



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0057444
(43) 공개일자 2024년05월02일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/725 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01) C07K 14/54 (2024.01)
C07K 14/705 (2006.01) C12N 5/0783 (2010.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/7051 (2013.01)
A61K 39/4611 (2023.05)
- (21) 출원번호 10-2024-7013105(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2018년03월27일
심사청구일자 2024년04월19일
- (62) 원출원 특허 10-2019-7031584
원출원일자(국제) 2018년03월27일
심사청구일자 2021년03월24일
- (85) 번역문제출일자 2024년04월19일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/024650
- (87) 국제공개번호 WO 2018/183385
국제공개일자 2018년10월04일
- (30) 우선권주장
62/477,335 2017년03월27일 미국(US)
62/628,774 2018년02월09일 미국(US)

- (71) 출원인
내셔널 유니버시티 오브 싱가포르
싱가포르 119077 로우어 쉐트 리지 로드 21
엔카르타, 인크.
미국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코 베
테란스 블러바드 1150
- (72) 발명자
레옹, 준, 하오
싱가포르 119077 싱가포르 로우어 쉐트 리지 로드
21 내셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내
시마사키, 노리코
싱가포르 119077 싱가포르 로우어 쉐트 리지 로드
21 내셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

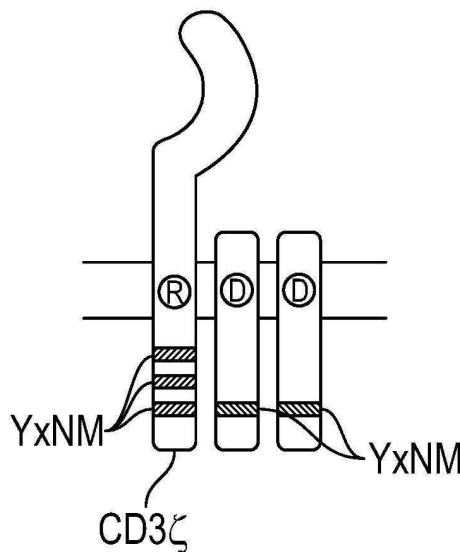
전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 발명의 명칭 절단된 NKG2D 키메라 수용체 및 자연 살해 세포 면역요법에서의 그의 용도

(57) 요약

본원에 개시된 몇몇의 구현예는 키메라 수용체를 발현하는 엔지니어링된 자연 살해(NK) 세포를 포함하는 조성물
에 관한 것이며, 키메라 수용체는 특정 세포, 예컨대 암 세포 또는 감염성 질환에 의해 이환된 세포를 표적화하
기 위한 향상된 능력을 NK 세포에 부여한다. 몇몇의 구현예는 NKG2D의 천연 리간드를 발현하는 세포를 표적화하
는 NK 세포에 관한 것이며, NK 세포는 NK 세포가 표적 세포에 결합하는 경우 세포독성 및/또는 세포용해 효과를
야기하는 막횡단 및/또는 신호전달 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 질환을 치료하기 위한 NK 세포 조성
물의 용도도 또한 제공된다.

대표도 - 도1b



(52) CPC특허분류

A61K 39/4613 (2023.05)
A61K 39/4631 (2023.05)
A61P 35/02 (2018.01)
C07K 14/5443 (2013.01)
C07K 14/7056 (2013.01)
C07K 14/70575 (2013.01)
C12N 5/0636 (2023.05)
C12N 5/0646 (2023.05)
C12N 2510/00 (2013.01)

(72) 발명자

세오우, 쎄, 분

싱가포르 119077 싱가포르 로우어 쉐트 리지 로드
21 네셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내

캄파나, 다리오

싱가포르 119077 싱가포르 로우어 쉐트 리지 로드
21 네셔널 유니버시티 오브 싱가포르 내

트라저, 제임스, 바르나비

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 3알
디 플로어 오이스터 포인트 블러바드 329
엔카르타, 인크. 내

라제틱, 알렉산드라, 레이다 리아나

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 3알
디 플로어 오이스터 포인트 블러바드 329
엔카르타, 인크. 내

구오, 차오

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 3알
디 플로어 오이스터 포인트 블러바드 329
엔카르타, 인크. 내

부렌, 루수안, 구오

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 3알
디 플로어 오이스터 포인트 블러바드 329
엔카르타, 인크. 내

마스라니, 시얌, 사시칸트

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 3알
디 플로어 오이스터 포인트 블러바드 329
엔카르타, 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 세포의 수용체 도메인, 및

(b) 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인

을 포함하는, 세포에 의해 발현되는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드이며,

여기서 상기 세포의 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하고,

NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 단편이며,

NKG2D의 단편은 SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하고,

세포내 신호전달 도메인은 OX-40 도메인 및 CD3제타를 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 막횡단 영역이 CD8a 힌지 영역을 포함하고, CD8a 힌지 영역이 SEQ ID NO: 5에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 것인 폴리뉴클레오티드.

청구항 3

제1항에 있어서, 폴리뉴클레오티드가 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 인코딩하고, mbIL15가 SEQ ID NO. 16에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 것인 폴리뉴클레오티드.

청구항 4

제3항에 있어서, mbIL15가 키메라 수용체와 동일한 폴리뉴클레오티드에 의해 비시스트론적으로 (bicistronically) 인코딩되는 것인 폴리뉴클레오티드.

청구항 5

제3항에 있어서, mbIL15가 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리뉴클레오티드.

청구항 6

제1항에 있어서, OX-40 도메인이 SEQ ID NO. 107의 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 가지는 것인 폴리뉴클레오티드.

청구항 7

제3항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 16의 mbIL15를 인코딩하는 핵산 서열에 커플링된 SEQ ID NO: 90의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 것인 폴리뉴클레오티드.

청구항 8

제1항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO: 109의 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리뉴클레오티드.

청구항 9

제3항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 16에 의해 인코딩되는 mbIL15에 커플링된 SEQ ID NO: 100의 핵산 서열에 의해 인코딩되거나, 또는 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 17의 아미노산 서열을 포함하는 mbIL15에 커플링된 SEQ ID NO: 101의 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리뉴클레오티드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터이며, 여기서 벡터는 바이러스 벡터인, 벡터.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 단리된 면역 세포.

청구항 12

(a) 세포외 수용체 도메인, 및

(b) 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인

을 포함하는 키메라 수용체이며,

여기서 상기 세포외 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하고,

NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 NKG2D의 단편이며,

이펙터 도메인은 OX-40 도메인을 포함하고,

세포내 신호전달 도메인은 CD3제타를 포함하는 것인,

키메라 수용체.

청구항 13

제12항에 있어서, OX-40 도메인이 SEQ ID NO. 107의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, CD3제타 도메인이 SEQ ID NO: 13에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 것인 키메라 수용체.

청구항 14

제12항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 109의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인 키메라 수용체.

청구항 15

자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 리간드를 표적화하는 키메라 수용체를 발현하는 단리된 면역 세포이며, 키메라 수용체는

NKG2D 수용체의 단편을 포함하는 세포외 수용체 도메인, 및

막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인

을 포함하고,

여기서 NKG2D의 단편은 SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하며,

세포내 신호전달 도메인은 OX-40 도메인 및 SEQ ID NO. 13에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 CD3제타를 포함하는 것인,

단리된 면역 세포.

청구항 16

제15항에 있어서, 막횡단 영역이 SEQ ID NO: 5에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 CD8a 힌지 영역을 포함하는 것인 단리된 면역 세포.

청구항 17

제15항에 있어서, 세포가 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)을 발현하고, mbIL15가 SEQ ID NO. 16에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 것인 단리된 면역 세포.

청구항 18

제17항에 있어서, mbIL15가 키메라 수용체와 동일한 폴리뉴클레오티드에 의해 비시스트론적으로 (bicistronically) 인코딩되는 것인 단리된 면역 세포.

청구항 19

제17항에 있어서, mbIL15가 SEQ ID NO. 17과 적어도 95%의 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 면역 세포.

청구항 20

제15항에 있어서, OX-40 도메인이 SEQ ID NO. 107과 적어도 95%의 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 면역 세포.

청구항 21

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 90의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 것인 단리된 면역 세포.

청구항 22

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 109의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 면역 세포.

청구항 23

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 100의 핵산 서열에 의해 인코딩되거나, 또는 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 101의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 면역 세포.

청구항 24

제15항에 있어서, 자연 살해(NK) 세포인 단리된 면역 세포.

청구항 25

제15항에 있어서, T 세포인 단리된 면역 세포.

청구항 26

자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 리간드를 표적화하는 키메라 수용체를 발현하는 단리된 면역 세포이며, 키메라 수용체는

SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 NKG2D 수용체의 단편을 포함하는 세포외 수용체 도메인; 및

막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하고,

여기서 막횡단 영역은 CD8a 힌지 및 CD8a 막횡단 도메인을 포함하며,

세포내 신호전달 도메인은 SEQ ID NO. 107의 아미노산 서열을 포함하는 OX-40 도메인을 포함하는 것인, 단리된 면역 세포.

청구항 27

암의 치료를 위해 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포의 집단을 생성하는 시험관 내 방법이며, 방법은

키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 면역 세포의 집단에 전달하는 단계, 및 이에 의해 키메라 수용체를 발현하는 면역 세포의 집단을 생성하는 단계를 포함하고, 키메라 수용체는

세포의 수용체 도메인, 및

막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인

을 포함하며,

여기서 상기 세포의 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하고,

NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 단편이며,

NKG2D의 단편은 SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하고,

세포내 신호전달 도메인은 OX-40 도메인 및 CD3제타를 포함하는 것인,

시험관 내 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 벡터가 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 추가로 포함하는 것이거나, 또는 mbIL15를 인코딩하는 추가의 벡터를 면역 세포의 집단에 전달하는 단계를 추가로 포함하는, 시험관 내 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, mbIL15가 SEQ ID NO. 16에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 것인 시험관 내 방법.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 90의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 것인 시험관 내 방법.

청구항 31

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 109의 아미노산 서열을 포함하는 것인 시험관 내 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 면역 세포의 집단이 자연 살해 세포를 포함하며, 자연 살해 세포가 암을 갖는 대상체에 대하여 동종이계인 시험관 내 방법.

청구항 33

키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 암의 치료를 위한 약제이며, 키메라 수용체는

(a) 세포의 수용체 도메인, 및

(b) 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인

을 포함하고,

여기서 상기 세포의 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며,

NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 단편이고,

NKG2D의 단편은 SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하며,

세포내 신호전달 도메인은 OX-40 도메인 및 CD3제타를 포함하는 것인, 약제.

청구항 34

키메라 수용체를 포함하는, 암의 치료를 위한 약제이며, 키메라 수용체는 세포외 수용체 도메인, 및

막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하고,

여기서 상기 세포외 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며,

NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 단편이고,

NKG2D의 단편은 SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하며,

세포내 신호전달 도메인은 OX-40 도메인 및 CD3제타를 포함하는 것인, 약제.

청구항 35

키메라 수용체를 발현하는 면역 세포의 집단을 포함하는, 암의 치료를 위한 약제이며, 키메라 수용체는 세포외 수용체 도메인, 및

막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하고,

여기서 상기 세포외 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며,

NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 단편이고,

NKG2D의 단편은 SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하며,

세포내 신호전달 도메인은 OX-40 하위도메인을 포함하는 것인, 약제.

청구항 36

제33항 또는 제35항에 있어서, 폴리뉴클레오티드가 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 인코딩하거나, 또는 면역 세포가 mbIL15를 발현하며, mbIL15가 SEQ ID NO: 16에 의해 인코딩되는 폴리펩티드를 포함하는 것인 약제.

청구항 37

제33항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO: 109의 아미노산 서열을 포함하는 것인 약제.

청구항 38

제37항에 있어서, 암이 백혈병인 약제.

청구항 39

제37항에 있어서, 암이 급성 골수성 백혈병인 약제.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원
- [0002] 본 출원은 2017년 3월 27일자 출원된 미국 가출원 제62/477,335호 및 2018년 2월 9일자 출원된 미국 가출원 제 62/628,774호의 이익을 주장한다. 상기 열거된 출원의 각각의 전문은 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] ASCII 텍스트 파일 자료의 참조에 의한 포함
- [0004] 본 출원은 본원과 동시에 제출되는 하기 ASCII 텍스트 파일에 함유된 서열 목록을 참조에 의해 포함한다:
- [0005] a) 파일명: 44591144002SequenceListing.txt; 2018년 3월 27일 생성됨, 186 KB 크기.

배경 기술

- [0006] 많은 질환의 출현 및 지속은 악성 및 바이러스 감염 세포를 포함하는 비정상 세포에 대한 불충분한 면역 반응을 특징으로 한다. 면역요법은 다양한 질환의 치료를 위한 환자의 면역계의 이용 및 조작이다.

발명의 내용

- [0007] 면역요법은 질환의 치료에서 새로운 기술적 진전을 제시하며, 면역 세포는 이환되거나 손상된 세포를 특이적으로 식별하고 이에 반응하는 특정 표적화 및/또는 이펙터 분자를 발현하도록 엔지니어링된다. 이것은 적어도 부분적으로 모든 세포가 영향을 받는 화학요법과 같은 더욱 전통적인 접근법과 대조적으로, 이환되거나 손상된 세포를 특이적으로 표적화할 가능성으로 인해 유망한 진전을 나타내며, 원하는 결과는 환자가 생존하게 하기에 충분한 건강한 세포가 생존하는 것이다. 한 가지의 면역요법 접근법은 관심 비정상 세포의 표적화된 인식 및 파괴를 달성하기 위한 면역 세포에서의 키메라 수용체의 재조합 발현이다.
- [0008] 이환된 세포 또는 감염 세포를 특이적으로 표적화하고 파괴하거나, 불능화시키거나, 다르게는 비활성이 되게 하기 위한 이러한 요구를 처리하기 위하여, 세포, 예컨대 자연 살해 세포에 향상된 표적화 및 세포독성을 부여하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드, 아미노산 및 벡터가 본원에 제공된다. 또한, 이환되거나 손상된 세포를 표적화하고 파괴하기 위한 세포의 생성 방법, 및 세포의 이용 방법이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 세포의 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 단편이다.
- [0009] 몇몇의 구현예에서, (a) 세포의 수용체 도메인 및 (b) 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 단편이며, 예를 들어, NKG2D의 단편은 SEQ ID NO. 2를 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 본원에 개시된 바와 같이, 구현예에 따라, 추가의 NKG2D 단편도 또한 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3제타를 포함한다. 일 구현예에서, CD3제타는 SEQ ID NO. 13을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되지만, 본원에 개시된 바와 같이, CD3제타와 상이하지만, 유사한 기능을 공유하는 서열도 또한 구현예에 따라 사용될 수 있다.
- [0010] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인의 막횡단 영역은 CD8a 막횡단 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 이펙터 도메인의 막횡단 영역은 CD8a 힌지 영역을 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, CD8a 힌지 영역은 SEQ ID NO: 5를 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 4-1BB를 추가로 포함한다. 일 구현예에서, 4-1BB는 SEQ ID NO. 12를 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되지만, 본원에 개시된 바와 같이, 4-1BB와 상이하지만, 유사한 기능을 공유하는 서열도 또한 구현예에 따라 사용될 수 있다.
- [0011] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a, 4-1BB 및 CD3z에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 18의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 추가의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 108의 핵산 서열에 의해 인코딩되지만, 본원에 개시된 바와 같이 SEQ ID NO. 108과 상이하지만

유사한 기능을 공유하는 서열도 또한 구현예에 따라 사용될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 19의 아미노산 서열을 포함한다.

[0012] 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 키메라 수용체 중 임의의 것은 또한 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)와 동시-발현될 수 있다. 일부 구현예에서, mbIL15는 SEQ ID NO. 16을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, mbIL15는 SEQ ID NO: 17의 아미노산 서열을 포함한다. 구현예에 따라, mbIL15에 대한 다른 서열도 또한 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, mbIL15는 키메라 수용체와 동일한 폴리뉴클레오티드 상에 비시스트론적으로(bicistronically) 발현된다. 다른 구현예에서, mbIL15는 개별 작제물 상에 동시-발현된다. 몇몇의 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 그의 발현을 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)의 발현과 커플링시킴으로써 추가로 향상된다.

[0013] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 OX-40 도메인을 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, OX-40 도메인은 mbIL15 대신에 또는 이에 더하여 존재한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, OX-40 도메인 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드 작제물은 mbIL15를 비시스트론적으로 동시-발현하도록 구성된다. 일부 이러한 구현예에서, 폴리뉴클레오티드 작제물은 예를 들어, 시토졸 프로테아제에 의해 인식되고 절단되는 하나 이상의 절단 부위(예를 들어, T2A, P2A, E2A 및/또는 F2A 절단 부위(들))를 포함한다. 일부 구현예에서, mbIL15는 시토졸 프로테아제 절단 부위에 의해 키메라 수용체에 커플링된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 시토졸 프로테아제 절단 부위에 의해 SEQ ID NO. 16에 의해 인코딩되는 mbIL15에 커플링되는 SEQ ID NO: 90의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 시토졸 프로테아제 절단 부위에 의해 SEQ ID NO. 16에 의해 인코딩되는 mbIL15에 커플링된 SEQ ID NO: 109의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함하며, SEQ ID NO. 17의 아미노산 서열을 포함하는 mbIL15와 동시-발현된다. 본원에 개시된 바와 같이, 구현예에 따라, SEQ ID NO: 90, 91, 109, 16 및/또는 16과 상이하지만, 유사한 기능을 공유하는 서열도 또한 사용될 수 있다.

