggctc ggtggcggcg gatcttggcg gagaaagcgg 1320  
 aaggagaagc agagcgagac ctcccccaag gatttctga caatctacga ggacgtgaag 1380

gatctgaaga ccaggcgcaa ccacgagcag gacgagacct ttcctggcgg cggctctaca 1440  
atctatagca tgatccagtc ccagagcagc gccccacct ctgaggagcc tgctacaca 1500  
ctgtattctc tgatccagcc tagccggaag tctggcagcc ggaagagaaa ccaactccca 1560  
tctttcaatt ccacaatcta cgaagtgatc ggcaagtctc agccaaaggc acagaacca 1620

gcaaggctga gcccaagga gctggagaat tttgacgtgt attcctga 1668

<210> 24  
<211> 1647  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> artificial construct  
<400> 24

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120  
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttga aggccagcgg ctacaccttc 180  
acatcttatac acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240

tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
gacagcgcca tctactttg cgccagggag ggacataact atgctatgga ctattggggc 420  
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gacgctgggc 540  
gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtccccca agctgctgat ctataaggtg 660

tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
acctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
tcccacgtgc cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
ctggtggtgg gagtgggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
gccgtgatct gcagcagggc cgcccgggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatfff 1080

cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgctgagca gaccgagtat 1140  
gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200

gacggaccac ggtccgcca gccactgcgg cccgaggatg gccactgttc ttggccctg 1260  
 ggtggcgggt gctcgggcgg tggggggtcg ggtggcggcg gatcttggcg gatgatgaag 1320  
 taccagcaga aggcccgccg aatgtctcca gagcaggtgc tccagcccct ggaggcgac 1380  
 ctgtgctatg ccgacctgac cctccagctg gccggcacia gcccacagaa ggcaaccaca 1440  
 aagctgagca gcgcccaggt ggaccaggtg gaggtggagt acgtgacat gcctcctg 1500

cctaaggagg acatctccta tgctctctg accctgggcg ccgaggatca ggagcctaca 1560  
 tactgtaaca tgggccacct gtctagccac ctgccaggaa ggggaccaga ggagcctacc 1620  
 gagtatagca caatctccag accctga 1647

<210> 25  
 <211> 1431  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 25

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttga aggccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttacc acatccagtg ggtgaagcag cggcccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
 ctgaccgccc ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
 gacagcgcca tctactttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggcgcgcgca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gacccctggc 540

gatcaggtga gcactctctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
 tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtccccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
 accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
 tcccactgac cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
 gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
 ctggtggtgg gagtgggtgg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960

gccgtgatct gcagcagggc cgcccgggc accatcggcg ccaggcgac aggccagcct 1020

ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatfff 1080  
cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgcctgagca gaccgagtat 1140  
gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcggc 1200  
gacggaccac ggtccgccc gccactgcgg cccgaggatg gccactgttc ttggccctg 1260  
ggtggcggtg gctcgggcgg tgggtgggtcg ggtggcggcg gatctgccgt gacccctgtcc 1320  
aagatgctga agaagcggtc tcctctgacc acaggcgtgg gcgtgaagat gcccctacc 1380

gagcccagat gcgagaagca gttccagcca tactttatcc ccatcaactg a 1431

<210> 26  
<211> 1611  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> artificial construct  
<400> 26

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gcttgaccct 120  
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggcccggac agggcctgga gtggatcgga 240

tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300  
ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gagcctgggc 540  
gatcaggtga gcatctctg tagatcctct cagagcatcg tgactccaa cggcaatacc 600  
tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660

tctaacgggt tcagccgggt gcctgacaga ttttctggca gcgctccgg caccgacttc 720  
accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
tcccactgac cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
ctggtggtgg gagtgggtgg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
gccgtgatct gcagcagggc gcgccgggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatfff 1080

cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgcctgagca gaccgagtat 1140  
gcccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcggc 1200  
gacggaccac ggtccgccc a gccaactgagg cccgaggatg gccaactgttc ttggcccctg 1260  
ggtggcgggtg gctcgggcgg tgggtgggtcg ggtggcggcg gatctcacag gcagaaccag 1320  
atcaagcagg gaccacctcg cagcaaggac gaggagcaga agccacagca gaggcccac 1380  
ctggcagtgg atgtgctgga gagaaccgcc gataaggcca cagtgaatgg cctgcccag 1440  
aaggacaggg agaccgatac atccgccctg gccgccggca gctcccagga ggtgacctac 1500

gcccagctgg accactgggc actgaccag aggacagcca gagccgtgtc tcctcagagc 1560  
accaagccaa tggccgagtc taccacctac gccgccgtgg ccagacactg a 1611

<210> 27  
<211> 1554  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> artificial construct  
<400> 27

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctgccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gcttgacct 120  
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggcagcgg ctacaccttc 180

acatcttacc acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgtctg tgagcagcct gaccagcgag 360  
gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggcctctggc 480  
ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gacccctggc 540  
gatcaggtga gcactcctg tagatcctct cagagcatcg tgactcca cggcaatacc 600

tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
tcccactgac cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
ctggtggtgg gagggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960

gccgtgatct gcagcagggc cgcccgcggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020

ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatfff 1080

cagtggcggg agaaaacccc agageccacct gtgccctgcg tgccctgagca gaccgagtat 1140

gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200

gacggaccac ggtccgcca gccactgagg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260

ggtggcgggtg gctcgggcgg tgggtgggtcg ggtggcggcg gatctctgac ccggaagaag 1320

aaggccctgc gcatccacag cgtggagggc gacctgagga gaaagtccgc cggccaggag 1380

gagtggagcc catccgccc ctccccctt ggctcttgcg tgcaggcaga ggcagcacct 1440

gccggcctgt gcggcgagca gcggggcgag gactgtgccg agctgcacga ttacttcaac 1500

gtgctgtctt ataggagcct gggcaattgt tctttcttta ccgagacagg ctga 1554

<210> 28

<211> 1596

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 28

atggcactgc cagtgaccgc cctgetgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttga agccagcgg ctacaccttc 180

acatcttata acatccagtg ggtgaagcag cgcccggac agggcctgga gtggatcgga 240

tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300

ctgaccgccc ataagagcag cagcaccgcc tacatgetgc tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctactttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420

cagggcacca gcgtgacagt gtctagcgga ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480

ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccaactga gcctgcccgt gaggctgggc 540

gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600

tacctggagt ggtatctgca gaagccagge cagtccccca agctgctgat ctataaggtg 660

tctaacgggt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720

acctgaaga tcagccgggt ggagcagag gatctgggag tgtactattg tttccagggc 780

tcccactgac cacgcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840

gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900

ctggtggtgg gagggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
 gccgtgatct gcagcagggc cgcccgcggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020

ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga getggatitt 1080  
 cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgcctgagca gaccgagtat 1140  
 gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200  
 gacggaccac ggtccgccc gccactgcgg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260  
 ggtggcgggt gctcgggagg tgggtgggtcg ggtggcggcg gatcttaca gcagaggcag 1320  
 gcagccagca acaggagagc ccaggagctg gtgaggatgg actccaacat ccagggcac 1380  
 gagaatccag gattcgaggc ctctccacct gcacaggga tccctgaggc aaaggtgcgg 1440

cacccactga gctatgtggc acagaggcag cctagcaggt ccggccgcca cctgctgtct 1500  
 gagcccagca cccctctgtc cccaccagga ccaggcgagc tgtttctccc ctccctggac 1560  
 cctgtgccag attctccaa ttttgaagtg atctga 1596

<210> 29  
 <211> 1845  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 29

atggcactgc cagtaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca agccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggcccggac aggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
 ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
 gacagcgcca tctacttttg cgccaggag ggacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
 ggccggcgga gcgactgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gacgctgggc 540

gatcaggtga gcctctctg tagatcctc cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
 tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggtccgg caccgacttc 720  
 accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780

tcccacgtgc cacgcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
 gcagaggatgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
 ctggtggtgg gagggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960

gccgtgatct gcagcagggc cgcccggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
 ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatfff 1080  
 cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgccctgagca gaccgagtat 1140  
 gccacaatcg tgttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggccagcgc 1200  
 gacggaccac ggtccgccc gccactgagg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260  
 ggtggcgggt gctcgggcgg tggggggtcg ggtggcggcg gatctaagcg gaagggcaga 1320  
 tgctccgtgc cagccttctg tagctcccag gcagaggcac ccgccgacac cccagagcct 1380

acagccggcc acacctgta ctccgtgctg tctcagggt atgagaagct ggatacceca 1440  
 ctgaggcctg caaggcagca gccaaccccc acaagcgact ctagctccga ttccaacctg 1500  
 accacagagg aggacgagga tcggcccag gtgcacaagc ctatctccgg caggtacgag 1560  
 gtgttcgacc aggtgacaca ggaggagca ggacacgac ctgcaccaga gggccagccc 1620  
 gactacgac cagtacacc ctatgtgacc gaggtggagt ctgtggggg cgagaacacc 1680  
 atgtacccc aggtgttcaa cctccagggc aagacacccg tgagccagaa ggaggagtct 1740  
 agcggacca tctattgag catcaggaag ccacaggtgg tgcctcctcc acagcagaac 1800

gacctggaga tcctgagag cccaacctac gagaacttca cctga 1845

<210> 30  
 <211> 1302  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 30

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctggcactgc ctgtgacagc cctgctgctg 120  
 ccaactggccc tgctgctgca cgcagaggtg cagctccagc agagcggacc agagctggtg 180  
 aagccaggca caagcgtgcg gatctcctgc aagacctctg gctacacctt cacagagtat 240

accatccact gggatgaagca gagccacggc aagtcctgg agtggatcgg caacatcaat 300  
 cccaacaatg gcggcaccac atacaaccag aagtttgagg acaaggccac cctgacagtg 360  
 gataagagca gcagcaccgc ctatatggag ctgaggagcc tgacctccga ggactctgcc 420

gtgtactatt gcgcccgg atggaatttc gattactggg gccagggcac cacagtgacc 480  
 gtgagcagcg gcggcgcg ctctggagga ggaggcagcg gcggaggagg ctccgacatc 540  
 gtgatgacac agtcccacaa gtttatgtct accagcgtgg gcgatcgcgt gtctatcatc 600  
 tgaaggcca gccaggacgt gggcaccgcc gtggattggt atcagcagaa gcccggccag 660

tcccctaage tgctgatcta ttggcctct acaaggcaca ccggcgtgcc cgacagattc 720  
 acagctccg gctctggcac cgacttcacc ctgacaatca ccaacgtgca gagcgaggac 780  
 ctggccgatt atttctgtca gcagtacaat tcctatctc tgacatttgg cgccggcacc 840  
 atgctggacc tgaagagggc tgcccacc gagaggagag cagaggtgcc cacagcacac 900  
 ccatctcaa gcctaggcc agcaggacag ttccagacc tgggtggtgg agtggtggga 960  
 ggctctgtgg gctctctggt gctgctggtg tgggtgctgg ccgtgatctg cagcagggcc 1020  
 gcccggcca ccatcggcg caggcgaca ggccagctc tgaaggagga cccttcgcc 1080

gtgccagtgt tctctgtgga ctacggcgag ctggatttcc agtggcgga gaaaaccca 1140  
 gagccacctg tgcctgctg gctgagcag accgagtatg ccacaatcgt gtttccatcc 1200  
 ggaatggca caagctccc tgcaaggaga ggcagcgccg acggaccacg gtccgccag 1260  
 cactgcggc ccgaggatgg cactgttct tggcccctgt ga 1302