[0014] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 IgG4 힌지, CD8a 막횡단 도메인, OX-40 도메인 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드 작제물은 mbIL15를 키메라 수용체와 비시스트론적으로 동시-발현하도록 구성된다. 일부 이러한 구현예에서, 폴리뉴클레오티드 작제물은 시토졸 프로테아제에 의해 인식되고 절단되는 하나 이상의 절단 부위(예를 들어, T2A, P2A, E2A 및/또는 F2A 절단 부위(들))를 포함한다. 일부 구현예에서, mbIL15는 시토졸 프로테아제 절단 부위에 의해 키메라 수용체에 커플링된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 시토졸 프로테아제 절단 부위에 의해 SEQ ID NO. 16에 의해 인코딩되는 mbIL15에 커플링되는 SEQ ID NO: 100의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 101의 아미노산 서열을 포함하며, SEQ ID NO. 17의 아미노산 서열을 포함하는 mbIL15와 동시-발현된다. 본원에 개시된 바와 같이, 구현예에 따라, SEQ ID NO: 100, 101 및/또는 16과 상이하지만, 유사한 기능을 공유하는 서열도 또한 사용될 수 있다.

[0015] 몇몇의 구현예에서, 상기 또는 본원의 다른 곳에 기재된 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 키메라 수용체를 발현하는 자연 살해(NK) 세포를 포함하는 조성물을 암을 갖는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료 방법이 제공된다.

[0016] 일 구현예에서, NK 세포는 암 또는 감염성 질환을 갖는 환자로부터 단리된 자가 세포이다. 추가의 구현예에서, NK 세포는 공여자로부터 단리된 동종이계 세포이다.

[0017] 또한, NK 세포 세포독성의 향상을 필요로 하는 포유동물에서 NK 세포 세포독성을 향상시키기 위한 약제의 제조에서의 상기 또는 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오티드의 용도가 본원에 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 포유동물에서 암 또는 감염성 질환을 치료하거나 예방하기 위한 약제의 제조에서의 상기 또는 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오티드의 용도가 제공된다.

[0018] 몇몇의 구현예에 따라, 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 키메라 수용체는 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함한다. 본원에 더욱 상세히 논의된 바와 같이, 세포의 수용체 도메인은 표적 세포 상의 리간드를 인식하고, 이에 결합하는 역할을 한다. 이펙터 도메인은 (세포의 도메인에 의한 표적 세포의 결합 시에) 표적 세포에 대하여 세포독성 활성을 야기하는 신호 캐스케이드를 움직이게 하는 신호를 전달하는 역할을 한다. 몇몇의 구현예에 따라, 폴리뉴클레오티드는 비-엔지니어링된 NK 세포에 비하여 예기치 못하게 증가된 세포독성을 제공하는 키메라 수용체를 인코딩한

다.

- [0019] 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함한다. 몇몇의 구현예에 따라, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 기능적 단편(예를 들어, 전장 NKG2D의 절단물, 단편 또는 부분)이다. 본원에 사용되는 용어 "단편", "절단물" 및 "부분"에는 그들의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 또한 서로 상호교환 가능하여야 한다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 단편은 SEQ ID NO: 1의 서열의 단편을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 단편은 SEQ ID NO: 2의 서열을 포함하는 한편, 추가의 구현예에서, NKG2D를 인코딩하는 단편은 코돈 최적화되며, 예를 들어, SEQ ID NO: 3의 서열을 포함한다. 추가의 구현예에서, NKG2D를 인코딩하는 단편은 코돈 최적화되며, 예를 들어, SEQ ID NO: 68의 서열을 포함한다.
- [0020] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 CD16, NCR1, NCR2, NCR3, 4-1BB, NKp80, CD3제타 및 2B4 중 하나 이상을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이들 이펙터 도메인은 CD8 알파에 커플링된다.
- [0021] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD16에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 본원에 사용되는 바와 같이, 커플링된 그의 일상적인 의미가 제공될 것이며, 또한 예를 들어, 시험관 내 전사/번역 시스템, 숙주 세포(예를 들어, 시험관 내 및/또는 생체 내)에서 뉴클레오티드 서열의 발현을 가능하게 하는 방식으로의 뉴클레오티드 서열의 직접적인(예를 들어, 제1 뉴클레오티드 바로 다음에 제2 뉴클레오티드) 또는 간접적인(예를 들어, 서열이 서로 프레임 내에 존재하지만, 개재 뉴클레오티드에 의해 분리됨) 연결을 지칭할 것이다. 본원에 사용되는 바와 같이, "연결된" 및 "커플링된"은 상호교환 가능하게 사용된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D/CD16 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 23의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D/CD16 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 NCR1에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 27의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0022] 상기 논의된 바와 같이, 몇몇의 구현예에서, NKG2D 단편은 NCR2에 커플링되며, 생성된 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열의 적어도 일부를 포함한다. 몇몇의 구현예는 NCR3에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하는 키메라 수용체를 제공한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 29의 핵산 서열에 의해 인코딩되며, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 30의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0023] 하기에 더욱 상세히 논의된 바와 같이, 막횡단 및 세포내 도메인의 조합이 몇몇의 구현예에서 사용되며, 키메라 수용체의 성분 간의 상승적 상호작용을 제공하며, 향상된 세포독성 효과를 제공한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 25의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 생성된 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0024] 몇몇의 구현예에서, NCR1은 NKG2D 단편과 함께 사용된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D 단편은 단독의 NCR1에 연결된다. 추가의 구현예에서, 키메라 수용체는 NCR1 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일부 이러한 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 20의 NCR1 아미노산 서열을 포함한다.
- [0025] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a, 4-1BB 및 CD3z에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 NKG2D/CD8a/4-1bb/CD3z 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 18의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 19의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0026] 몇몇의 구현예에서, NCR3은 키메라 수용체에 포함된다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서 NKG2D/NCR3 작제물이 제공된다. 그에 의해 생성된 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 22의 NCR3 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 NKG2D/NCR2/4-1BB 작제물 또는 NKG2D/NCR3/4-1BB 작제물을 포함한다.
- [0027] 몇몇의 구현예에서, 링커, 힌지 또는 다른 "이격" 요소가 키메라 수용체 작제물에서 제공된다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 링커를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 작제물의 부분 사이에서, 예컨대 4-1BB, CD16, NCR1, NCR3, 2B4 또는 NKp80 중 임의의 것 사이에서 GS 링커를 인코딩한다. 몇몇의 구현예에서, 하나 이상, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 GS 링커가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역을 포함하는 키메라 수용체가 제공된다. 특정 작제물 내의 위치에 따라, 힌지 영역은 링커 영역과 동어일 수 있으며, 그 역도 그러하다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 5의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 힌지 영역은 요망되는 길이로 절단될 수 있으며, 이에 따라, SEQ ID NO: 5의 핵산 서열의 단

편에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 글리신-세린 모티프는 힌지로서 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 (GGGS)_n(SEQ ID NO: 31)의 아미노산 서열을 갖는 글리신-세린 반복 모티프를 포함하며, n은 반복부의 수이다. 몇몇의 구현예에서, 9개의 반복부가 사용되어, SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함하는 힌지 영역이 초래된다. 몇몇의 구현예에서, 3개의 반복부가 사용되어, SEQ ID NO: 34의 아미노산 서열을 포함하는 힌지 영역이 초래된다.

[0028] 몇몇의 구현예에서, 2개의 개별 분자, 예컨대 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열(CD8a/GS3)이 힌지 또는 링커로서 사용될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 베타 아드레날린성 수용체의 부분은 힌지 또는 링커로서 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 베타-2 아드레날린성 수용체의 부분이 사용된다. 일 구현예에서, 베타-2 아드레날린성 수용체의 세포외 도메인이 사용되며, 이는 SEQ ID NO: 40의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 베타-2 아드레날린성 수용체의 제1 막횡단 나선이 사용되며, 이는 SEQ ID NO: 42의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 구현예에 따라, 이들 2개의 베타-2 아드레날린성 수용체 부분이 키메라 수용체에서 함께 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 세포외 수용체 도메인은 CD8a 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 신호 펩티드는 SEQ ID NO. 4의 핵산 서열을 포함한다. 구현예에 따라, 다른 신호 펩티드가 선택적으로 사용된다. 일부 구현예에 따라, 신호 펩티드가 다량체 포맷으로 사용될 수 있다.

[0029] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 하나 이상의 헤미-ITAM 서열을 포함한다. 일부 이러한 구현예에서, 헤미-ITAM은 아미노산 모티프 DGYXXL(여기서, X는 임의의 아미노산임; SEQ ID NO: 14)을 포함한다. 일부 구현예에서, 다중의 헤미-ITAM이 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 헤미-ITAM은 NKp80을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 하나 이상의 ITSM 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, ITSM 서열은 헤미-ITAM 모티프와 함께 사용된다. 몇몇의 구현예에서, ITSM은 아미노산 모티프 S/TXYXXL/I(여기서, X는 임의의 아미노산임; SEQ ID NO. 15)를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터는 2B4 도메인을 포함한다.

[0030] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 2B4에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 베타-아드레날린성 세포외 도메인, 베타-아드레날린성 막횡단 도메인, 4-1BB 및 2B4에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, 2B4, GS3 링커 및 NKp80에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, GS3 링커 및 NKp80에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, 베타-아드레날린성 세포외 도메인, 베타-아드레날린성 막횡단 도메인, 4-1BB, 추가의 GS3 링커 및 NKp80에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, 상기 단편은 코돈 최적화된 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, 추가의 GS3 링커 및 NKp80에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인, 4-1BB 및 2B4에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인, 4-1BB, GS3 링커 및 NKp80에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지 및 CD8a 막횡단 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터는 4-1BB를 포함한다. 일부 이러한 구현예에서, 이펙터는 선택적으로 NKp80, 2B4, CD3제타, Dap10, Dap12, CD28 또는 본원에 제공되는 다른 신호전달 도메인 중 하나 이상과 함께 4-1BB를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 CD3제타를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 2B4의 세포내 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 DAP10의 세포내 도메인을 추가로 포함한다.

[0031] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, 2B4 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 58의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 59의 아미노산 서열을 포함한다.

[0032] 또한, 본원에 개시된 키메라 수용체 중 임의의 것은 또한 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)와 동시-발현될 수 있다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서 세포외 수용체 도메인으로서, 세포외 수용체 도메인이 NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드가 NKG2D의 단편인 세포외 수용체 도메인, 막횡단 영역, 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 폴리뉴

클레오티드는 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)를 인코딩하는 추가의 작제물과 동시-발현된다. 몇몇의 구현예에서, 본원에 논의된 바와 같은 키메라 수용체는 mbIL-15와 동시-발현된다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB 및 CD3 제타를 포함하며, 막횡단 영역은 CD8a를 포함한다.

[0033] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 그들이 DNAX-활성화 단백질 10(DAP10)을 포함하지 않도록 엔지니어링된다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 그들이 ITAM 모티프를 포함하지 않도록 엔지니어링된다.

[0034] 몇몇의 구현예에서, (a) NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, (b) 막횡단 영역으로서, 막횡단 영역이 CD8a를 포함하는 막횡단 영역, 및 (c) 이펙터 도메인으로서, 이펙터 도메인이 4-1BB, 및 2B4 또는 DAP10의 세포내 도메인을 포함하는 이펙터 도메인 중 하나, 둘 또는 전부를 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 2B4에 이어서 4-1BB를 포함한다. 추가의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB에 이어서 2B4를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 DAP10에 이어서 4-1BB를 포함한다. 추가의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB에 이어서 DAP10을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 DAP10에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 60의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 61의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, 2B4 및 DAP10에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB에 이어서 DAP10에 이어서 2B4를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 62의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 63의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB에 이어서 2B4에 이어서 DAP10을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 64의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 65의 아미노산 서열을 포함한다.

[0035] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 세포내 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 코돈-최적화된 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 다수의 NKG2D의 단편이 사용되며, 예를 들어, (선택적으로 코돈 최적화된) 추가의 NKG2D 단편이 예를 들어, GS3 링커에 의해 제1 단편에 커플링된다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 CD3제타를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 66의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 67의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)를 인코딩하는 추가의 작제물과 동시-발현된다.

[0036] 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하며, SEQ ID NO: 1의 단편에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, CD3제타 막횡단 영역을 포함하는 막횡단 영역, 및 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하며, SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, CD3제타 막횡단 영역을 포함하는 막횡단 영역, 및 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하며, SEQ ID NO. 3에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, CD3제타 막횡단 영역을 포함하는 막횡단 영역, 및 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하며, SEQ ID NO. 68에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, CD3제타 막횡단 영역을 포함하는 막횡단 영역, 및 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, SEQ ID NO. 2, 3 또는 68 중 임의의 것에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편도 또한 사용될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 영역은 SEQ ID NO: 69의 아미노산 서열을 포함한다. SEQ ID NO: 69의 서열의 단편도 또한 사용되며, 몇몇의 구현예에서, 단편은 고유 CD3 제타 서브유닛(이량체 포함)의 신호 전달의 적어도 약 65%, 약 75%, 약 85% 또는 약 95%를 전달하는 능력을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD3제타 막횡단 영역에 인접한 추가의 잔기를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 추가의 아미노산은 고유 CD3제타 서열의 세포의 잔기이다. 다른 구현예에서, 추가의 아미노산은 무작위로 선택된다. 몇몇의 구현예에서, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 15 또는 20개의 추가의 아미노산이 존재한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체 도메인은 힌지 영역을 포함하며, 이는 몇몇의 구현예에서, SEQ ID NO: 5의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 CD8a 힌지이다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 5의 핵산 서열의 단편에 의해 인코딩되는 CD8a 힌지이다. 구현예에 따라, 단편은 SEQ ID NO: 5의 핵산 서열의 길이의 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%이다. 구현예에 따라, 단편은 SEQ ID NO: 5의 핵산 서열과 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 98% 또는 약 99% 상동성이다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD8a 신호 펩티드를 추가로

포함하며, 이는 구현예에 따라, SEQ ID NO. 4의 핵산 서열을 포함할 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 CD16 세포내 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB 및 CD16(어느 하나의 모이어티는 작제물에서 "제1" 대 "제2"임)을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 4-1BB 및/또는 CD16 중 하나 이상의 반복부가 사용된다.

- [0037] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 코돈 최적화되고, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 78의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 79의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0038] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16에 이어서 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 71의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 70의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0039] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 코돈 최적화되고, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB에 이어서 CD16을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링되는 NKG2D의 단편을 포함하며, 선택적으로 GS3 링커에 의해 커플링된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 84의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0040] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 코돈 최적화되고, GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16 및 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 72의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 73의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0041] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 NKp80을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 NKp80이다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16, 4-1BB 및 NKp80을 포함하고, 선택적으로 GS3 링커를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링되는 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 74의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 코돈 최적화되고, GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편(선택적으로 코돈 최적화됨), CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16, 4-1BB 및 NKp80을 포함하고, 선택적으로 GS3 링커를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링되는 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 76의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 코돈 최적화되고, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 NKp80을 포함하고, 선택적으로 GS3 링커를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링되는 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 82의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 83의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0042] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 CD3제타를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 코돈 최적화되고, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 CD3제타를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링되는 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 80의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 81의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0043] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 FcR γ 를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 FcR γ 를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 86의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0044] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 CD28을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD28 및 CD3제타를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 102의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 103의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0045] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 GS 링커를 포함한다.
- [0046] 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드는 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)와 동시-발현된다.
- [0047] 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합할 수 있으며, SEQ ID NO: 1의, SEQ ID NO. 2의, SEQ ID NO. 3

의 또는 SEQ ID NO. 68의 서열 중 임의의 것의 단편에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합할 수 있으며, (i) SEQ ID NO: 1의 서열의 단편, (ii) SEQ ID NO. 2의 서열, (iii) SEQ ID NO. 3의 서열, 또는 (iv) SEQ ID NO. 68의 서열에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합할 수 있으며, SEQ ID NO. 2의 서열에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합할 수 있으며, SEQ ID NO. 3의 서열에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합할 수 있으며, SEQ ID NO. 68의 서열의 단편에 의해 인코딩되는 NKG2D의 단편을 포함하는 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 힌지 영역을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 5의 핵산 서열 또는 선택적으로 SEQ ID NO: 5의 핵산 서열의 단편(예를 들어, SEQ ID NO: 5와 약 75%, 약 85%, 약 95% 상동성을 갖는 단편)에 의해 인코딩되는 CD8a 힌지이다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 104의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 면역글로불린 G4(IgG4) 힌지이다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 104의 핵산 서열의 단편(예를 들어, SEQ ID NO: 104와 약 75%, 약 85%, 약 95% 상동성을 갖는 단편)에 의해 인코딩되는 면역글로불린 G4(IgG4) 힌지이다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD8a 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 신호 펩티드는 SEQ ID NO. 4의 핵산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 OX40(CD134), CD3제타, 4-1BB, CD28 및 DAP12로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 신호전달 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체 막횡단 도메인은 CD8 막횡단 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 CD3z에 커플링된 NKG2D의 단편에 (선택적으로 GS3 링커에 의해) 연결된 IL-15를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 88의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 89의 아미노산 서열을 포함한다.

[0048] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 IgG4 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 96의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 97의 아미노산 서열을 포함한다.

[0049] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 OX40을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, OX40 및 CD3z에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 90의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 109의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 IgG4 힌지, CD8a 막횡단 도메인, OX40 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 100의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 101의 아미노산 서열을 포함한다.

[0050] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD28 막횡단/세포내 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 92의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함한다.

[0051] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인, 4-1BB 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 94의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 95의 아미노산 서열을 포함한다.

[0052] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 IgG4 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 98의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 99의 아미노산 서열을 포함한다.

[0053] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 GS 링커를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드는 (동일한 폴리뉴클레오티드 또는 또 다른 폴리뉴클레오티드 상에서) 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)와 동시-

발현되도록 구성된다.

- [0054] 카메라 수용체 중 임의의 것은 NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 제2 펩티드를 포함하는 세포의 수용체 도메인을 선택적으로 포함할 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 제2 펩티드는 NKG2D와 상동성인 한편, 다른 구현예에서, 제2 펩티드는 NKG2D에 대하여 이종이다. 카메라 수용체가 이량체화 세포의 수용체 도메인을 포함하든지, 세포의 수용체 도메인은 적어도 하기의 NKG2D의 고유 리간드를 인식할 수 있다: MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, ULBP3, ULBP4, ULBP5 또는 ULBP6.
- [0055] 하기에 더욱 상세히 논의된 바와 같이, 몇몇의 구현예에서 NKG2D 리간드 결합 도메인의 기능적 변이체가 사용된다. 예를 들어, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 몇몇의 구현예에서 SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 68과 적어도 80% 상동성을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 또는 SEQ ID NO: 68과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 갖는다.
- [0056] 또한, 몇몇의 구현예에서 카메라 수용체를 발현하는 벡터가 본원에 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 본원에 제공되는 폴리뉴클레오티드는 mRNA이며, 카메라 수용체의 발현을 위하여 적어도 하나의 조절 요소로의 작동 가능한 연결을 포함할 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 내부 리보솜 진입 부위(IRES)를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 벡터는 레트로바이러스이다.
- [0057] 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 카메라 수용체 작제물 중 임의의 것을 발현하는 엔지니어링된 자연 살해 세포도 또한 제공되며, 엔지니어링된 NK 세포는 표적 세포에 대하여 향상된 세포독성 효과를 나타낸다. 향상된 세포독성 효과는 정상(예를 들어, 비-암성) 세포에 비하여 표적(예를 들어, 암성) 세포에 대하여 더 큰 친화성, 표적 세포에 대하여 유도되는 더 큰 사멸 효과, 감소된 표적-외 효과, 증가된 세포독성 효과의 기간, 더욱 효율적인 세포독성 등을 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 이러한 향상된 효과는 다양한 시험관 내 세포독성 검정(예를 들어, 사이토카인 생성의 측정 등)의 이용, 표적 세포사의 측정을 통해 또는 다양한 임상적 결과(예를 들어, 종양 크기의 감소)를 통해 확인될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 엔지니어링된 NK 세포는 환자로부터 단리된 자가 세포이다. 추가의 구현예에서, 엔지니어링된 NK 세포는 공여자로부터 단리된 동종이계 세포로부터 생성된다. 본원에 개시된 바와 같은 이러한 엔지니어링된 NK 세포는 몇몇의 구현예에서, NK 세포를 투여함으로써 NK 세포 세포독성의 향상을 필요로 하는 포유동물에서 NK 세포 세포독성을 향상시키기 위하여 사용된다. 이들 엔지니어링된 NK 세포는 몇몇의 구현예에서, 포유동물에서 암 또는 감염성 질환을 치료하거나 예방하기 위하여 사용된다. 또한, 본원에 개시된 다양한 카메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드, 이를 보유하는 벡터, 및 이를 발현하는 NK 세포는 몇몇의 구현예에서 NK 세포 세포독성을 향상시키기 위한(예를 들어, 암 또는 감염성 질환을 치료하거나 예방하기 위한) 약제의 제조에서 사용될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 카메라 수용체 작제물은 정상 세포에 대한 엔지니어링된 NK 세포의 세포독성을 유의미하게 증가시키지 않으며, 본원에 기재된 바와 같이, 비-엔지니어링된 NK 세포에 비하여 유리하게 개선된다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인, 막횡단 영역 및 이펙터 도메인을 포함하는 카메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 NKG2D의 단편이다. 몇몇의 구현예는 (a) 세포의 수용체 도메인으로서, 상기 세포의 수용체 도메인이 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드가 NKG2D의 단편이며, NKG2D의 단편이 (i) SEQ ID NO: 1의 서열의 단편, (ii) SEQ ID NO. 2의 서열, (iii) SEQ ID NO. 3의 서열, 또는 (iv) SEQ ID NO. 68의 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 세포의 수용체 도메인, (b) 막횡단 영역 및 (c) 이펙터 도메인을 포함하는 카메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- [0058] 몇몇의 구현예에서, (a) 세포의 수용체 도메인으로서, 상기 세포의 수용체 도메인이 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드가 NKG2D의 단편이며, NKG2D의 단편이 (i) SEQ ID NO: 1의 서열의 단편, (ii) SEQ ID NO. 2의 서열, (iii) SEQ ID NO. 3의 서열, (iv) 또는 SEQ ID NO. 68의 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 세포의 수용체 도메인, (b) 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 카메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다.
- [0059] 몇몇의 구현예에서, 막횡단 영역은 CD3제타 막횡단 영역을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 영역은 SEQ ID NO: 69의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 막횡단 영역은 CD8a를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB, 2B4의 세포내 도메인, NKp80, CD16 세포내 도메인, 자연 세포독성 촉발 수용

체 1(NCR1), 자연 세포독성 촉발 수용체 2(NCR2), 자연 세포독성 촉발 수용체 3(NCR3) 및/또는 DAP10의 세포내 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB 및 CD16을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB 및 CD3 제타를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB, 및 2B4 또는 DAP10의 세포내 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 2B4에 이어서 4-1BB를 포함하는 한편, 다른 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB에 이어서 2B4를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 DAP10에 이어서 4-1BB를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB에 이어서 DAP10을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 CD3제타를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 OX40(CD134), CD3제타, 4-1BB, CD28 및 DAP12로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 신호전달 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 하나 이상의 헤미-ITAM 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 헤미-ITAM은 SEQ ID NO. 14의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 헤미-ITAM은 SEQ ID NO. 37의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 하나 이상의 ITSM 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, ITSM은 SEQ ID NO. 15의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO. 35의 아미노산 서열을 포함한다.

[0060] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, 2B4 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 58의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 59의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 DAP10에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 60의 핵산 서열에 의해 인코딩되며, SEQ ID NO: 61의 아미노산 서열을 포함한다.

[0061] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, 2B4 및 DAP10에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB에 이어서 DAP10에 이어서 2B4를 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 62의 핵산 서열에 의해 인코딩되며, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 63의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 4-1BB에 이어서 2B4에 이어서 DAP10을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 64의 핵산 서열에 의해 인코딩되며, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 65의 아미노산 서열을 포함한다.

[0062] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 CD3제타에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 66의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 67의 아미노산 서열을 포함한다.

[0063] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 78의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 79의 아미노산 서열을 포함한다.

[0064] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16에 이어서 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 70의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 71의 아미노산 서열을 포함한다.

[0065] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB에 이어서 GS3 링커 및 CD16을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열을 포함하고/포함하거나 SEQ ID NO: 84의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0066] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16 및 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 72의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 73의 아미노산 서열을 포함한다.

[0067] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편에 GS3 링커에 의해 연결된 IL-15를 포함하며, SEQ ID NO: 88의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 89의 아미노산 서열을 포함한다.

[0068] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 IgG4 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 96의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 97의 아미노산 서열을 포함한다.

[0069] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, OX40 및 CD3z에 커플링된 NKG2D의 단편을

포함하며, SEQ ID NO: 90의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0070] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 IgG4 힌지, CD8a 막횡단 도메인, OX40 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 100의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 101의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0071] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 92의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0072] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인, 4-1BB 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 94의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 95의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0073] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 IgG4 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인 및 CD3제타에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 98의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 99의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0074] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16, 4-1BB, GS3 링커 및 Nkp80을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 74의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0075] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16, 4-1BB, GS3 링커 및 Nkp80을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 76의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB, GS3 링커 및 Nkp80을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 82의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 83의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0076] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 CD3제타를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 80의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 81의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0077] 구현예에 따라, 이펙터 도메인은 또한 FcR γ 를 포함할 수 있다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 FcR γ 를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 86의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0078] 구현예에 따라, 이펙터 도메인은 또한 CD28을 포함할 수 있다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD28 및 CD3제타를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 102의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 103의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0079] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 GS 링커를 포함한다.
- [0080] 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD8a 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 신호 펩티드는 SEQ ID NO. 4의 핵산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD3제타 막횡단 영역에 바로 인접한 CD3제타의 2개의 세포의 잔기를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD8a 신호 펩티드를 포함하며, 신호 펩티드는 SEQ ID NO. 4의 핵산 서열을 포함한다.
- [0081] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 하나 이상의 GS3 링커를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체 도메인은 힌지 영역을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 5의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 한편, 일부 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 5의 핵산 서열의 단편에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 CD8a 힌지이다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 31의 아미노산 서열을 갖는 글리신-세린 반복 모티프를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열을 포함하며, 일부 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 33의 아미노산 서열을 포함한다. 추가의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID

NO: 34의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 베타-아드레날린성 수용체의 일부를 포함한다. 일부 이러한 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 40의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 추가의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 42의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 104의 핵산 서열에 의해 인코딩되는 면역글로불린 G4(IgG4) 힌지이다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 104의 핵산 서열의 단편에 의해 인코딩되는 면역글로불린 G4(IgG4) 힌지이다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지 및 CD8a 막횡단 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다.

- [0082] 일 구현예에서, 키메라 수용체는 CD16에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 23의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 NCR1에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일부 이러한 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 27의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 21의 아미노산 서열의 적어도 일부를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 NCR3에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, 몇몇의 구현예에서, SEQ ID NO. 29의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO. 30의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0083] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 25의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO: 26의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0084] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 NCR1 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 20의 NCR1 아미노산 서열을 포함한다.
- [0085] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a, 4-1BB 및 CD3z에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO. 18의 핵산 서열에 의해 인코딩되고/인코딩되거나 SEQ ID NO. 19의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0086] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 NCR3 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, NCR3은 SEQ ID NO: 22의 아미노산 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 20의 NCR1 막횡단/세포내 도메인 또는 SEQ ID NO: 22의 NCR3 막횡단/세포내 도메인 중 하나 이상을 포함한다.
- [0087] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 43의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 44의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0088] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD16 막횡단/세포내 도메인 및 4-1BB에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 45의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0089] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 및 2B4에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 46의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0090] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 베타-아드레날린성 세포외 도메인, 베타-아드레날린성 막횡단 도메인, 4-1BB 및 2B4에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 47의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0091] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, 2B4, GS3 링커 및 Nkp80에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 48의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0092] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, GS3 링커 및 Nkp80에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 49의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0093] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, 베타-아드레날린성 세포외 도메인, 베타-아드레날린성 막횡단 도메인, 4-1BB, 추가의 GS3 링커 및 Nkp80에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 50의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0094] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB, 추가의 GS3 링커 및 Nkp80에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 51의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0095] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인 및

4-1BB에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 52의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

- [0096] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인, 4-1BB 및 2B4에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 53의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0097] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD16 막횡단/세포내 도메인, 4-1BB, GS3 링커 및 Nkp80에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하며, SEQ ID NO: 54의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0098] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체 자체물은 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되며, 세포의 수용체 도메인은 NKG2D의 고유 리간드(예를 들어, MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, ULBP3, ULBP4, ULBP5 또는 ULBP6 중 하나 이상)에 결합하는 제2 펩티드를 포함한다. 구현예에 따라, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드는 SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 또는 SEQ ID NO. 3과 적어도 80% 상동성을 갖는다.
- [0099] 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)를 인코딩하는 추가의 자체물과 동시-발현된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 18의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0100] 몇몇의 구현예에 따라, 키메라 수용체는 DNAX-활성화 단백질 10(DAP10)을 포함하지 않고/않거나 키메라 수용체는 면역수용체 티로신-기반 활성화(ITAM) 모티프를 인코딩하지 않는다.
- [0101] 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드는 mRNA이다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드는 키메라 수용체의 발현을 위하여 적어도 하나의 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다.
- [0102] 또한, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 본원에 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 키메라 수용체의 발현을 위하여 적어도 하나의 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다. 몇몇의 구현예에서, 벡터는 레트로바이러스이다.
- [0103] 또한, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드 중 임의의 하나 이상을 포함하는 유전학적으로 엔지니어링된 자연 살해 세포가 본원에 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 자연 살해 세포는 자가 이용을 위한 것인 한편, 일부 구현예에서, 그들은 동종이계 이용을 위한 것이다.
- [0104] 또한, NK 세포를 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는 NK 세포 세포독성의 향상을 필요로 하는 포유동물에서의 NK 세포 세포독성의 향상 방법이 본원에 제공되며, 상기 NK 세포는 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 키메라 수용체를 발현한다.
- [0105] 또한, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 포유동물에서의 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방 방법이 제공되며, 상기 방법은 치료적 유효량의 NK 세포를 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 NK 세포는 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 키메라 수용체를 발현한다. 상기 개시된 바와 같이, NK 세포는 동종이계 또는 자가일 수 있다.
- [0106] NK 세포 세포독성의 향상을 필요로 하는 포유동물에서 NK 세포 세포독성을 향상시키기 위한 약제의 제조에서의 본원에 개시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드의 용도가 제공된다. 추가로, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 포유동물에서 암 또는 감염성 질환을 치료하거나 예방하기 위한 약제의 제조에서의 폴리뉴클레오티드의 용도가 제공된다.
- [0107] 또한, NK 세포 세포독성의 향상을 필요로 하는 포유동물에서 NK 세포 세포독성을 향상시키기 위한 약제의 제조에서의 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터의 용도가 제공된다. 또한, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 포유동물에서 암 또는 감염성 질환을 치료하거나 예방하기 위한 약제의 제조에서의 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터의 용도가 제공된다.
- [0108] 또한, NK 세포 세포독성의 향상을 필요로 하는 포유동물에서 NK 세포 세포독성을 향상시키기 위한 본원에 개시된 바와 같은 키메라 수용체를 발현하는 단리된 유전학적으로 엔지니어링된 자연 살해 세포의 용도가 제공된다. 또한, 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 포유동물에서 암 또는 감염성 질환을 치료하거나 예방하기 위한 본원에 개시된 바와 같은 키메라 수용체를 발현하는 단리된 유전학적으로 엔지니어링된 자연 살해 세포의 용도가 제공된다.
- [0109] 상기 요약되고, 하기에 더욱 상세히 기재된 조성물 및 관련 방법은 실행자가 취하는 특정 행동을 기술하지만; 그들이 또 다른 관계자에 의한 이러한 행동의 지시를 또한 포함할 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 따라서, "키메라 수용체를 발현하는 NK 세포의 집단을 투여하는 것"과 같은 행동은 "키메라 수용체를 발현하는 NK 세포의

집단의 투여를 지시하는 것"을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0110]

하기의 도면의 설명은 본원에 개시된 본 발명의 비-제한적인 구현예를 나타내는 실험 및 결과에 관한 것이다.

도 1a 내지 도 1c는 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따른 키메라 수용체의 개략도를 도시한 것이다. 도 1a는 내인성 NKG2D를 도시한 것이며, 도 1b는 NKG2D-DAP10-CD3 ζ를 도시한 것이며, 도 1c는 NKG2D-41BB-CD3 ζ를 도시한 것이다.

도 2a 및 도 2b는 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따른 키메라 수용체의 개략도를 도시한 것이다. 도 2a는 NKG2D-CD16을 도시한 것이며, 도 2b는 NKG2D-CD16-41BB를 도시한 것이다.

도 3a 및 도 3b는 몇몇의 구현예에 따른 특정 작제물의 플라스미드 내로의 삽입점을 예시한 플라스미드 맵을 도시한 것이며, 예시된 것은 뮤린 줄기 세포 바이러스(MSCV) 플라스미드이다. 도 3a는 벡터 내의 IRES-GFP 서열의 제거와 함께, EcoRI 및 NotI 제한 부위 내로 삽입된 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 및 NKG2D-41BB-CD3 ζ에 대한 유전자 작제물을 보여준다. 도 3b는 다중 클로닝 부위(MCS)에 위치한 EcoRI 및 XhoI 제한 부위 내로 삽입된 NKG2D-CD16 및 NKG2D-CD16-41BB에 대한 플라스미드를 도시한 것이다. 벡터 내의 IRES-GFP 서열은 형질도입 효율의 추적을 가능하게 한다.

도 4a 내지 도 4c는 NK 세포에서의 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 및 NKG2D-41BB-CD3 ζ의 발현에 관한 데이터를 도시한 것이다. 도 4a는 형질도입 후의 NKG2D-양성 NK 세포의 백분율을 예시한 유세포분석 데이터를 보여준다. 도 4b는 NKG2D-양성 NK 세포의 백분율을 요약한 점 플롯을 보여준다. 도 4c는 형질도입 후의 상이한 NK 세포의 군에서의 평균 형광 세기(MFI)와 관련된 데이터를 보여준다.

도 5A 내지 도 5C는 배양된 REH 세포에 대한, 공여자 1, 공여자 2 및 공여자 3(각각 도 5A, 도 5B 및 도 5C)으로부터의 NK 세포로부터 생성된 다양한 작제물의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다.

도 6A 내지 도 6C는 배양된 U-2 OS 세포에 대한, 공여자 1, 공여자 2 및 공여자 3(각각 도 6A, 도 6B 및 도 6C)으로부터의 NK 세포로부터 생성된 다양한 작제물의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다.

도 7a 및 도 7b는 REH 세포로의 자극의 존재 및 부재 하에서 다양한 NKG2D 작제물을 발현하는 NK 세포에 의한 인터페론-감마의 생성과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 도 7a는 REH 세포에 의한 자극과 함께 또는 이것 없이, 상이한 NK 세포의 군에서의 상대적인 IFN γ의 양을 도시한 것이다. 도 7b는 자극 이후의 상이한 NK 세포의 군 간의 IFN γ의 수준을 도시한 것이다(중간값이 나타나 있음).

도 8a 내지 도 8c는 NK 세포에서의 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 및 NKG2D-CD16의 발현과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 도 8a는 형질도입 후의 NKG2D-양성 NK 세포의 백분율을 예시한 유세포분석 데이터를 보여준다. 도 8b는 NKG2D-양성 NK 세포의 백분율을 요약한 점 플롯을 보여준다. 도 8c는 형질도입 후의 상이한 NK 세포의 군에서의 평균 형광 세기(MFI)와 관련된 데이터를 보여준다.