<210> 31  
 <211> 3338  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 31

atggcactgc cagtaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120  
 gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca agccagcagg ctacaccttc 180  
 acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggcccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
 ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
 gacagcgcca tctacttttg cgccaggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 caggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480

ggcgcgcca gcagctgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gacctgggc 540  
 gatcaggtga gcatctctg tagatcctct cagagcatcg tgcaactcaa cggcaatacc 600

tacctggagt ggiatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataagggtg 660  
tctaatcgg t cagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
acctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
tcccactg c cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
gcagagggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900

ctggtgggtg g agtgggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgcctgctgt gtgggtgctg 960  
gccgtgatct gcagcagggc cccccggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
ctgaaggagg accttccgc cgtgccagt tctctgtgg actacggcga gctggat ttt 1080  
cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgcctgagca gaccgagtat 1140  
gccacaatcg t gtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200  
gacggaccac ggtccgccc gccactgagg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260  
tgaccctct c cctcccccc cccctaacgt tactggccga agccgcttgg aataaggccg 1320

gtgtgcgtt gtctatatgt tattttccac catattgccg tcttttgca atgtgagggc 1380  
ccggaacct ggcctgtct tcttgacgag cattcctagg ggtctttccc ctctcgccaa 1440  
aggaatgcaa ggtctgtga atgtcgtgaa ggaagcagtt cctctggaag ctcttgaag 1500  
acaaacaacg tctgtagcga cctttgcag gcagcggaac cccccacctg gcgacaggtg 1560  
cctctcggc caaaagccc gtgtataaga tacacctgca aaggcggcac aaccccagtg 1620  
ccacgttgt agttggatag ttgtgaaag agtcaaatgg ctctcctcaa gcgtattcaa 1680  
caaggggctg aaggatgcc agaaggtacc ccattgtatg ggatctgatc tggggcctcg 1740

gtgcacatgc ttiacatgt tttagtcgag gttaaaaaa cgtctaggcc ccccgaacca 1800  
cggggacgtg gttttcctt gaaaaacag atgataatat ggccacaacc tgaatggcct 1860  
taccagtgc cgccttctc ctgccgctgg ccttgctgct ccacgcgcc aggccggact 1920  
acaaagacga tgacgacaag gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgct 1980  
ctctgggaga cagagtcacc atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatat taa 2040  
attggtatca gcagaaacca gatggaactg ttaaactcct gatctacat acatcaagat 2100  
tacactcagg agtcccatca aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca 2160

ccattagcaa cctggagcaa gaagatattg ccacttactt ttgccaacag gtaataacgc 2220  
ttccgtacac gttcggaggg gggaccaagc tggagatcac aggtggcggt ggctcggcg 2280  
gtggtgggtc ggggtggcggc ggatctgagg tgaactgca ggagtcagga cctggcctgg 2340  
tggcgcctc acagagcctg tccgtcaat gcaactgtctc aggggtctca ttaccgact 2400  
atggtgtaag ctggattcgc cagcctccac gaaaggtct ggagtggtg ggagtaatat 2460

gggtagtga aaccacatac tataattcag ctctcaaatc cagactgacc atcatcaagg 2520  
acaactccaa gagccaagtt ttcttaaaaa tgaacagtct gcaaactgat gacacagcca 2580

tftactactg tgccaaacat tattactacg gtggtagcta tgctatggac tactggggcc 2640  
aaggaacctc agtcaccgtc tectcaacca ctacccagc accgaggcca cccaccccg 2700  
ctctacat cgcctcccag cctctgtccc tgcgtccgga ggcatgtaga cccgcagctg 2760  
gtggggccgt gcatacccg ggtcttgact tgcctcgcga tatctacatt tgggcccctc 2820  
tggctggtag ttgcggggtc ctgctgcttt cactcgtgat cactctttac tgtaagcgcg 2880  
gtcggagaag gctgctgtac atctttaagc aaccttcat gaggcctgtg cagactactc 2940  
aagaggagga cggctgttca tgccggttcc cagaggagga ggaaggcggc tgcgaactgc 3000

gcgtgaaatt cagccgcagc gcagatgctc cagcctacaa gcaggggcag aaccagctct 3060  
acaacgaact caatcttggg cggagagagg agtaccagct gctggacaag cggagaggac 3120  
gggaccaga aatgggcggg aagccgcgca gaaagaatcc ccaagaggc ctgtacaacg 3180  
agctcaaaa ggataagatg gcagaagcct atagcgagat tggatgaaa ggggaacgca 3240  
gaagaggcaa agccaccagc ggactgtacc agggactcag caccgccacc aaggacacct 3300  
atgacgctct tcacatgcag gccctgccgc ctcggtga 3338

<210> 32  
<211> 3047  
<212> DNA

<213> Artificial Sequence  
<220><223> artificial construct  
<400> 32

atggcactgc cagtgaccgc cctgetgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120  
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca agccagcgg ctacaccttc 180  
acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300  
ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
ggcggcgcca gcgactgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gacgctgggc 540  
gatcaggtga gcatctctg tagatcctct cagagcatcg tgactccaa cggcaatacc 600

tacctggagt ggiatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
tctaatcgg t cagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720  
acctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780

tcccactg c cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
gcagagg tgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
ctggtgg tgg gagtgg tggg aggccctgctg ggctctctgg tgc tgc tgc tgc gttgggtgctg 960  
gccgtgatct gaccctctc cctcccccc ccctaactgt actggccgaa gccgcttggga 1020  
ataaggccgg tgtgcgtttg tctatatgtt attttccacc atattgccgt cttttggcaa 1080  
tgtgagggcc cggaaacctg gccctgtctt cttgacgagc attcctaggg gtctttcccc 1140  
tctcgcaaa ggaatgcaag gtctgttgaa tgcgtgaag gaagcagttc ctctggaagc 1200

ttcttgaaga caaacaactg ctgtagcgac cttttgcagg cagcgggaacc ccccactgg 1260  
cgacagg tgc ctctgcggcc aaaagccacg tgtataagat acacctgcaa aggcggcaca 1320  
acccag tgc cagctt t tga gttggatagt tgtggaaaga gtcaaatggc tctcctcaag 1380  
cgtattcaac aagg gctga aggatgcca gaaggtaccc cattgtatgg gatctgatct 1440  
ggggcctcgg tgcacatgct ttacatgtgt ttagtcgagg ttaaaaaaac gtctaggccc 1500  
cccgaaccac ggggacgtgg ttttctttg aaaaacacga tgataatatg gccacaacct 1560  
gaatggcctt accagtgacc gccttgctcc tgccgctggc cttgctgctc cacgcccga 1620

ggccggacta caaagacgat gacgacaagg acatccagat gacacagact acatcctccc 1680  
tgtctgcctc tctgggagac agagtcacca tcagttgcag ggcaagtcag gacattagta 1740  
aatatttaa t tggatcag cagaaccag atggaactgt taaactcctg atctaccata 1800  
catcaagatt aactcagga gtccatcaa ggttcagtgg cagtgggtct ggaacagatt 1860  
attctctcac cattagcaac ctggagcaag aagatattgc cacttacttt tgccaacagg 1920  
glaatacgt tccgtacacg ttcggagggg ggaccaagct ggagatcaca ggtggcggtg 1980  
gctcggg cgg tgg tgg tgc ggtggcggcg gatctgaggt gaaactgcag gagt caggac 2040

ctggcctgg t ggcgccctca cagaccctgt ccgtcacatg cactgtctca ggggtctcat 2100  
taccgacta tgg t gtaagc tggatc gcc agcctccacg aaagggtctg gagtggctgg 2160  
gagtaatatg gggtagtgaa accacatact ataattcagc tctcaaatcc agactgacca 2220  
tcatcaagga caactccaag agccaagttt tcttaaaaat gaacagtctg caaactgatg 2280  
acacagccat ttactactgt gccaaacatt attactacgg tggtagctat gctatggact 2340  
actggggcca aggaacctca gtcaccgtct cctcaaccac taccaccagca ccgaggccac 2400

ccaccccggc tctaccatc gccteccagc ctctgtccct gcgtccggag gcatgtagac 2460

ccgcagctgg tggggccgtg catacccggtg gtccttgactt cgcctgcgat atctacattt 2520

gggcccctct ggetggfact tgcggggtcc tgetgctttc actcgtgac actctttact 2580

gtaagcgcgg tcggaagaag ctgctgtaca tctttaagca acccttcatg aggcctgtgc 2640

agactactca agaggaggac ggctgttcat gccggttccc agaggaggag gaaggcggct 2700

gcgaactgcg cgtgaaattc agccgcagcg cagatgctcc agcctacaag caggggcaga 2760

accagctcta caacgaactc aatcttggtc ggagagagga gtacgacgtg ctggacaagc 2820

ggagaggacg ggaccagaaa atgggcggga agccgcgagc aaagaatccc caagagggcc 2880

tgtacaacga gctccaaaag gataagatgg cagaagccta tagcgagatt ggtatgaaag 2940

gggaacgcag aagaggcaaa ggccacgacg gactgtacca gggactcagc accgccacca 3000

aggacaccta tgacgtctt cacatgcagg cctgcccgc tcggtga 3047

<210> 33

<211> 2808

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 33

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gctctggacct 120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180

acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240

tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaagg caagaccaca 300

ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctacttttg gccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420

cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480

ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gacctgggc 540

gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactccaa cggcaatacc 600

tacctggagt ggiatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660

tctaatcggc tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720

acctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780

tcccacgtgc cacgcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840

gcagaggatgc ccacagcaca cccatctcca agccctaggc cagcaggaca gttccagacc 900  
ctggtggtgg gagtgggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960

gccgtgatct gcagcagggc cgcccgggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
ctgaaggagg acccttccgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatfff 1080  
cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgccctgagca gaccgagtat 1140  
gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcggc 1200  
gacggaccac ggtccgccc gccactgctg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260  
ggttccggcg cgacaaactt tagcttgctg aagcaagctg gtgacgtgga ggagaatccc 1320  
ggccctgcct taccagtac cgcttctc ctgccctgg ccttgctgct ccacgcggc 1380

aggccggact acaaagacga tgacgacaag gacatccaga tgacacagac tacatcctcc 1440  
ctgtctgctt ctctgggaga cagagtcacc atcagttgca gggcaagtca ggacattagt 1500  
aaatatttaa attggtatca gcagaaacca gatggaactg ttaactcct gatctacat 1560  
acatcaagat tacactcagg agtcccatca aggttcagtg gcagtggtgc tggaacagat 1620  
tattctctca ccattagcaa cctggagcaa gaagatattg ccacttactt ttgccaacag 1680  
ggtaatcgc ttccgtacac gttcggaggg gggaccaagc tggagatcac aggtggcgg 1740  
ggctcggcg gtggtgggtc gggcggcggc ggatctgagg tgaactgca ggagtcagga 1800

cctggcctgg tggcgcctc acagagcctg tccgtcacat gcactgtctc aggggtctca 1860  
ttaccgact atggtgtaag ctggattcgc cagcctccac gaaagggtct ggagtggctg 1920  
ggagtaatat ggggtagtga aaccacatac tataattcag ctctcaaatc cagactgacc 1980  
atcatcaagg acaactcaa gagccaagt tcttaaaaa tgaacagtct gcaaactgat 2040  
gacacagcca ttactactg tgccaaacat tattactacg gtggtagcta tgctatggac 2100  
tactggggcc aaggaacctc agtcaccgtc tctcaacca ctacccagc accgaggcca 2160  
cccaccccg ctctacat cgctcccag cctctgtccc tgcgtccgga ggcattaga 2220