도 9A 내지 도 9C는 배양된 REH 세포에 대한, 3명의 공여자(각각 도 9A, 도 9B 및 도 9C)로부터의 NK 세포로부터 생성된 다양한 작제물의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다.

도 10A 내지 도 10C는 배양된 U-2 OS 세포에 대한, 3명의 공여자(각각 도 10A, 도 10B 및 도 10C)로부터의 NK 세포로부터 생성된 다양한 작제물의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다.

도 11은 REH 세포로의 자극의 존재 및 부재 하에서 다양한 NKG2D 작제물을 발현하는 NK 세포에 의한 인터페론-감마의 생성과 관련된 데이터를 도시한 것이다.

도 12a 및 도 12b는 NK 세포에서의 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 및 NKG2D-CD16-41BB의 발현과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 도 12a는 형질도입 후의 NKG2D-양성 NK 세포의 백분율을 예시하는 유세포분석 데이터를 보여준다. 도 12b는 NK 세포 상의 다양한 작제물의 표면 발현의 상대적인 양과 관련된 히스토그램을 보여준다.

도 13A 및 도 13B는 다양한 NKG2d 작제물의 세포독성의 정도와 관련된 데이터를 도시한 것이다. 도 13A는 배양된 REH 세포에 대한 세포독성의 정도를 도시한 것이다. 도 13B는 배양된 U2OS 세포에 대한 세포독성의 정도를 도시한 것이다.

도 14는 본원에 개시된 일부 구현예에 따른 몇몇의 NKG2D 작제물의 작제물 맵을 개략적으로 도시한 것이다.

도 15는 본원에 개시된 일부 구현예에 따른 추가의 NKG2D 작제물의 작제물 맵을 개략적으로 도시한 것이다.

도 16a 내지 도 16c는 NK 세포에서의 다양한 NKG2D 작제물의 발현과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 도 16a는 NK 세포에서의 다양한 NKG2D 작제물의 평균 형광 세기(MFI)와 관련된 데이터를 보여준다. 도 16b는 2명의 공여자(505 및 870)의 NK 세포 내로의 다양한 NKG2D 작제물의 형질도입 후의 NKG2D-양성 및 CD56-양성 NK 세포의 백분율을 예시한 유세포분석 데이터를 보여준다. 도 16c는 형질도입 7일 후의 2명의 공여자로부터의 NK 세포에서의 평균 형광 세기(MFI)와 관련된 데이터를 보여준다.

도 17은 1:1 E:T 비에서 NK 세포 내로의 형질도입 14일 후의 다양한 NKG2D 작제물의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다.

도 18a 및 도 18b는 NK 세포 내로의 형질도입 후의 다양한 NKG2D 작제물의 발현과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 도 18a는 형질도입 7일 후의 NK 세포에서의 평균 형광 세기(MFI)와 관련된 데이터를 보여준다. 도 18b는 모의-형질도입된 NK 세포에 비한 다양한 NKG2D 작제물의 MFI의 배수-변화와 관련된 데이터를 보여준다.

도 19a 및 도 19b는 다양한 NKG2D 작제물의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 도 19a는 1:1 E:T 비에서 NK 세포 내로 형질도입된 다양한 NKG2D 작제물의 세포독성과 관련된 데이터를 보여준다. 도 19b는 모의-형질도입된 NK 세포에 비한 다양한 NKG2D 작제물의 세포독성의 변화 백분율과 관련된 데이터를 보여준다.

도 20은 1:1 E:T 비에서 NK 세포 내로의 형질도입 14일 후의 다양한 NKG2D 작제물의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 분석 이전에, NK 세포를 40 IU의 IL-2/ml이 보충된 배지에서 배양하였다.

도 21은 2시간 동안 1:1 및 1:2 E:T 비에서 공여자 238 NK 세포(2일마다 40 IU의 IL-2/ml이 보충된 배지에서의 4일의 배양)내로의 형질도입 10일 후의 다양한 NKG2D 작제물의, 배양된 REH 세포에 대한 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다.

도 22는 본원에 개시된 구현예에 따른 추가의 NKG2D 작제물의 작제물 맵을 개략적으로 도시한 것이다.

도 23a 내지 도 23b는 2명의 상이한 공여자(각각 도 23a 및 도 23b에서 공여자 61 및 공여자 103)로부터의 NK 세포로부터 생성된 다양한 NKG2D 작제물의 지속성과 관련된 데이터를 도시한 것이다. NK 세포를 40 IU의 IL-2/ml이 보충된 배지에서 배양하였다.

도 24는 다양한 NKG2D 작제물의 발현과 관련된 데이터를 도시한 것이다. NK 세포를 4명의 건강한 공여자(224, 225, 362 및 363)의 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 증량시키고, 표기된 작제물의 발현을 지시하는 바이러스로 형질도입하였다. 형질도입 3일 후에, NK 세포를 형광 표지된 항-NKG2D 항체로 염색하고, 유세포분석을 사용하여 분석하였다. 상대적 NKG2D 발현을 표지된 세포의 평균 형광 세기(MFI)에 의해 평가하였다.

도 25a 및 도 25b는 다양한 NKG2D 작제물로 형질도입된 NK 세포의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다. NK 세포를 4명의 공여자의 PBMC로부터 증량시키고; 형질도입 8일 후에, 배양된 REH 및 HL60 세포(각각 도 25a 및 도 25b)에 대한 NK 세포독성을 1:1 E:T 비에서 측정하였다. 분석 전에 NK 세포를 40 IU의 IL-2/ml이 보충된 배지에서 배양하였다.

도 26a 내지 도 26c는 REH 종양 세포로의 하룻밤 자극 이후의 다양한 NKG2D 작제물을 발현하는 NK 세포에 의한 인터페론-감마(IFN γ), 종양 괴사 인자-알파(TNF α) 및 과립구-대식구 콜로니-자극 인자(GM-CSF)의 생성과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 표기된 작제물로의 형질도입 8일 후에, 1×10^5 개의 NK 세포를 96-웰 둥근 바닥 플레이트의 개별 웰에서 1×10^5 개의 REH 세포로 자극하였으며; 하룻밤 인큐베이션 후에, 상층액을 수거하고, 메소 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery) 디바이스를 사용하여 관련 표준물질에 대하여 사이토카인 수준을 측정하였다. 도 26a는 IFN γ 의 누적된 수준을 도시한 것이며, 도 26b는 TNF α 의 수준을 도시한 것이며, 도 26c는 자극 후의 상이한 NK 세포의 군에서의 GM-CSF의 수준을 도시한 것이다. 분석 이전에, NK 세포를 40 IU의 IL-2/ml이 보충된 배지에서 배양하였다.

도 27a 및 도 27b는 형질도입 7, 14 및 21일 후의 다양한 NKG2D 작제물을 발현하는 2명의 공여자(각각 도 27a 및 도 27b에서 공여자 224 및 225)로부터의 NK 세포의 지속성과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 분석 이전에, NK 세포를 40 IU의 IL-2/ml이 보충된 배지에서 배양하였다.

도 28a 및 도 28b는 표기된 NKG2D 작제물이 형질도입된 NK 세포의 세포독성과 관련된 데이터를 도시한 것이다. 적색 형광 단백질을 발현하도록 안정적으로 형질도입된 U2OS 세포에 대하여 NK 세포독성을 측정하였으며; U2OS

세포를 1:4 및 1:2 E:T 비(각각 도 28a 및 도 28b)로 NK 세포와 함께 배양하였다. 살아 있는 U2OS 세포를 인큐사이트(Incucyte) S3 생-세포 분석 시스템을 사용하여 72시간 동안 60분마다 계수하였다. 분석 이전에, NK 세포를 40 IU의 IL-2/ml이 보충된 배지에서 배양하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0111] 일반

[0112] 많은 질환의 기초가 되는 비정상 세포(바이러스 감염 및 악성 세포 포함)의 출현 및 지속은 상기 비정상 세포에 대한 불충분한 면역 반응에 의해 가능하게 된다. 면역요법의 목표는 환자의 면역계의 반응을 개시하거나 보강하는 것, 예를 들어, 손상되거나 이화된 세포를 손상시키거나, 사멸시키거나 또는 다르게는 억제하기 위한 면역 세포, 예컨대 자연 살해(NK) 세포의 능력을 증가시키는 것이다. 하나의 면역요법 접근법은 비정상 세포의 표적화된 인식 및 파괴를 위한 면역 세포에서의 키메라 수용체의 재조합 발현이다. 일반적으로, 키메라 수용체는 표적 세포 상의 리간드를 인식하는 세포의 수용체 도메인, 앵커링(anchoring) 막횡단 도메인 및 리간드 결합 시에 활성화 신호를 전달하는 이펙터 도메인을 포함한다. 본원에 개시된 일부 구현에는 상기 일반적인 구조를 갖거나 또는 상기 일반적인 구조의 변형을 갖는 키메라 수용체를 사용한다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인 및 이펙터 도메인은 함께 융합된 개별 펩티드이다. 몇몇의 다른 구현예에서, 막횡단 및 이펙터 도메인은 동일한 펩티드로부터 유래된다. 일부 이러한 구현예에서, 막횡단 및 이펙터 도메인은 단일의 펩티드(예를 들어, 막을 통과하고 신호전달 캐스케이드를 개시하도록 구성되는 하나의 펩티드)를 포함한다. 하기에 더욱 상세히 논의되는 바와 같이, 절단, 돌연변이, 추가의 링커/스페이서 요소, 이량체 등은 면역 세포(예를 들어, NK 세포)에서 원하는 발현 정도를 나타내며, 비-표적 세포에 대한 유해 효과를 회피하는 표적 결합력의 정도와 균형을 이루는, NK 세포로부터 세포독성 활성을 유도하는 키메라 수용체 작제물을 생성하는데 사용된다. 면역 세포의 표면 상의 본원에 개시된 바와 같은 키메라 수용체의 재조합 발현은 관심 비정상 세포로의 면역 세포의 표적화를 재유도할 뿐 아니라, 결합 시에 면역 활성화를 증가시킬 수 있다.

[0113] 면역요법을 위한 NK 세포

[0114] 하나의 면역요법 접근법은 키메라 수용체를 발현하도록 엔지니어링된 T 세포를 환자에게 투여하여, 양성 면역 반응을 유도하는 것을 수반한다. 그러나, 이러한 접근법의 단점은 그것이 환자에서 이식편대숙주병의 유도를 예방하기 위하여 자가 세포의 이용을 필요로 한다는 점이다. 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 제공되는 바와 같이, 엔지니어링된 NK 세포를 포함하는 조성물은 몇몇의 이점을 지닌다. 예를 들어, 자가 또는 공여자-유래 동종이계 세포 중 어느 하나가 NK 세포 접근법에서 사용될 수 있다. 또한, 몇몇의 구현예에 따라, 본원에 제공된 바와 같은 엔지니어링된 NK 세포는 정상 세포에 대하여 세포독성을 유의미하게 증가시키지 않는다. 또한, NK 세포는 일단 활성화되면, 유의미한 세포독성 효과를 갖는다. 이를 고려하여, 본원에 제공되는 바와 같은 엔지니어링된 NK 세포가 상기 세포독성 효과를 추가로 증진시켜, 이화된 표적 세포를 선택적으로 사멸시키는 훨씬 더 효율적인 수단을 제공하는 것은 예상치 못한 것이다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, 본원에 기재된 키메라 수용체를 발현하는, 치료적 유효량의 NK 세포를 투여하는 단계를 포함하는 암 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방 방법이 제공된다. 일 구현예에서, 투여되는 NK 세포는 자가 세포이다. 추가의 구현예에서, NK 세포는 공여자-유래(동종이계) 세포이다.

[0115] 몇몇의 구현예에서, (예를 들어, 표적 세포 상의 리간드로의 결합에 의한) 키메라 수용체를 발현하는 재조합 NK 세포의 결합 및 활성화는 세포용해에 의하여 스트레스 및/또는 비정상 세포(예를 들어, 종양 세포, 바이러스-감염 세포 등)의 직접적인 사멸을 야기한다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, 본원에 기재된 키메라 수용체를 발현하도록 엔지니어링된 NK 세포를 투여하는 단계를 포함하는 NK 세포 세포독성의 향상 방법이 제공된다. 일 구현예에서, 투여되는 NK 세포는 자가 세포이다. 추가의 구현예에서, NK 세포는 공여자-유래(동종이계) 세포이다. 몇몇의 구현예에서, 엔지니어링된 NK 세포는 스트레스 및/또는 비정상 세포(예를 들어, 종양 세포, 바이러스-감염 세포 등)의 간접적인 파괴 또는 억제를 야기한다.

[0116] 리간드 결합 도메인

[0117] 상기 언급된 바와 같이, 몇몇의 구현예에서 NK 세포는 종양 세포 및 바이러스-감염 세포를 포함하는 비정상 세포를 인식하고 파괴한다. 이들 선천 면역 세포의 세포독성 활성화는 각각 세포 표면 상에 존재하는 억제 및 활성화 수용체로부터의 신호전달의 균형에 의해 조절된다. 전자는 건강한 세포의 표면 상에 발현되는 자가-분자에 결합하는 한편, 후자는 비정상 세포 상에 발현되는 리간드에 결합한다. 억제 수용체에 비하여 증가된 활성화 수용체의 결합은 NK 세포 활성화 및 표적 세포 용해를 야기한다. 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)는 스트레스

및 비정상 세포 상에 발현되는 다수의 리간드를 인식하는 중요한 NK 세포 활성화 수용체이다. 다양한 NKG2D 리간드의 표면 발현은 건강한 세포에서는 일반적으로 낮지만, 악성 변환 또는 바이러스 감염 시에 상향조절된다. NKG2D에 의해 인식되는 리간드의 비-제한적인 예는 MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, ULBP3, ULBP4, ULBP5 및 ULBP6, 및 NK 세포의 세포용해 또는 세포독성 기능을 제어하는 표적 세포 상에 발현되는 다른 분자를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0118] 세포 스트레스 및 감염의 복수의 표면 마커를 인식하는 NKG2D의 능력은 그것을 키메라 수용체-기반의 면역요법 접근법의 잠재적으로 유용한 성분으로 만든다. 그러나, 키메라 수용체로서의 NKG2D의 이용을 복잡하게 하는 것은 파트너 DAP10과 그의 관계이다. NKG2D는 동종이량체를 형성하는 II형 막횡단 당단백질이며, DNAX-활성화 당단백질 10(DAP10)의 2개의 동종이량체와 어셈블되어, 막 표면 상에 육량체 복합체를 제공한다. 이러한 NKG2D-DAP10 회합은 내인성 NKG2D의 표면막 발현 및 리간드 결합 시의 활성화 신호의 전달 둘 모두에 필요하다. 몇몇의 구현예에서, 전장 NKG2D가 사용된다. 일 구현예에서, 전장 NKG2D는 SEQ ID NO. 1의 핵산 서열을 갖는다. 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따라, 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 세포의 수용체 도메인은 그의 고유 막횡단 또는 세포내 도메인이 결합되지만, 유리하게 NKG2D의 고유 리간드에 결합할 뿐 아니라, 리간드 결합시에 활성화 신호를 전달하는 그의 능력을 유지하는 NKG2D의 단편이다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 폴리펩티드에 의해 인코딩되는 키메라 수용체는 DAP10을 포함하지 않는다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D 단편은 SEQ ID NO. 2에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 단편은 전장 야생형 NKG2D와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성이다. 몇몇의 구현예에서, 단편은 SEQ ID NO. 2로부터 하나 이상의 추가의 돌연변이를 가질 수 있지만, 리간드-결합 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 리간드-결합 기능을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D 단편은 이량체, 삼량체 또는 다른 연쇄체 형식으로서 제공되며, 이러한 구현예는 향상된 리간드-결합 활성을 제공한다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D 단편을 인코딩하는 서열은 선택적으로 완전히 또는 부분적으로 코돈 최적화된다. 일 구현예에서, 코돈 최적화된 NKG2D 단편을 인코딩하는 서열은 SEQ ID NO. 3의 서열을 포함한다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 신호 펩티드가 사용된다. 신호 펩티드의 종 또는 서열은 작제물에 따라 달라질 수 있다. 그러나, 몇몇의 구현예에서, CD8로부터 유래된 신호 펩티드가 사용된다. 일 구현예에서, 신호 펩티드는 CD8a 유래이며, SEQ ID NO. 4의 서열을 갖는다. 일 구현예에서, 코돈 최적화된 NKG2D 단편을 인코딩하는 서열은 SEQ ID NO. 68의 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 단편은 SEQ ID NO. 68로부터 하나 이상의 추가의 돌연변이를 가질 수 있지만, 리간드-결합 기능을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 단편은 SEQ ID NO. 68로부터 하나 이상의 추가의 돌연변이를 가질 수 있지만, 개선된 리간드-결합 기능을 갖는다.

[0119] 막횡단, 신호전달 및 조합 도메인

[0120] 상기 언급된 바와 같이, 일반적인 키메라 항원 수용체 구조는 리간드 결합 도메인을 신호전달 도메인(들)에 연결하는 적어도 하나의 막횡단 도메인을 포함한다. 그러나, 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 신호전달 기능을 제공하는 역할을 할 수도 있다.

[0121] 몇몇의 구현예에서, NKG2D 단편은 그의 정상의 막횡단 도메인의 적어도 일부를 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 T 세포 및 NK 세포 둘 모두 상에서 정상적으로 발현되는 막횡단 당단백질인 CD8의 적어도 일부를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 CD8 α 를 포함하는 한편, 일부 구현예에서, CD8 β 가 사용된다. 몇몇의 구현예에서, CD8 α 의 "힌지"는 SEQ ID NO. 5의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, CD8 α 는 그것이 SEQ ID NO. 5의 서열을 갖는 CD8 α 와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD8 β 는 SEQ ID NO. 6의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, CD8 β 는 그것이 SEQ ID NO. 6의 서열을 갖는 CD8 β 와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD8 α 및 CD8 β 의 이량체가 사용된다.

[0122] 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 신호전달 도메인으로서도 역할을 하는 CD16을 포함한다. CD16은 2개의 아이소폼, a 및 b(각각 Fc 감마 수용체 IIIa 및 IIIb로도 알려져 있음)로 존재한다. 이들 수용체는 보통 IgG 항체의 Fc 부분에 결합하며, 이는 차례로 NK 세포를 활성화시킨다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 CD16a를 포함하는 한편, 일부 구현예에서, CD16b가 사용된다. 몇몇의 구현예에서, CD16a는 SEQ ID NO. 7의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, CD16a는 그것이 SEQ ID NO. 7의 서열을 갖는 CD16a와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD16b는 SEQ ID NO. 8의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, CD16b는 그것이 SEQ ID NO. 8의 서열을 갖는 CD16b와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단

되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD16a 및 CD16b의 이량체가 사용된다. 몇몇의 구현예에서, CD16 막횡단 도메인에 대한 변형은 도메인의 길이를 증가시키기 위한 추가의 핵산 잔기를 포함한다. 대안적으로, CD16은 단축될 수 있다. CD16의 길이에 대한 변형은 유리하게 향상된 리간드-수용체 상호작용을 용이하게 할 수 있다.

[0123] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 신호전달 도메인으로서도 역할을 하는 자연 살해 수용체 2B4 도메인(본원에서 "2B4"로도 지칭되며, CD244로도 알려져 있음)을 포함한다. 2B4는 NK 세포 상에 발현되며, 이러한 수용체와 표적 세포 상의 그의 리간드 간의 상호작용을 통하여 비-주요 조직적합성 복합체(MHC) 제한된 사멸을 조절한다. 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 2B4를 포함하는 한편, 몇몇의 구현예에서 2B4 도메인은 세포내 신호전달 도메인이다. 몇몇의 구현예에서, 2B4는 SEQ ID NO. 9의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, 2B4는 그것이 SEQ ID NO. 9의 서열을 갖는 2B4와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 2B4는 작제물에서 단독의 막횡단/신호전달 도메인으로서 사용되지만, 몇몇의 구현예에서, 2B4는 하나 이상의 다른 도메인과 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, CD16, 4-1BB 및/또는 2B4의 조합이 이용된다.

[0124] 일부 구현예에서, 신호전달은 상기 언급된 바와 같이 DAP10을 통해 달성된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 단편은 DAP10과 회합되어, 세포독성-유발(pro-cytotoxic) 신호를 NK 세포에 제공한다. 몇몇의 구현예에서, DAP10의 이량체가 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 DAP10을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, DAP10은 SEQ ID NO. 10의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, DAP10은 그것이 SEQ ID NO. 10의 서열을 갖는 DAP10과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 유사하게, 일부 구현예에서, DAP12가 또한 이러한 신호를 전달할 수 있기 때문에, DAP12가 사용될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, DAP12는 SEQ ID NO. 11의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, DAP12는 그것이 SEQ ID NO. 11의 서열을 갖는 DAP12와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, DAP10 및 DAP12의 이중이량체가 사용된다.

[0125] 몇몇의 구현예에서, 신호전달은 4-1BB(CD137 및 종양 괴사 인자 수용체 상과 구성원 9(TNFRSF 9)로도 알려져 있음)를 통해 제공된다. 4-1BB는 전형적으로 활성화된 T 세포를 위한 자극 분자로서 기능하는 동시-자극 면역 체크포인트 분자이다(예를 들어, 4-1BB의 교차결합은 T 세포 증식 및 세포용해 활성을 향상시킨다). 그러나, 몇몇의 구현예에서, 4-1BB의 기능은 유리하게 NK 세포와 함께 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 4-1BB는 SEQ ID NO. 12의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, 4-1BB는 그것이 SEQ ID NO. 12의 서열을 갖는 4-1BB와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 4-1BB는 단독의 신호전달 도메인이지만, 상기 논의된 바와 같이, 몇몇의 구현예에서, 4-1BB는 예상치 못하게 본원에 개시된 다른 막횡단/신호전달 도메인 중 하나 이상과 조합하여 잘 기능한다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 4-1BB와 함께 CD16은 상승적 자극 효과를 제공하여, 특히 효율적인(예를 들어, 세포독성) NK 세포를 초래한다. 몇몇의 구현예에서, 4-1BB와 함께 DAP10은 상승적 자극 효과를 제공하여, 특히 효율적인(예를 들어, 세포독성) NK 세포를 초래한다. 몇몇의 구현예에서, 4-1BB 및/또는 2B4와 함께 DAP10은 상승적 자극 효과를 제공하여, 특히 효율적인(예를 들어, 세포독성) NK 세포를 초래한다. 몇몇의 구현예에서, 다른 개선된 특징 결과, 예컨대 개선된 발현, 개선된 지속성 등.

[0126] 몇몇의 구현예에서, 신호전달 도메인은 CD3 T 세포 수용체 복합체의 적어도 일부를 포함한다. T 세포 수용체 복합체는 제타, 알파, 베타, 감마, 델타 및 엡실론 서브유닛을 포함하는 다수의 서브유닛을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따라 엔지니어링된 NK 세포는 이들 서브유닛(또는 그의 단편) 중 적어도 하나를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 신호전달 도메인은 CD3 제타 서브유닛을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, CD3 제타는 SEQ ID NO. 13의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, CD3 제타는 그것이 SEQ ID NO. 13의 서열을 갖는 CD3 제타와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD3 제타는 도메인이 더 이상 정규 면역수용체 티로신-기반의 활성화 모티프 또는 ITAM 모티프와 일치하지 않도록 돌연변이된다(예를 들어, 아미노산 돌연변이, 삽입 또는 결실). 따라서, 몇몇의 구현예에서, NK 세포는 ITAM 모티프를 함유하지 않는 엔지니어링된 수용체를 포함한다. 일부 구현예에서, 생성된 엔지니어링된 NK 세포는 제한된 또는 감소된 유해한 부작용과 함께, 표적 세포에 대하여 특히 향상된 세포독성을 나타낸다. 몇몇의 구현예에서, 이는 주어진 구현예에서 사용되는 키메라 수용체의 다양한 부분의 상승적 상호작용으로부터 초래된다. 몇몇의 구현예에서, 4-1BB와 함께 CD3제타는 상승적 자극 효과를 제공하여, 특히 효율적인(예를 들어, 세포독성) NK 세포를 초래한다. 몇몇의 구현예에서, 2B4와 함께 CD3제타는 상승적 자극 효과를 제공하여, 특히 효율적인(예를 들어, 세포독성) NK 세포를 초래한다. 몇몇의 구현예에서,

2B4 및 4-1BB와 함께 CD3제타는 상승적 자극 효과를 제공하여, 특히 효율적인(예를 들어, 세포독성) NK 세포를 초래한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 그의 막횡단 도메인을 통하여 CD3제타의 이량체화를 이용한다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 CD3제타 막횡단 도메인(또는 그의 단편)을 포함한다. 일부 구현예에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 세포의 CD3제타 잔기("막-근위 부분")는 CD3제타 막횡단 도메인에 바로 인접해 있다. 일부 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인은 SEQ ID NO. 69의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인은 그것이 SEQ ID NO. 69의 서열을 갖는 CD3제타 막횡단 도메인과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인에 대한 변형은 도메인의 길이를 증가시키기 위하여 추가의 핵산 잔기를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인 및 CD3제타 막-근위 부분은 전장 CD3제타 분자를 시냅스에 동원한다. 몇몇의 구현예에서, (CD3제타 막횡단 도메인이 없는 수용체에 비하여) 엔지니어링된 수용체로의 고유 CD3제타의 동원은 구현예에 따라, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50% 이상 증가된다. 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인은 CD16, NCR1, NCR2, NCR3, 4-1BB, NKp80, FcR γ , CD3제타 및 2B4 중 하나 이상을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된다.

[0127] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD28 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 CD28을 포함하는 한편, 몇몇의 구현예에서, CD28 도메인은 세포내 신호전달 도메인 도메인인 한편, 몇몇의 구현예에서, CD28 도메인은 막횡단/세포내 신호전달 도메인이다. 몇몇의 구현예에서, CD28 막횡단 도메인은 SEQ ID NO. 105의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, CD28 막횡단 도메인은 그것이 SEQ ID NO. 105의 서열을 갖는 CD28과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD28 세포내 신호전달 도메인은 SEQ ID NO. 106의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, CD28 세포내 신호전달 도메인은 그것이 SEQ ID NO. 106의 서열을 갖는 CD28과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, CD28은 작제물에서 단독의 막횡단/신호전달 도메인으로서 사용되지만, 몇몇의 구현예에서, CD28은 하나 이상의 다른 도메인과 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서 CD28, OX40, 4-1BB 및/또는 CD3제타의 조합이 사용된다.

[0128] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 OX40 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, OX40 도메인은 세포내 신호전달 도메인이다. 몇몇의 구현예에서, OX40 세포내 신호전달 도메인은 SEQ ID NO. 107의 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, OX40 세포내 신호전달 도메인은 그것이 SEQ ID NO. 107의 서열을 갖는 OX40과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, OX40은 작제물에서 단독의 막횡단/신호전달 도메인으로서 사용되지만, 몇몇의 구현예에서, OX40은 하나 이상의 다른 도메인과 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서 CD28, OX40, 4-1BB 및/또는 CD3제타의 조합이 사용된다.

[0129] 추가의 구현예에서, 키메라 수용체의 신호전달 부분은 ITAM의 일부, 예를 들어, 헤미-tam을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이들 부분은 정규 ITAM 서열을 구성하지 않고, 오히려 여전히 NK 세포 세포독성에 필요한 신호를 전달할 수 있는 부분을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 헤미-tam은 SEQ ID NO. 14의 서열을 갖는다(X는 임의의 잔기일 수 있음). 몇몇의 구현예에서, 헤미-tam은 그것이 SEQ ID NO. 14의 서열을 갖는 헤미-tam과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체 작제물은 SEQ ID NO. 14의 헤미-tam을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 다수의 헤미-tam이 예를 들어, 헤드 투 테일(head to tail), 테일 투 헤드(tail to head), 헤드 투 헤드(head to head) 또는 테일 투 테일(tail to tail) 배열로 사용될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 적어도 하나의 헤미-tam의 존재는 적어도 하나의 헤미-tam을 사용하는 키메라 수용체를 포함하는 NK 세포에 향상된 신호전달 및 세포독성을 부여한다. 하기에 더욱 상세히 논의된 바와 같이, 몇몇에서, 키메라 수용체는 헤미-tam의 하나의 비-제한적인 예인 NKp80을 포함한다.

[0130] 몇몇의 구현예에서, 예를 들어, 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM) 과의 수용체로부터 유래된 신호전달 영역을 포함하는 추가의 신호전달 영역이 사용된다. 이들 수용체는 2B4(상기 논의됨)를 포함하나 이들에 한정되지 않는다. SLAM 과의 수용체는 그들의 세포질 테일 내에 티로신-기반인 컨센서스 모티프를 공유한다. 상기 모티프는 S/TxYxxL/I이며, 이는 변역수용체 티로신-기반의 스위치 모티프(ITSM)(SEQ ID NO. 15)로 지칭된다. 이들 수용체는 티로신 키나제 Fyn을 동원하는 SLAM-회합 단백질(SAP, 유전자 SH2D1A에 의해 인코딩)을 통해 활성화 신호를 전달한다. 따라서, 몇몇의 구현예에 따라, 신호전달 영역은 ITSM 모티프를 포함하는 폴리펩티드 서열(또는 이를 인코딩하는 핵산)을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, ITSM 모티프는 완전히 인코딩될 필요는 없지만, 신호전달 영

역은 SAP(또는 또 다른 유사한 경로)를 통해 활성화 신호를 전달할 수 있다. 몇몇의 구현예에서, ITSM 모티프는 SEQ ID NO. 15의 서열(X는 임의의 아미노산 잔기일 수 있음)을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, ITSM 모티프는 그것이 SEQ ID NO. 15의 서열을 갖는 ITSM 모티프와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성하도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, ITSM 모티프는 SEQ ID NO. 15의 서열을 포함한다.

[0131] NKG2D 수용체, 막횡단 도메인 및 신호전달 도메인(및 조합 막횡단/신호전달 도메인) 내의 이들 변형에 더하여, 몇몇의 구현예에서 추가의 동시-활성화 분자가 제공될 수 있다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, NK 세포는 막-결합된 인터유킨 15(mbIL15)를 발현하도록 엔지니어링된다. 이러한 구현예에서, NK 세포 상의 mbIL15의 존재는 NK 세포의 증식 및 지속성을 상승적으로 향상시킴으로써 NK 세포의 세포독성 효과를 추가로 향상시키는 기능을 한다. 몇몇의 구현예에서, mbIL15는 SEQ ID NO. 16의 핵산 서열을 갖는다. 몇몇의 구현예에서, mbIL15는 그것이 SEQ ID NO. 16의 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성하도록 절단되거나 변형될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, mbIL15는 SEQ ID NO. 17의 아미노산 서열을 갖는다. 본원에 개시된 키메라 수용체와 함께, 이러한 구현예는 특정 표적 세포를 표적화하고 파괴하기에 특히 효율적인 NK 세포 조성물을 제공한다.

[0132] *키메라 수용체 작제물*

[0133] 본원에 제공된 개시내용을 고려하여, NK 세포에서 생성되고 발현되어 특정 표적 세포, 예컨대 이환 또는 암 세포를 표적화하고 파괴할 수 있는 다양한 키메라 수용체가 존재한다. 이러한 키메라 수용체의 비-제한적인 예는 하기에 더욱 상세히 논의되어 있다.

[0134] 상기 논의된 바와 같이, T 세포 수용체 복합체의 부분, 특히 CD3제타는 면역 신호전달 캐스캐이드의 강력한 활성화제로서 역할을 한다. 이와 같이, 수용체 4-1BB, 종양 괴사 인자 상과 구성원은 리간드 결합 시에 NK 세포를 활성화시킨다. 몇몇의 구현예에서, 이들 2개의 신호전달 성분은 상승적인 방식으로 작용하여, 키메라 수용체로의 리간드의 결합 시에 NK 세포를 활성화시킨다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 CD3제타의 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/CD8a/4-1BB/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 18의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 108의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 또 다른 구현예에서, NKG2D-CD8a-4-1BB-CD3제타 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 19의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 NK 세포가 mbIL15를 동시 발현하고, mbIL15가 NK 세포의 활성화 및 세포독성 성질에 관하여 추가의 상승 효과를 제공하는 경우에 특히 유효하다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 18(예컨대 SEQ ID NO: 108)과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 18과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 18(예컨대 SEQ ID NO: 108)과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다.

[0135] 수용체 2B4는 몇몇의 면역수용체 티로신-기반의 스위치 모티프(ITSM)를 보유하며, 활성화 신호를 전달하는 잠재력을 갖는다. 이와 같이, 수용체 4-1BB, 종양 괴사 인자 상과 구성원을 통한 신호전달은 또한, 리간드 결합 시에 NK 세포를 활성화시킨다. 따라서, 이들 신호전달 분자가 협력하여 예기치 않게 효과적으로 세포독성 NK 세포를 생성하는 능력을 이용하여, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8a 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 2B4의 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/CD8a/2B4/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0136] 몇몇의 구현예에서, 2B4와 CD3제타의 조합은 NK 세포와 사용하여, 표적 세포에 대하여 향상된 세포독성을 생성한다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8a 막횡단 영역, 및 CD3제타 및 2B4의 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/CD8a/2B4/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 상기 논의된 바와 같이, CD3제타 및 2B4와 같이, 4-1BB는 면역 신호전달 캐스캐이드의 강력한 활성화제로서 기능할 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 이들 3개의 신호전달 성분은 상승적 방식으로 작용하여, 키메라 수용체로의 리간드의 결합 시에 NK 세포를 활성화시킨다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8 막횡단 영역, 및 4-1BB, 2B4 및 CD3제

타의 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/CD8a/4-1BB/2B4/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 58의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 또 다른 구현예에서, NKG2D-CD8a-4-1BB-CD3제타 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 59의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 NK 세포가 mbIL15를 동시 발현하고, mbIL15가 NK 세포의 활성화 및/또는 세포독성 성질에 관하여 추가의 상승 효과를 제공하는 경우에 특히 유효하다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 58과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 58과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 58과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다.

[0137]

몇몇의 대안적인 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8a 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 DAP10의 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/CD8a/DAP10/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 60의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 또 다른 구현예에서, NKG2D-CD8a-4-1BB-DAP10 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 61의 아미노산 서열을 포함한다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 NK 세포가 mbIL15를 동시 발현하고, mbIL15가 NK 세포의 활성화 및 세포독성 성질에 관하여 추가의 상승 효과를 제공하는 경우에 특히 유효하다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 60과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 60과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 60과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 상기 논의된 바와 같이, DAP10 및 4-1BB와 같이, 2B4는 면역 신호전달 캐스케이드의 강력한 활성화제이다. 몇몇의 구현예에서, 이들 3개의 신호전달 성분은 상승적 방식으로 작용하여, 키메라 수용체로의 리간드의 결합 시에 NK 세포를 활성화시킨다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8 막횡단 영역, 및 4-1BB, 2B4 및 DAP10의 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하며, 4-1BB에 이어서 DAP10이 존재하며, DAP10에 이어서 2B4가 존재하는 NKG2D/CD8a/4-1BB/DAP10/2B4 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 62의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 또 다른 구현예에서, NKG2D-CD8a-4-1BB-CD3제타 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 63의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 NK 세포가 mbIL15를 동시 발현하고, mbIL15가 NK 세포의 활성화 및 세포독성 성질에 관하여 추가의 상승 효과를 제공하는 경우에 특히 유효하다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 62와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 62와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 62와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 몇몇의 다른 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8 막횡단 영역, 및 4-1BB, 2B4 및 DAP10의 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하며, 4-1BB에 이어서 2B4가 존재하며, 2B4에 이어서 DAP10이 존재하는 NKG2D/CD8a/4-1BB/2B4/DAP10 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 64의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 또 다른 구현예에서, NKG2D-CD8a-4-1BB-CD3제타 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 65의 아미노산 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 NK 세포가 mbIL15를 동시 발현하고, mbIL15가 NK 세포의 활성화 및 세포독성 성질에 관하여 추가의 상승 효과를 제공하는 경우에 특히 유효하다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 64와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 64와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 64와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다.