cccgcagctg gtggggccgt gcatacccg ggtcttgact tgcctgcga tatctacatt 2280  
tgggcccctc tggtggttac ttgcgggtc ctgctgcttt cactcgtgat cactctttac 2340  
tgtaagcgcg gtcggaagaa gctgctgtac atctttaagc aaccttcat gaggcctgtg 2400  
cagactactc aagaggagga cggtgttca tgcgggtcc cagaggagga ggaaggcggc 2460  
tgcaactgc gcgtgaaatt cagccgcagc gcagatgctc cagcctaaa gcaggggcag 2520  
aaccagctct acaacgaact caatcttgg cggagagagg agtacgacgt gctggacaag 2580

cggagaggac gggacccaga aatgggcggg aagccgcgca gaaagaatcc ccaagagggc 2640

ctgtacaacg agctccaaaa ggataagatg gcagaagcct atagcgagat tggatgaaa 2700

ggggaacgca gaagaggcaa aggccacgac ggactgtacc agggactcag caccgccacc 2760

aaggacacct atgacgctct tcacatgcag gcctgcccgc ctcggtga 2808

<210> 34

<211> 972

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 34

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120

gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180

acatcttate acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240

tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300

ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgctgc tgagcagcct gaccagcgag 360

gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggacataact atgctatgga ctattggggc 420

cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480

ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gagcctgggc 540

gatcaggtga gcatctcctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600

tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtccccca agctgctgat ctataaggtg 660

tctaacgggt tcagcggcgt gcctgacaga ttttctggca gcggctccgg caccgacttc 720

accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780

tcccactgac cagcaccctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840

gcagaggtgc ccacagcaca cccatcteca agccctagge cagcaggaca gttccagacc 900

ctggtggtgg gagtgggtgg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960

gcctgatct ga 972

<210> 35

<211> 1263

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 35

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60  
cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120  
gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
acatcttatac acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
  
tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300  
ctgaccgccg ataagagcag cagcaccgcc tacatgtctg tgagcagcct gaccagcgag 360  
gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480  
ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgccctg gagcctgggc 540  
gatcaggtga gcactctctg tagatcctct cagagcatcg tgcactcaa cggcaatacc 600  
tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
  
tctaateggt tcagcggcgt gcctgacaga tttctggca gcgctccgg caccgacttc 720  
accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
tcccactgac cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
gcagaggtgc ccacagcaca cccatcteca agccctagge cagcaggaca gttccagacc 900  
ctggtggtgg gagtgggtgg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
gccgtgatct gcagcagggc cggccggcgc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
ctgaaggagg acccttcgc cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatfff 1080  
  
cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgccctgagca gaccgagtat 1140  
gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcggc 1200  
gacggaccac ggtccgccc gccactgcgg cccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260  
tga 1263

<210> 36

<211> 1599

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400> 36

atggcactgc cagtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagccaga 60

cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctgcaggtgc agctgcagca gtctggacct 120  
 gagctggtga agccaggagc ctccgtgaag atgtcttgca aggccagcgg ctacaccttc 180  
 acatcttata acatccagtg ggtgaagcag cggccccggac agggcctgga gtggatcgga 240  
 tggatctacc caggcgacgg ctccacacag tataacgaga agttcaaggg caagaccaca 300  
 ctgaccgccc ataagagcag cagcaccgcc tacatgtgc tgagcagcct gaccagcgag 360  
 gacagcgcca tctacttttg cgccagggag ggcacatact atgctatgga ctattggggc 420  
 cagggcacca gcgtgacagt gtctagcggg ggaggaggct ccggaggagg aggctctggc 480

ggcggcggca gcgacgtgct gatgaccag acaccactga gcctgcccgt gagcctgggc 540  
 gatcaggatga gcactctctg tagatcctct cagagcatcg tgactccaa cggcaatacc 600  
 tacctggagt ggtatctgca gaagccaggc cagtcccca agctgctgat ctataaggtg 660  
 tctaactcgt tcagcggcgt gcctgacaga tttcttgca gcggctccgg caccgacttc 720  
 accctgaaga tcagccgggt ggaggcagag gatctgggcg tgtactattg tttccagggc 780  
 tcccactgac cagcacctt tggcggcggc acaaagctgg agatcaagac cgagaggaga 840  
 gcagaggtgc ccacagcaca cccatctcca agccctagge cagcaggaca gttccagacc 900

ctggtggtgg gagggtggg aggcctgctg ggctctctgg tgctgctggt gtgggtgctg 960  
 gccgtgatct gcagcagggc cgcccgggc accatcggcg ccaggcgcac aggccagcct 1020  
 ctgaaggagg acccttcgca cgtgccagtg ttctctgtgg actacggcga gctggatctt 1080  
 cagtggcggg agaaaacccc agagccacct gtgccctgcg tgcctgagca gaccagat 1140  
 gccacaatcg tgtttccatc cggaatgggc acaagctccc ctgcaaggag aggcagcgcc 1200  
 gacggaccac ggtccgccc gccactgagg ccgaggatg gccactgttc ttggcccctg 1260  
 ggtggcgggt gctcaggcgg tgggtggctg ggtggcggcg gatcttcag cagggccgcc 1320

cgcgccacca tcggcgccag gcgcacaggc cagcctctga aggaggacce ttccgctgtg 1380  
 ccagtgttct ctgtggacta cggcgagctg gattttcagt ggcgggagaa aacccagag 1440  
 ccactgtgac cctcgtgccc tgagcagacc gactatgcca caatcgtgtt tccatccgga 1500  
 atgggcacaa gctcccctgc aaggagaggc agcggcagc gaccacggtc cgcccagcca 1560  
 ctgcggcccg aggatggcca ctgttcttgg ccctgtga 1599

<210> 37

<211> 2016

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> artificial construct

<400>

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60  
 ccggactaca aagacgatga cgacaaggac atccagatga cacagactac atcctccctg 120  
 tctgcctctc tgggagacag agtcaccatc agttgcaggg caagtcagga cattagtaaa 180  
 tatttaaatt ggtatcagca gaaaccagat ggaactgtta aactcctgat ctaccataca 240  
 tcaagattac actcaggagt cccatcaagg ttcagtggca gtgggtctgg aacagattat 300  
 tctctacca ttagcaacct ggagcaagaa gatattgcca cttacttttg ccaacagggt 360  
 aatacgttc cgtacacgtt cggagggggg accaagctgg agatcacagg tggcgtggc 420

tctggcgggtg gtgggtcggg tggcggcggg tctgaggtga aactgcagga gtcaggacct 480  
 gccttgggtg cgcctcaca gacctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta 540  
 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctgga gtggctggga 600  
 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc 660  
 atcaaggaca actccaagag ccaagtttc ttaaaaatga acagctgca aactgatgac 720  
 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac 780  
 tggggccaag gaacctcagt caccgtctcc tcaaccacta ccccagcacc gaggccacc 840

accccggctc ctaccatcgc ctcccagcct ctgtccctgc gtcgggagc atgtagacc 900  
 gcagctgggtg gggccgtgca taccgggggt cttgacttgc cctgcgatat ctacatttgg 960  
 gcccctctgg ctggtacttg cggggtcctg ctgctttcac tcgtgatcac tctttactgt 1020  
 ctgagctgc tcttggctct caacttattc cttcaattc aagtaacagg aaacaagatt 1080  
 ttggtgaagc agtcgcccct gctttagcgc tacgacaatg cggccaacct tagctgcaag 1140  
 tattctaca atctcttctc aaggagttc cgggcatccc ttcacaaagg actggatagt 1200  
 gctgtggaag tctgtgtgtg atatgggaat tactcccagc agcttcaggt ttactcaaaa 1260

acggggttca actgtgatgg gaaattgggc aatgaatcag tgacattcta cctccagaat 1320  
 ttgtatgtta accaaacaga tatttacttc tgcaaaatg aagttatgta tctctctct 1380  
 tacctagaca atgagaagag caatggaacc attatccatg tgaaagggaa acaccttgt 1440  
 ccaagtcccc tatttcccgg accttctaag cccttttggg tgctgggtgt ggttgggtgga 1500  
 gtcttggctt gctatagctt gctagtaaca gtggccttta ttattttctg ggtgaggagt 1560  
 aagaggagca ggctcctgca cagtgactac atgaacatga ctccccgcg ccccgggccc 1620  
 acccgcaagc attaccagcc ctatgcccc aacgcgact tcgcagccta tcgtcccgc 1680

gtgaaattca gccgcagcgc agatgctcca gcctacaagc aggggcagaa ccagctctac 1740  
 aacgaactca atcttggctg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1800

gaccagaaa tggcgggaa gccgcgaga aagaatcccc aagagggcct gtacaacgag 1860  
 ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1920  
 agaggcaaag gccacgacgg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1980  
 gacgctcttc acatgcaggc cctgccgcct cggatga 2016

<210> 38  
 <211> 1488  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> artificial construct  
 <400> 38

atggcactgc cagtgaccgc cctgtgtctg cctctggccc tgctgtctgca cgcagccaga 60  
 cccgagcaga agctgatctc cgaggaggac ctggacatcc tgctgaccca gtccccagtg 120  
 atcctgagcg tgtccccagg agagcgggtg agcttcagct gccgggcctc ccagtctatc 180  
 ggaccaata tccactggta tcagcagagg acaaacggct cccctgcct gctgatcaag 240  
 tatgccagcg agtccatctc tggcatccca tctaggttca gcggctccgg ctctggcacc 300  
 gacttcacc tgctatcaa tagcgtggag tccgaggaca tcgccgatta ctattgccag 360

cagaacaata actggcccac cacatttggc gcaggcacca agctggagct gaagggaggc 420  
 ggccgctctg gaggaggagg cagcggcgga ggaggctccc aggtgcagct gaagcagtcc 480  
 ggaccaggcc tggatgcagc tagccagtcc ctgtctatca cctgtacagt gtctggcttc 540  
 agcctgacca actacggagt gcaactgggtg cggcagcttc caggcaaggg cctggagtgg 600  
 ctgggcgtga tctggagcgg aggcaataca gactataaca ccccttttac atccagactg 660  
 tctatcaata aggataacag caagtcccag gtgttcttta agatgaatag cctccagtcc 720  
 aacgacaccg ccatctacta ttgtgccaga gcctgacat actatgatta cgagttcgcc 780

tattggggcc agggcaccct ggtgacagtg agcggcacca ctaccccagc accgaggcca 840  
 cccaccccgg ctctaccat cgctcccag cctctgtccc tgcgtccgga ggcatgtaga 900  
 cccgcagctg gtggggccgt gcatacccgg ggtcttgact tcgcctgcga tatctacatt 960  
 tgggcccctc tggctggatc ttgcggggtc ctgtctgttt cactctgtat cactctttac 1020  
 tgtaagcgcg gtcggaagaa gctgtgttac atctttaagc aacccttcat gaggcctgtg 1080  
 cagactactc aagaggagga cggctgttca tgccggttcc cagaggagga ggaaggcggc 1140  
 tgccaactgc gcgtgaaatt cagcccagc gcagatgctc cagcctacaa gcaggggcag 1200

aaccagctct acaacgaact caatcttggc cggagagagg agtacgacgt gctggacaag 1260

cggagaggac gggacccaga aatgggcggg aagccgcgca gaaagaatcc ccaagagggc 1320  
 ctgtacaacg agctccaaaa ggataagatg gcagaagcct atagcgagat tggtatgaaa 1380  
 ggggaacgca gaagaggcaa aggccacgac ggactgtacc agggactcag caccgccacc 1440  
 aaggacacct atgacgctct tcacatgcag gcctgccgc ctcggtga 1488

<210> 39

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR aCAR (based on Cetuximab scFv)