[0138]

몇몇의 추가의 구현예에서, 키메라 수용체의 막횡단 및 이펙터 도메인(및 관련 기능)은 동일한 펩티드로부터 유래된다. CD16은 NK 세포의 표면 상에 발현되는 강력한 활성화 수용체이다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 이펙터 도메인 둘 모두를 포함하는 CD16 펩티드를 포함하는 NKG2D/CD16 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 23의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 24의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID

NO. 23과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 23과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 23과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0139] 몇몇의 추가의 구현예에서, NKG2D/CD16/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 4-1BB의 신호전달 도메인은 이펙터 도메인에서 활성화 신호의 제2 전달자로서 작용한다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0140] CD3제타는 그의 막횡단 도메인을 통하여 이량체화한다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인이 전장 CD3제타 분자를 시냅스에 동원하는 키메라 수용체가 제공된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 도메인에 바로 인접한 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상의 세포외 CD3제타 잔기("막-근위 부분"), 및 CD16, NCR1, NCR2, NCR3, 4-1BB, NKp80, FcR γ , CD3제타 및 2B4 중 하나 이상을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하든 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다.

[0141] 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인이 4-1BB 및 CD16 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링되는 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역 및 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하는 NKG2D/CD3제타TM/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 78의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 79의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 78과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 78과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 78과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0142] 몇몇의 구현예에서, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16에 이어서 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하는 NKG2D/CD3제타TM/CD16/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 70의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 71의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 70과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 70과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 70과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 또한, 몇몇의 구현예에서, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB에 이어서 CD16을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하는 NKG2D/CD3제타TM/4-1BB/CD16 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일부 구현예에서, 이펙터 도메인은 GS3 링커를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, GS3 링커는 4-1BB와 CD16 사이에 배치된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 84의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 85의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 84와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 84와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 84와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 또한, 몇몇의 구현예에서, GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16 및 4-1BB를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하는 NKG2Dx2/CD3제타TM/CD16/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 72의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 73의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 72와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 72와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 72와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현

예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0143] 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인이 NKp80을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D/CD3제타TM/CD16/4-1BB/NKp80 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 키메라 수용체는 CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16, 4-1BB 및 NKp80을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 이펙터 도메인은 GS3 링커를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, GS3 링커는 4-1BB와 NKp80 사이에 배치된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 74의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 75의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 74와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 74와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 74와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 또한, 몇몇의 구현예에서, GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD16, 4-1BB 및 NKp80을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하는 2xNKG2D/CD3제타TM/CD16/4-1BB/NKp80 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일부 구현예에서, 이펙터 도메인은 GS3 링커를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, GS3 링커는 4-1BB와 NKp80 사이에 배치된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 76의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 77의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 76과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 76과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 76과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 또한, 몇몇의 구현예에서, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 NKp80을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하는 NKG2D/CD3제타TM/4-1BB/NKp80 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일부 구현예에서, 이펙터 도메인은 GS3 링커를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, GS3 링커는 4-1BB와 NKp80 사이에 배치된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 82의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 83의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 82와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 82와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 82와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0144] 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인이 CD3제타를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 CD3제타를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함하는 NKG2D/CD3제타TM/4-1BB/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 80의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 81의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 80과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 80과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 80과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0145] 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인이 FcR γ 를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 4-1BB 및 FcR γ 를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하는 NKG2D/CD3제타TM/4-1BB/FcR γ 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 86의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 87의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 86과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 86과 적어도 70%, 적어

도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 86과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0146] 몇몇의 구현예에서, CD3제타 막횡단 도메인이 CD28을 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8a 힌지, CD3제타 막횡단 영역, 및 CD28 및 CD3제타를 포함하는 세포내 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/CD3제타 TM/CD28/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 102의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 103의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 102와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 102와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 102와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0147] 몇몇의 구현예에서, 세포의 도메인이 IL15에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하는 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, IL-15에 연결된 NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 및 4-1BB 및 CD3z를 포함하는 세포내 이펙터 도메인을 포함하는 IL15/NKG2D/CD8a/4-1BB/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일부 구현예에서, 세포의 도메인은 GS3 링커를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, GS3 링커는 IL15와 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인 사이에 배치된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 88의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 89의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 88과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 88과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 88과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다.

[0148] 몇몇의 구현예에서, 세포의 도메인이 IgG4 짧은 힌지에 커플링된 NKG2D의 단편을 포함하는 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, IgG4 짧은 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 및 4-1BB 및 CD3제타를 포함하는 세포내 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/IgG4/CD8a/4-1BB/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 96의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 97의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 96과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 96과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 96과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0149] 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인이 OX40을 포함하는 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 및 OX40 및 CD3z를 포함하는 세포내 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/CD8a/OX40/CD3z 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 90의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 91의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 90과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 90과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 90과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, IgG4 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 및 OX40 및 CD3제타를 포함하는 세포내 이펙터 도메인을 포함하는 NKG2D/IgG4/CD8a/OX40/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클

레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 100의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 101의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 100과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 100과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 100과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0150] 몇몇의 구현예에서, 막횡단 영역 및 세포내 이펙터 도메인 둘 모두를 포함하는 CD28 펩티드를 포함하는 키메라 수용체가 제공된다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8a 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인 및 CD3제타를 포함하는 NKG2D/CD28/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 92의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 93의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 92와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 92와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 92와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 추가의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, CD8a 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인, 및 4-1BB 및 CD3제타를 포함하는 NKG2D/CD28/CD3제타/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 94의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 95의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 94와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 94와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 94와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다. 추가의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, IgG4 힌지, CD28 막횡단/세포내 도메인 및 CD3제타를 포함하는 NKG2D/IgG4/CD28/CD3제타 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 98의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 99의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 98과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 98과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 98과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0151] NCR1(NKp46), NCR2(NKp44) 및 NCR3(NKp30)은 리간드 결합 시에 활성화 신호를 전달하는 NK 세포 상의 수용체이다. 따라서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 이펙터 도메인 둘 모두를 포함하는 NCR1 펩티드를 포함하는 NKG2D/NCR1 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 27의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 28의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 30과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 27과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 27과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0152] 몇몇의 추가의 구현예에서, NKG2D/NCR1/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 4-1BB의 신호전달 도메인은 이펙터 도메인에서 활성화 신호의 제2 전달자로서 작용하여, 상승적으로 향상된 NK 세포 활성화 및 세포독성을 야기한다. 몇몇의 추가의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 이펙터 도메인 둘 모두를 포함하는 NCR2 펩티드를 포함하는 NKG2D/NCR2 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. NCR1에서와 같이, 몇몇의 구현예에서, 이들 작제물은 그들의 상대적으로 작은 크기 및 서열의 단순성으로 인하여, 키메라 수용체를 발현하는 NK 세포

를 생성하는데 사용하기에 특히 적합하다. 그러나, 그들은 몇몇의 구현예에서, 작제물의 명백한 단순성에도 불구하고, 매우 효과적인 NK 세포를 제공하는 능력을 보유한다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이들 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0153] 몇몇의 추가의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 NKG2D 단편 세포의 수용체 도메인, 및 막횡단 영역 및 세포내 이펙터 도메인 둘 모두를 포함하는 NCR3 펩티드를 포함하는 NKG2D/NCR3 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. NCR1 및/또는 NCR2에서와 같이, 몇몇의 구현예에서, 이들 작제물은 그들의 상대적으로 작은 크기 및 서열의 단순성으로 인하여, 키메라 수용체를 발현하는 NK 세포를 생성하는데 사용하기에 특히 적합하다. 그러나, 그들은 몇몇의 구현예에서, 작제물의 명백한 단순성에도 불구하고, 매우 효과적인 NK 세포를 제공하는 능력을 보유한다. 일 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 29의 핵산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO: 30의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체의 서열은 SEQ ID NO. 29와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 29와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체가 SEQ ID NO. 29와 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0154] 몇몇의 추가의 구현예에서, NKG2D/NCR2/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 4-1BB의 신호전달 도메인은 이펙터 도메인에서 활성화 신호의 제2 전달자로서 작용하여, 신호전달 도메인 간의 상승 효과, 및 예기치 않게 효율적으로 세포독성인 NK 세포를 야기한다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0155] 몇몇의 추가의 구현예에서, NKG2D/NCR3/4-1BB 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 4-1BB의 신호전달 도메인은 이펙터 도메인에서 활성화 신호의 제2 전달자로서 작용하여, 신호전달 도메인 간의 상승 효과, 및 예기치 않게 효율적으로 세포독성인 NK 세포를 야기한다. 또한, 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 선택적으로 mbIL15와 동시-발현될 수 있다.

[0156] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 키메라 수용체의 표면 발현 및 효능은 몇몇의 구현예에서, NKG2D 단편과 막횡단 도메인 사이의 세포의 도메인에 위치한 스페이서 영역(힌지)의 변이에 의해 향상된다. 일부 구현예에서, 힌지 영역은 키메라 수용체의 다른 부분 사이(예를 들어, 세포내와 막횡단 도메인 사이 또는 다중의 세포내 도메인 사이)에 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원의 다른 곳에 개시된 바와 같은 특정 목적을 제공하는 도메인은 추가의 기능을 제공할 수 있다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, CD8a는 (몇몇의 구현예에서, SEQ ID NO: 5의 핵산 서열에 의해 인코딩되는) 힌지 영역으로서 제공하도록 용도 변경된다. 또 다른 구현예에서, 힌지 영역은 CD8a의 N-말단 절단형 및/또는 CD8a의 C-말단 절단형을 포함한다. 구현예에 따라, 이들 절단물은 SEQ ID NO. 5에 의해 인코딩되는 힌지와 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80% 또는 적어도 약 90% 상동성일 수 있다. 몇몇의 추가의 구현예에서, 힌지는 글리신 및 세린 잔기의 스패(본원에 "GS 링커"로 명명됨)를 포함하며, GS_n은 서열 (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_n(SEQ ID NO. 42)을 나타낸다. 일 구현예에서, 힌지는 CD8a 및 GS3 둘 모두를 포함하며, SEQ ID NO: 32의 아미노산 서열에 의해 인코딩되며, 예를 들어, n=3이다. 추가의 구현예에서, n의 값은 구현예에 따라 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 이상일 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 힌지는 또한, GS_n/CD8a로서 구조화될 수 있다. 대안적으로, GS 링커는 전체 힌지 영역을 포함할 수 있다. 이러한 일 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 33의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 또 다른 이러한 구현예에서, 힌지 영역은 SEQ ID NO: 34의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, IgG4는 (몇몇의 구현예에서, SEQ ID NO: 104의 핵산 서열에 의해 인코딩되는) 힌지 영역으로서 용도 변경된다. 또 다른 구현예에서, 힌지 영역은 IgG4의 N-말단 절단형 및/또는 IgG4의 C-말단 절단형을 포함한다. 구현예에 따라, 이들 절단물은 SEQ ID NO. 104에 의해 인코딩되는 힌지와 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80% 또는 적어도 약 90% 상동성일 수 있다.

[0157] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체 작제물은 2B4 세포내 신호전달 도메인을 사용한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 도메인은 SEQ ID NO. 35의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 2B4 도메인은 SEQ ID NO. 36의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체에서 사용되는 2B4 세포내 도메인의 서열은 SEQ ID NO. 36과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 36과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체의 신호전달 도메인이 SEQ ID NO. 36과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다. 이와 같이, 몇몇의 구

현예에서, NKp80 세포내 도메인이 몇몇의 구현예에서 사용된다. 일부 구현예에서, NKp80 도메인은 단독의 세포내 신호전달 도메인이지만, 일부 구현예에서, 상기 도메인은 하나 이상의 추가의 도메인과 함께 사용된다. 몇몇의 구현예에서, NKp80은 SEQ ID NO. 37의 아미노산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, NKp80 도메인은 SEQ ID NO. 38의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체에 사용되는 NKp80 세포내 도메인의 서열은 SEQ ID NO. 38과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 38과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체의 신호전달 도메인이 SEQ ID NO. 38과 달라질 수 있지만, 키메라 수용체는 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 유지하거나, 일부 구현예에서, 향상된 NK 세포 활성화 및/또는 세포독성 기능을 갖는다.

[0158] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 베타-아드레날린성 수용체의 부분을 막횡단 도메인으로서 사용한다. 몇몇의 구현예에서, 상기 부분은 베타-아드레날린성 세포의 도메인의 부분을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 상기 부분은 베타-아드레날린성 수용체 막횡단 도메인의 부분이다. 몇몇의 구현예에서, 베타 아드레날린성 수용체의 세포의 도메인 및 막횡단 도메인의 조합이 사용된다. 구현예에 따라, 상기 부분은 베타-1 및/또는 베타-2 아드레날린성 수용체로부터의 것이다. 몇몇의 구현예에서, 베타-2 아드레날린성 수용체의 N-말단 세포의 영역의 부분이 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 상기 부분은 SEQ ID NO. 39의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 세포의 베타-2 아드레날린성 도메인은 SEQ ID NO. 40의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체에 사용되는 세포의 베타-2 아드레날린성 도메인의 서열은 SEQ ID NO. 39와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 39와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 베타-2 아드레날린성 수용체의 제1 막횡단 나선은 선택적으로 세포의 베타-2 아드레날린성 도메인과 함께 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 베타-2 아드레날린성 수용체의 제1 막횡단 나선은 SEQ ID NO. 41의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 베타-2 아드레날린성 수용체의 제1 막횡단 나선은 SEQ ID NO. 42의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체에 사용되는 베타-2 아드레날린성 수용체의 제1 막횡단 나선의 서열은 SEQ ID NO. 41과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 41과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다.

[0159] 일 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8, 절단된 NKG2D, CD8a, 막횡단 도메인, CD16 세포내 도메인 및 4-1BB를 동시자극 분자로서 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 SEQ ID NO. 25에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 25와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 25와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, CD8 주변의 힌지 영역은 비-제한적인 예에 의해 GS 링커(본원에 개시됨), 예컨대 GS3의 첨가에 의해 증가된다. 이러한 구현예에서, 작제물은 SEQ ID NO. 43의 핵산에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 43과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 43과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, CD8 주변의 힌지 영역은 더 긴 GS 링커, 예컨대 GS12 또는 다른 링커의 첨가에 의해 증가된다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 CD8의 절단에 의해 감소된다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, CD8a의 N-말단 영역은 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40% 또는 적어도 50% 절단된다. 몇몇의 구현예에서, CD8 힌지는 GS 링커로 대체된다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 GS3 링커를 포함하여, 그에 의해 작제물은 NKG2D-GS3-CD16-4-1BB를 포함한다. 일 구현예에서, 이러한 작제물은 SEQ ID NO. 44의 핵산에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 44와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 44와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, CD8 또는 GS_n 중 어느 것도 사용되지 않는다. 일 구현예에서, 이러한 작제물은 SEQ ID NO. 45의 핵산에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 45와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 45와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다.

[0160] 상기 논의된 바와 같이, 몇몇의 구현예에서, 코돈 최적화된 서열이 사용된다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 코돈 최적화(완전 또는 부분)는 키메라 수용체의 NKG2D 도메인에서 수행된다. 그러나, 몇몇의 구현예에서, 코돈 최적화는 수행되지 않는다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 4-1BB 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 막횡단 도메인, 및 4-1BB 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 막횡단 도메인, 4-1BB 신호전달 도메인 및 2B4 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 SEQ ID NO. 46의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 46과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 46과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성

을 유지한다.