<400> 39

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu

20 25 30

Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln

35 40 45

Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile

85 90 95

Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn

100 105 110

Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln

130 135 140

Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser

145 150 155 160

Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly

165 170 175

Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly  
 180 185 190

Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser  
 195 200 205

Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys  
 210 215 220

Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 225 230 235 240

Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 245 250 255

Leu Val Thr Val Ser Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr Thr  
 260 265 270

Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln  
 275 280 285

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala  
 290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala  
 305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr  
 325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln  
 340 345 350

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser  
 355 360 365

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys  
 370 375 380

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln  
 385 390 395 400

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu  
 405 410 415

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg



Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln  
 130 135 140  
 Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr  
 145 150 155 160  
 Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser Ser Gly Asp  
 165 170 175  
 Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
 180 185 190  
 Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
 195 200 205  
 Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Thr Gln Phe Ser  
 210 215 220  
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys  
 225 230 235 240  
 Val Arg Asp Arg Val Thr Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr  
 245 250 255  
 Met Val Thr Val Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr Thr  
 260 265 270  
  
 Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln  
 275 280 285  
 Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala  
 290 295 300  
 Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala  
 305 310 315 320  
 Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr  
 325 330 335  
 Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln  
 340 345 350  
 Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser  
 355 360 365  
 Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys  
 370 375 380

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln  
 385                      390                      395                      400

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu  
                           405                      410                      415

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg  
                           420                      425                      430

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met  
                           435                      440                      445

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly  
                           450                      455                      460

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp  
 465                      470                      475                      480

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
                           485                      490

<210> 41  
 <211> 501  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> EGFR aCAR (based on Nimotuzumab scFv)  
 <400> 41

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu  
   1                      5                      10                      15

His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu  
                           20                      25                      30

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln  
                           35                      40                      45

Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Gln Gln  
   50                      55                      60

Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg  
   65                      70                      75                      80

Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp  
                           85                      90                      95

Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr  
 100 105 110  
  
 Tyr Cys Phe Gln Tyr Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr  
 115 120 125  
 Lys Leu Gln Ile Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 130 135 140  
 Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 145 150 155 160  
 Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 165 170 175  
 Thr Asn Tyr Tyr Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
 180 185 190  
 Glu Trp Ile Gly Gly Ile Asn Pro Thr Ser Gly Gly Ser Asn Phe Asn  
 195 200 205  
 Glu Lys Phe Lys Thr Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Ser Thr  
 210 215 220  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Phe  
 225 230 235 240  
 Tyr Phe Cys Thr Arg Gln Gly Leu Trp Phe Asp Ser Asp Gly Arg Gly  
 245 250 255  
  
 Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Asp Tyr  
 260 265 270  
 Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr  
 275 280 285  
 Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala  
 290 295 300  
 Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe  
 305 310 315 320  
 Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val  
 325 330 335  
 Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys

340                                    345                                    350  
 Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr  
     355                                    360                                    365  
 Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu  
     370                                    375                                    380  
 Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro  
 385                                    390                                    395                                    400  
  
 Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly  
     405                                    410                                    415  
 Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro  
     420                                    425                                    430  
 Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr  
     435                                    440                                    445  
 Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly  
     450                                    455                                    460  
 Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln  
  
 465                                    470                                    475                                    480  
 Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln  
     485                                    490                                    495  
 Ala Leu Pro Pro Arg  
     500  
 <210>    42  
 <211>    494  
 <212>    PRT  
 <213>    Artificial Sequence  
 <220><223>    EGFR aCAR (based on Necitumumab scFv)  
 <400>    42  
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu  
   1                                    5                                    10                                    15  
 His Ala Ala Arg Pro Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu  
  
     20                                    25                                    30  
 Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln

35 40 45  
 Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala  
 50 55 60  
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile  
 85 90 95  
  
 Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr  
 100 105 110  
 Gly Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Ala Glu Ile Lys  
 115 120 125  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln  
 130 135 140  
 Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr  
 145 150 155 160  
 Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Asp  
  
 165 170 175  
 Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp  
 180 185 190  
 Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ser Leu  
 195 200 205  
 Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
 210 215 220  
 Leu Lys Val Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 225 230 235 240  
  
 Ala Arg Val Ser Ile Phe Gly Val Gly Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
 245 250 255  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr  
 260 265 270  
 Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser  
 275 280 285  
 Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly

290 295 300  
 Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp

305 310 315 320  
 Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile  
 325 330 335  
 Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys  
 340 345 350  
 Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys  
 355 360 365  
 Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val  
 370 375 380

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn  
 385 390 395 400  
 Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val  
 405 410 415  
 Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg  
 420 425 430  
 Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys  
 435 440 445  
 Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg

450 455 460  
 Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys  
 465 470 475 480  
 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
 485 490

<210> 43  
 <211> 500  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> EGFR aCAR (based on C10 scFv)  
 <400> 43  
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1                    5                    10                    15  
 His Ala Ala Arg Pro Gln Ser Val Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser  
                           20                    25                    30  
 Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Lys Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu  
                           35                    40                    45  
 Arg Ser Tyr Phe Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
                           50                    55                    60  
 Thr Leu Val Met Tyr Ala Arg Asn Asp Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp  
                           65                    70                    75                    80  
 Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ser Ala Ile  
                           85                    90                    95  
 Ser Gly Leu Gln Pro Glu Asp Glu Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp  
                           100                    105                    110  
 Asp Ser Leu Asn Gly Tyr Leu Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Thr Val  
                           115                    120                    125  
 Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
                           130                    135                    140  
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
                           145                    150                    155                    160  
  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
                           165                    170                    175  
 Ala Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                           180                    185                    190  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
                           195                    200                    205  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Ser Ala Tyr  
                           210                    215                    220  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
  
 225                    230                    235                    240  
 Ala Arg Glu Glu Gly Pro Tyr Cys Ser Ser Thr Ser Cys Tyr Ala Ala  
                           245                    250                    255

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Leu Ser Ser Tyr Lys  
 260 265 270  
 Asp Asp Asp Asp Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro  
 275 280 285  
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys  
 290 295 300  
  
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala  
 305 310 315 320  
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu  
 325 330 335  
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys  
 340 345 350  
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr  
 355 360 365  
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly  
 370 375 380  
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala  
 385 390 395 400  
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg  
 405 410 415  
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu  
 420 425 430  
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn  
 435 440 445  
  
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met  
 450 455 460  
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly  
 465 470 475 480  
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala  
 485 490 495  
 Leu Pro Pro Arg  
 500

<210> 44  
 <211> 493  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> HER2 aCAR based on Trastuzumab scFv

<400> 44  
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu  
 1 5 10 15  
 His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu  
 20 25 30  
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln  
 35 40 45  
 Asp Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala  
 50 55 60  
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile  
 85 90 95  
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His  
 100 105 110  
 Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 115 120 125  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu  
 130 135 140  
 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser  
 145 150 155 160  
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr  
 165 170 175  
 Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala  
 180 185 190  
 Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 195 200 205

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu  
 210 215 220  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser  
 225 230 235 240  
 Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 245 250 255  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr Thr  
 260 265 270  
 Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln  
 275 280 285  
  
 Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala  
 290 295 300  
 Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala  
 305 310 315 320  
 Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr  
 325 330 335  
 Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln  
 340 345 350  
 Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser  
 355 360 365  
 Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys  
 370 375 380  
 Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln  
 385 390 395 400  
 Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu  
 405 410 415  
 Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg  
 420 425 430  
  
 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met  
 435 440 445  
 Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly

450                                    455                                    460  
 Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp  
 465                                    470                                    475                                    480  
 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
     485                                    490  
 <210>    45  
 <211>    492  
 <212>    PRT  
  
 <213>    Artificial Sequence  
 <220><223>    HER2 aCAR based on Pertuzumab scFv  
 <400>    45  
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu  
       1                                    5                                    10                                    15  
 His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu  
     20                                    25                                    30  
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln  
     35                                    40                                    45  
 Asp Val Ser Ile Gly Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala  
  
       50                                    55                                    60  
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro  
       65                                    70                                    75                                    80  
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile  
     85                                    90                                    95  
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr  
     100                                    105                                    110  
 Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
     115                                    120                                    125  
  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu  
       130                                    135                                    140  
 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser  
       145                                    150                                    155                                    160  
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr

	165		170		175
Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala					
	180		185		190
Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Lys					
	195		200		205
Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu					
	210		215		220
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala					
225		230		235	240
Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr					
	245		250		255
Leu Val Thr Val Ser Ser Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Thr Thr Thr					
	260		265		270
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro					
	275		280		285
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val					
	290		295		300
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro					
305		310		315	320
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu					
	325		330		335
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro					
	340		345		350
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys					
	355		360		365
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe					
	370		375		380
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu					
385		390		395	400
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp					
	405		410		415

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys  
 420 425 430  
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala  
 435 440 445  
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys  
 450 455 460  
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr  
 465 470 475 480  
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485 490

<210> 46  
 <211> 497  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Humanized HLA-A2scFv-IgG- VKA17/VH1-3  
 <400> 46

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

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

115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 130 135 140  
 Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 145 150 155 160  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 165 170 175  
 Thr Ser Tyr His Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu  
 180 185 190  
  
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn  
 195 200 205  
 Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser  
 210 215 220  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 225 230 235 240  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 245 250 255  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp  
 260 265 270  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
 275 280 285  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 290 295 300  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 305 310 315 320  
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 325 330 335  
  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 340 345 350  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 355 360 365  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 370 375 380

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 385                      390                      395                      400

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

                                 405                      410                      415

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

                                 420                      425                      430

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

                                 435                      440                      445

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

                                 450                      455                      460

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

465                      470                      475                      480

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

                                 485                      490                      495

Gly

<210> 47

<211> 497

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized HLA-A2scFv-IgG -VKA17/VH1-69

<400> 47

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1                      5                      10                      15

Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro

                                 20                      25                      30

Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser

                                 35                      40                      45

Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Gln Gln Arg

                                 50                      55                      60

Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe

65                      70                      75                      80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 130 135 140  
 Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 145 150 155 160  
 Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe  
 165 170 175  
  
 Ser Ser Tyr His Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
 180 185 190  
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn  
 195 200 205  
 Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser  
 210 215 220  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 225 230 235 240  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 245 250 255  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp  
 260 265 270  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
 275 280 285  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 290 295 300  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 305 310 315 320  
  
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

325 330 335  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 340 345 350  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 355 360 365  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 370 375 380  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

385 390 395 400  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 405 410 415  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 420 425 430  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 435 440 445  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 450 455 460

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 465 470 475 480  
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 485 490 495

Gly

<210> 48

<211> 497

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized HLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-3

<400> 48

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser

20 25 30  
 Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45  
 Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys  
 50 55 60  
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 130 135 140  
 Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 145 150 155 160  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 165 170 175  
 Thr Ser Tyr His Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu  
 180 185 190  
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn  
 195 200 205  
 Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser  
 210 215 220  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 225 230 235 240  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 245 250 255  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp  
 260 265 270  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly



<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized HLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-69

<400> 49

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys

50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe

65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

85 90 95

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

100 105 110

Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys

115 120 125

Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe

165 170 175

Ser Ser Tyr His Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

180 185 190

Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn

195 200 205

Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser

210 215 220

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 225                      230                      235                      240  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
                                  245                      250                      255  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp  
                                  260                      265                      270  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
                                  275                      280                      285  
  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
                                  290                      295                      300  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 305                      310                      315                      320  
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
                                  325                      330                      335  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
                                  340                      345                      350  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
  
                                  355                      360                      365  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
                                  370                      375                      380  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 385                      390                      395                      400  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
                                  405                      410                      415  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
                                  420                      425                      430  
  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
                                  435                      440                      445  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
                                  450                      455                      460  
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 465                      470                      475                      480

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

485

490

495

Gly