- [0161] 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, 베타-아드레날린성 유래 막횡단 도메인 및 4-1BB 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, 베타-2 아드레날린성 수용체의 세포의 영역 및 베타-2 아드레날린성 수용체의 제1 막횡단 나선으로 구성된 베타-아드레날린성 유래 막횡단 도메인 및 4-1BB 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, 베타-2 아드레날린성 수용체의 세포의 영역 및 베타-2 아드레날린성 수용체의 제1 막횡단 나선으로 구성된 베타-아드레날린성 유래 막횡단 도메인, 4-1BB 신호전달 도메인 및 2B4 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 SEQ ID NO. 47의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 47과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 47과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다.
- [0162] 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 2B4 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 막횡단 도메인, 및 2B4 및 4-1BB 신호전달 도메인 둘 모두가 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 막횡단 도메인, 4-1BB 신호전달 도메인 및 2B4 신호전달 도메인, 및 NKp80 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, GS 링커, 예컨대 GS3 링커는 2B4 및 NKp80 도메인을 연결시킨다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 SEQ ID NO. 48의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 48과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 48과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다.
- [0163] 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 NKp80 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 막횡단 도메인, 및 NKp80 신호전달 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 최적화되지 않은 NKG2D 세포의 도메인, CD8a 힌지 및 막횡단 도메인, 4-1BB 신호전달 도메인 및 NKp80 도메인이 있는 키메라 수용체 작제물이 제공된다. 몇몇의 구현예에서, GS 링커, 예컨대 GS3 링커는 4-1BB와 NKp80 도메인을 연결시킨다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 SEQ ID NO. 49의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 49와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 49와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다.
- [0164] 몇몇의 구현예에서, CD8 막횡단 도메인은 2B4 세포내 도메인과 커플링된다. 몇몇의 구현예에서, CD8 막횡단 도메인은 막횡단 및 세포내인 2B4 도메인으로 대체된다. 몇몇의 구현예에서, CD8 막횡단 도메인은 2B4로 대체되며, 4-1BB는 근위 배치로 발현된다.
- [0165] 몇몇의 구현예에서, CD16 세포내 신호전달 도메인은 외인적으로 본원에 기재된 키메라 수용체에 트랜스로 발현되는 CD3제타 또는 감마 서브유닛과 커플링된다. 상기 논의된 바와 같이, 이러한 작제물은 예기치 않게 향상된 신호 전달 및 이에 따른 NK 세포의 세포독성 효과의 예기치 않은 증가를 초래할 수 있다.
- [0166] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 본원에 추가로 상세히 논의된 바와 같이, 이량체화하도록 구성된다. 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따른 절단된 NKG2D 수용체는 선택적으로 이량체화된다. 이량체화는 구현예에 따라 동중이량체 또는 이종이량체를 포함할 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 이량체화는 유해한 독성 효과의 감소(또는 결여)의 동등한 균형과 함께, 더 나은 리간드 인식으로의 키메라 수용체(및 이에 따라, 수용체를 발현하는 NK 세포)의 결합력의 변화를 초래한다. 추가의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD8a 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 내부 이량체 또는 하나 이상의 성분 서브유닛의 반복을 사용한다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 제2 NKG2D 세포의 도메인 및 막횡단/신호전달 영역(또는 개별 신호전달 영역과 함께 개별 막횡단 영역)에 커플링된 NKG2D 세포의 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D 세포의 도메인 중 하나 이상은 코돈 최적화된다. 몇몇의 구현예에서, 2개의 NKG2D 세포의 도메인은 링커, 예를 들어, GS_n 링커에 의해 분리된다. 일 구현예에서, GS3 링커가 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인은 베타-아드레날린성 수용체의 세포의 영역을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 막횡단 도메인 막횡단 도메인은 베타-2 아드레날린성 수용체의 세포의 영역을 포함하며, 베타-2 아드레날린성 수용체의 제1 막횡단 도메인을 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 신호전달 영역은 4-1BB를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 신호전달 영역은 NKp80을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 신호전달 영역은 CD16 막횡단-세포내 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 신호전달 영역은 NKp80 또는 CD16 막횡단-세포내 도메인과 함께 4-1BB를 포함한다. 몇

몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 50의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 50과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 50과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 51의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 51과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 51과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 52의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 52와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 52와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 힌지 영역을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, CD8a는 (몇몇의 구현예에서, SEQ ID NO: 5의 핵산 서열에 의해 인코딩되는) 힌지 영역으로서 제공하도록 용도 변경된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 CD8a 막횡단 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 신호전달 영역은 2B4 및 CD3제타와 함께 4-1BB를 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 GS3 링커, 추가의 NKG2D 단편, CD8a 힌지, CD8a 막횡단 도메인, 및 4-1BB 및 CD3제타를 포함하는 이펙터 도메인에 커플링된, 코돈 최적화된 NKG2D의 단편을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 66의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 66과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 50과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 67의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 66과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 50과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다.

[0167] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 본원에 추가로 상세히 논의된 바와 같이, 이중특이적이도록 구성된다. 몇몇의 구현예에서, 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따른 절단된 NKG2D 수용체는 예를 들어, 비-NKG2D 리간드에 결합하는 제2 펩티드로 인하여 이중특이적이다. 몇몇의 구현예에서, 이중-특이성은 유해한 독성 효과의 감소(또는 결여)의 동등한 균형과 함께, 더 나은 표적 세포 인식으로의 키메라 수용체(및 이에 따라, 수용체를 발현하는 NK 세포)의 표적화의 변화를 초래한다. 추가의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD8a 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 다른(비-NKG2D) 리간드에 결합하는 제2 세포의 도메인 및 막횡단/신호전달 영역(또는 개별 신호전달 영역과 함께 개별 막횡단 영역)에 커플링된 NKG2D 세포의 도메인을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 2개의 세포의 도메인은 링커, 예를 들어, GS_n 링커에 의해 분리된다. 일 구현예에서, GS3 링커가 사용된다.

[0168] 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따라, 코돈 최적화된 NKG2D 도메인을 사용하는 추가의 키메라 수용체가 제공된다(선택적으로, 이들 작제물은 또한 비-최적화된 또는 부분 최적화된 도메인으로 반복될 수 있다). 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, 코돈 최적화된 세포의 도메인은 힌지 및 적어도 2개의 막횡단/신호전달 도메인과 커플링된다. 몇몇의 구현예에서, 다수의 신호전달 도메인은 다수의 비-중복 신호 캐스케이드가 시행되기 때문에, NK 세포의 향상된 세포독성 효능을 제공한다. 일부 구현예에서, 이들 다수의 경로가 단일의 신호전달 분자(예를 들어, IFN γ)에 집중될 수 있지만, 전체 세포독성 효과는 세포독성 중점을 유도하는 전체 신호전달 분자의 크기 때문에, 예기치 않게 증가된다. 비-제한적인 예로서, 몇몇의 구현예에서, NKG2D는 CD8a 힌지에 이어서 CD16 막횡단-세포내 신호전달 도메인 및 4-1BB 신호전달 도메인에 커플링된다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 2B4 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 53의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 53과 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 53과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다. 추가의 구현예에서, NKG2D-CD8a-CD161C/TM 작제물은 Nkp80 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 작제물은 4-1BB와 Nkp80 도메인 사이에 GS3 링커를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이러한 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 54의 핵산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 SEQ ID NO. 54와 달라질 수 있지만, 구현예에 따라, SEQ ID NO. 54와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 상동성을 유지한다.

[0169] 추가의 구현예에서, 키메라 수용체의 특정 성분은 향상된 효능(예를 들어, NK 세포의 활성화 또는 세포독성)을 야기하는 하나 이상의 추가의 서브유닛으로 대체될 수 있다. 예를 들어, 일 구현예에서, CD16 세포내 신호전달 도메인은 DAP10의 4중-반복(예를 들어, 4xDAP10)으로 대체될 수 있다. 추가의 구현예에서, CD16 세포내 신호전달 도메인은 Zap70 서브유닛으로 대체될 수 있다. 이러한 특정 구현예는 예기치 않게 향상된 NK 세포 세포독성을 야기한다.

[0170] 몇몇의 추가의 구현예에서, 이펙터 도메인은 리간드 결합 시에 활성화 신호전달의 전달을 향상시키도록 하나 이

상의 컨센서스 헤미-ITAM 서열을 포함한다. 추가의 구현예에서, 4-1BB, CD16, NCR1, NCR2 및/또는 NCR3의 신호 전달 도메인 사이의 GS 링커의 포함은 신호 전달을 향상시킨다. 또한, 몇몇의 구현예에서, CD3 ζ 및 FcR γ 중 하나 또는 둘 모두는 추가로 (동일한 또는 개별 작제물 상에서) 본원에 기재된 키메라 수용체와 함께 발현되며, 이는 예기치 않게 향상된 신호 전달 및 이에 따른 예기치 않은 NK 세포의 세포독성 효과의 증가를 초래한다. 구현예에 따라, CD3 ζ 및 FcR γ 중 하나 이상의 엔지니어링된 발현은 NK 세포에 의한 이들 분자의 내인성 발현을 보충하여, 그에 의해, NK 세포의 신호전달 및 궁극적인 세포독성 효력을 추가로 향상시킨다.

[0171] 선택적으로, 구현예에 따라, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드 중 임의의 것은 또한 키메라 수용체의 구성 서브유닛 중 하나 이상의 절단물 및/또는 변이체를 인코딩할 수 있지만, NK 세포를 표적 세포에 지향시키는 그들의 능력을 유지하고, 몇몇의 구현예에서 결합 시에 세포독성을 예기치 않게 향상시킨다. 또한, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드 중 임의의 것은 선택적으로 키메라 수용체의 다양한 구성 서브유닛을 인코딩하는 코돈-최적화된 뉴클레오티드 서열을 포함할 수도 있다. 본원에 사용되는 용어 "단편" 및 "절단된"에는 그들의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 또한, 단백질의 N- 및 C-말단 결실 변이체를 포함하여야 한다.

[0172] 본원에 기재된 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 벡터 내로 삽입하여, NK 세포에서 재조합 단백질 발현을 달성할 수 있다. 일 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 키메라 수용체의 발현을 위하여 적어도 하나의 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 펩티드에 대하여 이중인 전사 조절 요소, 예컨대 내부 리보솜 진입 부위(IRES) 또는 인핸서 요소를 사용하여 키메라 수용체의 전사를 유도한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 시토졸 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 일부 구현예에서, 절단 부위는 시토졸 프로테아제에 의해 인식되고 절단된다. 일부 구현예에서, 이러한 절단 부위는 T2A 절단 부위, P2A 절단 부위, E2A 절단 부위 및 F2A 절단 부위를 포함하는 군으로부터 선택된다. 구현예에 따라, 키메라 수용체의 다양한 구성 부분이 단일의 벡터에서, 또는 대안적으로 다수의 벡터에서 NK 세포에 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체 작제물은 단일의 벡터에서 전달되는 한편, 키메라 수용체의 효능을 향상시키는 또 다른 인자, 예컨대 mbIL15는 개별 벡터에서 전달된다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체 및 키메라 수용체의 효능을 향상시키는 인자(예를 들어, mbIL15)는 단일의 벡터에서 전달된다. 사용되는 벡터의 수와 관계 없이, 임의의 폴리뉴클레오티드는 선택적으로 tag 서열을 포함하여, 작제물을 발현하는 NK 세포의 존재의 확인을 가능하게 할 수 있다. 예를 들어, 몇몇의 구현예에서, FLAG 태그(DYKDDDDK, SEQ ID NO. 55)가 사용된다. 또한, 다른 tag 서열, 예컨대 폴리히스티딘 태그(His-태그)(HHHHHH, SEQ ID NO. 56), HA-태그 또는 myc-태그(EQKLISEEDL; SEQ ID NO: 57)가 이용 가능하다. 대안적으로, 녹색 형광 단백질 또는 다른 형광 모이어티가 사용된다. 태그 유형의 조합을 사용하여, 키메라 수용체의 하위-성분을 개별적으로 인식할 수도 있다.

[0173] 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 전기천공법에 의해 NK 세포 내로 도입될 수 있는 mRNA이다. 또 다른 구현예에서, 벡터는 바이러스, 바람직하게는 레트로바이러스이며, 이는 형질도입에 의해 NK 세포 내로 도입될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 벡터는 무린 줄기 세포 바이러스(MSCV)이다. 추가의 구현예에서, 다른 벡터가 사용될 수 있으며, 예를 들어, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스 등이 사용될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 비-HIV-유래 레트로바이러스가 사용된다. 선택된 벡터는 제한 없이 전사 조절 요소의 세기 및 단백질을 발현하기 위해 사용될 세포를 포함하는 다수의 인자에 좌우될 것이다. 벡터는 플라스미드, 파지미드, 코스미드, 바이러스 벡터, 파지, 인공 염색체 등일 수 있다. 추가의 구현예에서, 벡터는 에피솜, 비-상동성 또는 상동성 통합 벡터일 수 있으며, 이는 그들을 형질전환시키기 위한 임의의 적합한 수단(형질전환, 트랜스펙션, 컨주게이션, 원형질체 융합, 전기천공법, 인산칼슘-침전법, 직접 미세주입 등)에 의해 적절한 세포 내로 도입될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 예를 들어, SV40 초기 프로모터 영역, 라우스 육종 바이러스의 3' 긴 말단 반복부 내에 함유된 프로모터, 헤르페스 티미딘 키나제 프로모터, 메탈로티오닌 유전자의 조절 서열, 아데노바이러스(ADV) 프로모터, 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터, 소 유두종 바이러스(BPV) 프로모터, 파르보바이러스 B19p6 프로모터, 베타-락타마제 프로모터, tac 프로모터, 노팔린 합성효소 프로모터 영역 또는 콜리플라워 모자이크(cauliflower mosaic) 바이러스 35S RNA 프로모터, 리볼로스 비포스페이트 카복실라제의 프로모터, Gal 4 프로모터, ADC(알코올 데하이드로게나제) 프로모터, PGK(포스포글리세롤 키나제) 프로모터, 골수증식 육종 바이러스 인핸서와 함께 변형된 MoMuLV LTR의 U3 영역을 함유하는 합성 MND 프로모터 및 알칼리성 포스파타제 프로모터를 포함하는 NK 세포에서 키메라 수용체의 발현을 유도하기 위한 다른 접근법이 사용된다.

[0174] 자연 살해 세포는 본원에 개시된 키메라 수용체를 발현하도록 엔지니어링될 수 있다. 키메라 수용체 발현 작제물은 해당 분야의 숙련자에게 알려져 있는 기법 중 임의의 것을 사용하여 NK 세포 내로 도입될 수 있다. 일 구현예에서, 키메라 수용체는 NK 세포에서 일시적으로 발현된다. 또 다른 구현예에서, 키메라 수용체는 NK 세포에

서 안정하게 발현된다. 추가의 구현예에서, NK 세포는 자가 세포이다. 또 다른 구현예에서, NK 세포는 공여자-유래(동종이계) 세포이다.

[0175]

본원에 개시된 바와 같은 키메라 수용체를 발현하도록 엔지니어링된 NK 세포를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 단계로서, 상기 키메라 수용체가 손상되거나 이화된 세포 또는 조직 상에서 차등적으로 발현되는(예를 들어, 정상 세포 또는 조직에 비하여 상이한 정도로 발현되는) 마커 또는 리간드를 표적화하도록 설계된 단계를 포함하는 암 또는 감염성 질환을 갖는 대상체의 치료 방법이 본원에 추가로 제공된다. 본원에 사용되는 용어 "발현한다", "발현되는" 및 "발현"에는 그들의 일상적인 의미가 제공되며, 유전자 또는 폴리뉴클레오티드 서열의 정보가 나타나게 하거나, 이것이 나타나게 야기하는, 예를 들어, 상응하는 유전자 또는 DNA 서열의 전사 및 번역에 수반되는 세포 기능을 활성화시킴으로써 단백질을 생성하는 것을 지칭하여야 한다. 발현 생성물 그 자체, 예를 들어, 생성되는 단백질은 또한, 세포에 의해 "발현된다"고 할 수 있다. 발현 생성물은 세포내, 세포외 또는 막횡단으로 특성화될 수 있다. 용어 "세포내"에는 그의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 세포 내측을 지칭하여야 한다. 용어 "세포외"에는 그의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 세포 외측을 지칭하여야 한다. 용어 "막횡단"에는 그의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 세포막에 매립된 폴리펩티드의 적어도 일부를 지칭하여야 한다. 용어 "세포질"에는 그의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 세포막 내측, 핵 외측에 존재하는 것을 지칭하여야 한다. 대상체로의 요법제의 투여의 맥락에서 본원에 사용되는 용어 "치료한다", "치료하는" 및 "치료"에는 그들의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 대상체가 치료법으로부터 얻는 유리한 효과를 지칭하여야 한다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 유전학적으로 엔지니어링된 세포(들)로의 대상체의 치료는 예를 들어, 하기를 포함하는 하기의 효과 중 1, 2, 3, 4개 이상을 달성한다: (i) 질환 또는 그와 연관된 증상의 중증도의 감소 또는 개선; (ii) 질환과 연관된 증상의 기간의 감소; (iii) 질환 또는 그와 연관된 증상의 진행에 대한 보호; (iv) 질환 또는 그와 연관된 증상의 퇴행; (v) 질환과 연관된 증상의 발생 또는 시작에 대한 보호; (vi) 질환과 연관된 증상의 재발에 대한 보호; (vii) 대상체의 입원의 감소; (viii) 입원 기간의 감소; (ix) 질환이 있는 대상체의 생존의 증가; (x) 질환과 연관된 증상의 수의 감소; (xi) 또 다른 치료법의 예방적 또는 치료적 효과(들)의 향상, 개선, 보충, 보완 또는 증가. 투여는 제한 없이 정맥내, 동맥내, 피하, 근육내, 간내, 복강내 및/또는 이환 조직으로의 국소 전달을 포함하는 다양한 경로에 의해 이루어질 수 있다. NK 세포의 용량은 그들의 체중, 질환 유형 및 상태, 및 요망되는 치료 침해력에 기초하여 주어진 대상체에 대하여 용이하게 결정될 수 있지만, 구현예에 따라, kg당 약 10^5 개의 세포 내지 kg당 약 10^{12} 개의 세포의 범위(예를 들어, 10^5 내지 10^7 , 10^7 내지 10^{10} , 10^{10} 내지 10^{12} 및 그 안의 중복 범위)일 수 있다. 일 구현예에서, 용량 증량 섭생법이 사용된다. 몇몇의 구현예에서, 소정의 범위, 예를 들어, 약 1×10^6 개 세포/kg 내지 약 1×10^8 개 세포/kg의 NK 세포가 투여된다. 구현예에 따라, 다양한 유형의 암 또는 감염 질환이 치료될 수 있다. 본원에 제공되는 다양한 구현예는 급성 림프모구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 부신피질 암종, 카포시 육종, 림프종, 위장암, 충수암, 중추신경계 암, 기저 세포 암종, 담도암, 방광암, 골암, 뇌 종양(성상세포종, 척수 종양, 뇌간 교종, 두개인두종, 상외세포종, 상외세포종, 수모세포종, 수질상피종을 포함하나 이들에 한정되지 않음), 유방암, 기관지 종양, 버킷 림프종, 자궁경부암, 결장암, 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수증식성 장애, 도관 암종, 자궁내막암, 식도암, 위암, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 모발상 세포 백혈병, 신장 세포 암, 백혈병, 구강암, 비인두암, 간암, 폐암(비-소세포 폐암(NSCLC) 및 소세포 폐암을 포함하나 이들에 한정되지 않음), 췌장암, 장암, 림프종, 흑색종, 안암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 뇌하수체암, 자궁암 및 질암을 포함하나 이들에 한정되지 않는 하기의 비-제한적인 예의 암의 치료 또는 예방을 포함한다.

[0176]

또한, 본원에 제공되는 다양한 구현예는 예를 들어, 하기의 속 중 하나 이상으로부터의 박테리아로의 감염을 포함할 수 있는 박테리아 기원의 감염을 포함하나 이들에 한정되지 않는 하기의 비-제한적인 예의 감염성 질환의 치료 또는 예방을 포함한다: 보르데텔라(*Bordetella*), 보렐리아(*Borrelia*), 브루셀라(*Brucella*), 캄필로박터(*Campylobacter*), 클라미디아(*Chlamydia*) 및 클라미도필라(*Chlamydomydia*), 클로스트리듐(*Clostridium*), 코리네박테리움(*Corynebacterium*), 엔테로코커스(*Enterococcus*), 에스케리키아(*Escherichia*), 프란시셀라(*Francisella*), 헤모필루스(*Haemophilus*), 헬리코박터(*Helicobacter*), 레지오넬라(*Legionella*), 렙토스피라(*Leptospira*), 리스테리아(*Listeria*), 마이코박테리아(*Mycobacterium*), 마이코플라스마(*Mycoplasma*), 나이세리아(*Neisseria*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 리켓시아(*Rickettsia*), 살모넬라(*Salmonella*), 시겔라(*Shigella*), 스타필로코커스(*Staphylococcus*), 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 트레포네마(*Treponema*), 비브리오(*Vibrio*) 및 예르시니아(*Yersinia*), 및 그의 돌연변이체 또는 조합. 몇몇의 구현예에서, 다양한 바이러스 감염, 예컨대 하나 이상의 바이러스, 예컨대 아데노바이러스, 콕사키바이러스, 엡스테인-바 바이러스, a형 간염 바이러스, b형 간염 바이러스, c형 간염 바이러스, 단순 포진 바이러스, 1형, 단순 포진 바이러스, 2형, 사이토메갈로바이

러스, 에볼라 바이러스, 인간 헤르페스바이러스, 8형, HIV, 인플루엔자 바이러스, 홍역 바이러스, 유행성이하선염 바이러스, 인간 파필로마바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 폴리오바이러스, 공수병 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 풍진 바이러스 및 수두-대상포진 바이러스에 의해 야기되는 것들을 치료하기 위한 방법이 제공된다.

[0177] 일부 구현예에서, 또한, SEQ ID NO. 1 내지 68의 각각의 핵산 또는 아미노산 서열과 비교하여 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%(및 그 안의 범위)의 상동성을 가지며, 또한, 각각의 SEQ ID NO. 1 내지 68과 비교하여 하기를 포함하나 이들에 한정되지 않는 기능 중 하나 이상을 나타내는 핵산 및 아미노산 서열이 본원에 제공된다: (i) 향상된 증식, (ii) 향상된 활성화, (iii) 핵산 및 아미노산 서열에 의해 인코딩되는 수용체를 갖는 NK 세포가 결합하는 리간드를 제시하는 세포에 대한 향상된 세포독성 활성화, (iv) 종양 또는 감염 부위로의 향상된 귀소, (v) 감소된 표적의 세포독성 효과, (vi) 면역자극 사이토카인 및 케모카인(IFN γ , TNF α , IL-22, CCL3, CCL4 및 CCL5를 포함하나 이들에 한정되지 않음)의 향상된 분비, (vii) 추가의 선천 및 적응 면역 반응을 자극하기 위한 향상된 능력, 및 (viii) 그의 조합.

[0178] 또한, 몇몇의 구현예에서, 핵산 코드의 축퇴성을 고려하면서, 본원에 개시된 핵산 중 임의의 것에 상응하는 아미노산 서열이 제공된다. 또한, 본원에 명시적으로 개시된 것들과 달라지지만, 기능적 유사성 또는 등가성을 갖는 서열(핵산이든 아미노산이든)도 또한 본 개시내용의 범주 내에서 고려된다. 전술한 것은 돌연변이, 절단, 치환 또는 다른 유형의 변형을 포함한다.

[0179] 몇몇의 구현예에 따라, 세포의 수용체 도메인으로서, 세포의 수용체 도메인이 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드가 NKG2D의 단편인 세포의 수용체 도메인, 막횡단 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 본원에 제공된다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 단편은 SEQ ID NO. 2 또는 3 또는 68의 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 또는 그의 기능적 등가물에 의해 인코딩된다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 CD16을 포함하는 이펙터 도메인을 인코딩한다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 NCR1을 포함하는 이펙터 도메인을 인코딩한다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 NCR2를 포함하는 이펙터 도메인을 인코딩한다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 NCR3을 포함하는 이펙터 도메인을 인코딩한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 4-1BB를 포함하는 추가의 이펙터 도메인 부분을 인코딩한다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 NKG2D 및 CD16으로 구성된 키메라 수용체를 인코딩한다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 NKG2D 및 NCR1로 구성된 키메라 수용체를 인코딩한다. 몇몇의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 NKG2D 및 NCR2로 구성된 키메라 수용체를 인코딩한다. 추가의 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 CD16 및 선택적으로 4-1BB에 커플링된 NKG2D로 구성된 키메라 수용체를 인코딩한다. 몇몇의 구현예에서, CD16은 구현예에 따라, NCR1에 의해, 일부 구현예에서, NCR2 또는 심지어 NCR3에 의해 대체된다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 예를 들어, 4-1BB와 CD16, NCR1, NCR2 또는 NCR3 중 하나 사이에 GS 링커를 추가로 포함한다.

[0180] 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 힌지 영역을 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 힌지 영역은 CD8a를 포함한다. 그러나, 추가의 구현예에서, 힌지 영역은 일부 구현예에서, GS9, CD8a/GS3, 절단된 CD8a, GS3 등을 포함하는 하나 이상의 링커를 추가로 포함한다.

[0181] 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인은 CD8a 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 이펙터 도메인은 하나 이상의 헤미-ITAM 서열을 포함한다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 DNAX-활성화 단백질 10(DAP10)을 포함하지 않는다. 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체는 ITAM 모티프를 포함하지 않고, 오히려 대안적인 신호전달 영역, 예컨대 ITSM, 헤미-tam 또는 다른 동시-자극 영역을 사용한다.

[0182] 일 구현예에서, 세포의 수용체 도메인으로서, 세포의 수용체 도메인이 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드가 NKG2D의 단편인 세포의 수용체 도메인, 막횡단 영역으로서, 상기 막횡단 영역이 CD8a를 포함하는 막횡단 영역, 및 이펙터 도메인으로서, 상기 이펙터 도메인이 4-1BB 및 CD3 제타를 포함하는 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공되며, 폴리뉴클레오티드는 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)를 인코딩하는 추가의 작제물과 동시-발현된다.

[0183] 또한, 몇몇의 구현예에서, 세포의 수용체 도메인으로서, 세포의 수용체 도메인이 자연 살해 그룹 2 구성원 D(NKG2D)의 고유 리간드에 결합하는 펩티드를 포함하며, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 펩티드가 NKG2D의 단편인 세포의 수용체 도메인, 막횡단 영역으로서, 상기 막횡단 영역이 CD8a를 포함하는 막횡단 영역, 및 이펙터 도메인으로서, 상기 이펙터 도메인이 4-1BB 및 2B4 또는 DAP10의 세포내 도메인을 포함하는 이펙터 도메인을 포

함하는 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 본원에 기재된 바와 같은 키메라 수용체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 제2 펩티드를 포함한다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드는 MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, ULBP3, ULBP4, ULBP5 또는 ULBP6을 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 몇몇의 구현예에서, NKG2D의 고유 리간드에 결합하는 키메라 수용체의 부분은 SEQ ID NO: 1, 2, 3 또는 68과 적어도 80% 상동성을 갖는다.

[0184] 몇몇의 구현예에서, 제공되는 폴리뉴클레오티드는 mRNA이다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 키메라 수용체의 발현을 위하여 적어도 하나의 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다. 본원에 사용되는 용어 "핵산", "뉴클레오티드" 및 "폴리뉴클레오티드"에는 그들의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 데옥시리보뉴클레오티드, 데옥시리보핵산, 리보뉴클레오티드 및 리보핵산 및 그의 폴리머 형태를 포함하여야 하며, 단일- 또는 이중-가닥 형태를 포함한다. 핵산은 자연 발생 핵산, 예컨대 데옥시리보핵산("DNA") 및 리보핵산("RNA"), 및 핵산 유사체를 포함한다. 핵산 유사체는 비-천연 발생 염기, 천연 발생 포스포디에스테르 결합 이외의 다른 뉴클레오티드와의 연결에 참여하는 뉴클레오티드, 또는 포스포디에스테르 결합 이외의 연결을 통해 부착되는 염기를 포함하는 것들을 포함한다. 따라서, 핵산 유사체는 예를 들어, 제한 없이, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 포스포르아미데이트, 보라노포스페이트, 메틸포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2-O-메틸 리보뉴클레오티드, 펩티드-핵산(PNA), 잠금-핵산(locked-nucleic acid; LNA) 등을 포함한다. 예를 들어, 이중 핵산 서열에 "작동 가능하게 연결된" 조절 핵산 서열의 맥락에서 본원에 사용되는 용어 "작동 가능하게 연결된"에는 그의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 조절 핵산 서열이 이중 핵산 서열과 기능적 관계 내로 배치되는 것을 의미하여야 한다. IRES의 맥락에서, "에 작동 가능하게 연결된"은 이중 코딩 서열의 번역을 초래하는 mRNA 서열의 중간에서의 내부 리보솜 진입 부위를 함유하는 핵산 서열과 이중 코딩 서열 개시 간의 기능적 연결을 지칭한다. 본원에 사용되는 용어 "백터"에는 그의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, DNA 또는 RNA 서열(예를 들어, 외래 유전자)이 유전학적으로 엔지니어링된 세포 내로 도입되어, 유전학적으로 엔지니어링된 세포를 형질전환시키고, 도입된 서열의 발현(예를 들어, 전사 및/또는 번역)을 촉진시킬 수 있는 비히클을 지칭하여야 한다. 백터는 바이러스, 플라스미드, 파지 등을 포함한다. 본원에 사용되는 용어 "키메라 수용체"에는 그의 일상적인 의미가 제공되어야 하며, 천연적으로 단일의 단백질 상에서 함께 관찰되지 않는 적어도 2개의 폴리펩티드 도메인을 포함하는 세포-표면 수용체를 지칭하여야 한다. 본원에 사용되는 용어 "키메라 수용체 복합체"는 천연적으로 단일의 단백질 상에서 함께 관찰되지 않는 조합으로, 적어도 2개의 폴리펩티드 도메인을 포함할 수 있는 제1 폴리펩티드를 지칭하며, 제1 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드, 예를 들어, 어댑터 폴리펩티드, 신호전달 분자 또는 자극 분자와 회합된다. 본원에 개시된 키메라 수용체의 생성 및 이용과 관련된 추가의 용어는 해당 분야의 숙련자에 의해 용이하게 이해되며, 또한, 국제 공개 제WO 2014/117121호 및 미국 특허 제7,994,298호에서 찾을 수 있으며, 이의 각각은 본원에 그들 전문이 참조로 포함된다.

[0185] 또한, 몇몇의 구현예에 따라, 본원에 제공되는 폴리뉴클레오티드 중 임의의 것을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 백터가 제공되며, 폴리뉴클레오티드는 키메라 수용체의 발현을 위하여 적어도 하나의 조절 요소에 선택적으로 작동 가능하게 연결된다. 몇몇의 구현예에서, 백터는 레트로바이러스이다.

[0186] 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드, 백터 또는 키메라 수용체를 포함하는 엔지니어링된 자연 살해 세포가 본원에 추가로 제공된다. 몇몇의 구현예에서, 이들 NK 세포는 질환, 예컨대 암 및/또는 감염성 질환의 치료 또는 예방에 사용하기에 적합하다.

[0187] 실시예

[0188] 방법

[0189] 하기의 실험 방법 및 재료를 하기에 개시된 비-제한적인 실험예에서 사용하였다.

[0190] 세포주 및 배양 조건

[0191] 인간 급성 림프모구성 백혈병 세포주 REH, 인간 골육종 세포주 U-2 OS 및 인간 배아 신장 섬유모세포 293T(HEK 293T) 세포를 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection)(ATCC; 미국 버지니아주 머너서스 소재)으로부터 획득하였다. REH 세포를 10% 우태아혈청(FBS; 하이클론(Hyclone), 미국 유타주 로건 소재) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 로즈웰 파크 메모리얼 인스티튜트 시리즈(Roswell Park Memorial Institute series) 1640(RPMI-1640; 집코(Gibco), 미국 캘리포니아주 칼스배드 소재)에서 유지하고, 성장시켰다. HEK 293T 및 U-2 OS 세포 둘 모두를 10% FBS 및 1% 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 돌베코의 변형된 이글스 배지(Dulbecco's modified Eagles Medium)(DMEM; 하이클론(Hyclone))에서 유지하고 성장시켰다. 모든 포유동물 세

포를 5% CO₂와 함께 37°C에서 인큐베이션시켰다.

[0192] DNA 플라스미드

[0193] 키메라 수용체 NKG2D-DAP10-CD3 ζ를 함유하는 DNA 플라스미드를 이전에 기재된 바와 같이(문헌[Chang et al. Cancer Research, Vol. 73(6): 2013] 참조) 제조하였다. 중첩 연장 중합효소 연쇄 반응에 의한 스플라이싱(SOE-PCR)을 사용하여 개별 도메인을 융합시켜, NKG2D-41BB-CD3 ζ 작제물을 형성하였다. 이어서, 상기 작제물을 무린 줄기 세포 바이러스(MSCV) 레트로바이러스 벡터 내로 삽입하였다(도 3a). NKG2D-CD16 및 NKG2D-CD16-41BB에 대한 작제물을 코돈 최적화시키고, 진스크립트(GenScript)(중국 난징 소재)에 의해 MSCV 벡터(도 3b) 내로 삽입하였다. 작제물의 서열을 DNA 시퀀싱에 의해 확인하였다.

[0194] 인간 NK 세포의 증량

[0195] 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 건강한 성인 공여자로부터의 혈액 시료의 피콜(Ficoll) 밀도 원심분리에 의해 획득하였다. NK 세포를 증량시키기 위하여, PBMC를 막 결합된 IL-15 및 4-1BB 리간드로 유전학적으로 변형된 K562(K562-mb15-41BBL)와 함께 배양하였다. 세포를 2일마다 40IU의 IL-2/ml를 보충하는 줄기 세포 성장 배지(SCGM; 셀 제닉스(Cell Genix), 독일 프라이부르크 소재)에서 배양하였다.

[0196] 7일의 배양 후에, NK 세포를 항-CD3 다이내비즈(Dynabeads)(인비트로젠(Invitrogen), 미국 캘리포니아주 칼스배드 소재)를 사용하여 T-세포 고갈시켰다. 이어서, NK 세포를 2일마다 40 내지 200 IU의 IL-2/ml을 보충하는 SCGM에서 배양하였다.

[0197] 레트로바이러스의 생성 및 NK 세포의 형질도입

[0198] HEK 293T 세포를 레트로바이러스 패키징 플라스미드로 일시적으로 트랜스펙션시킴으로써 레트로바이러스의 생성을 수행하였다. HEK 293T 세포를 먼저 트랜스펙션 18시간 전에 12 ml의 DMEM 중에 2.5×10^6 개 세포의 농도로 씨딩하였다. 이어서, 세포를 각각의 NKG2D 키메라 수용체를 함유하는 3.5 μg의 MSCV 벡터(비-제한적인 작제물이 도 1b, 도 1c, 도 2a 및 도 2b에 개략적으로 예시되어 있음), 3.5 μg의 pEQ-PAM3, 및 3.0 μg의 pRDF로 트랜스펙션시켰다. 대조군을 위하여, GFP를 함유하는 빈 MSCV 벡터를 사용하였다. X-tremeGENE 9 DNA 트랜스펙션 시약(로슈(Roche), 스위스 바젤 소재)을 트랜스펙션을 위해 사용하였다. DMEM을 트랜스펙션 24시간 후에 조정된 RPMI-1640으로 대체하였다.

[0199] NK 세포로의 NKG2D 키메라 수용체 트랜스유전자의 형질도입을 배지의 교환 18시간 후에 행하였다. NK 세포를 먼저 2 ml의 조정된 RPMI-1640 중에 0.25×10^6 개의 세포의 농도로 현탁화시켰다. 이후에, 세포를 레트로넥틴(RetroNectin)(다카라(TaKaRa), 일본 오즈 소재) 코팅된 튜브 내로 씨딩하였다. 레트로바이러스를 함유하는 RPMI-1640(바이러스 상층액)을 HEK 293T 세포 배양물로부터 수거하고, 신선한 조정 배지를 다시 배양물에 첨가하였다. 바이러스 상층액에 200 IU의 IL-2/ml을 보충하고, 3 ml의 바이러스 상층액을 각각의 레트로넥틴 코팅된 튜브(씨딩된 NK 세포 함유) 내로 분배하였다. NK 세포의 생성의 특정 구현예에 따라, 씨딩된 NK 세포를 6회, 신선한 바이러스 배지를 사용하여 12시간마다 1회 형질도입하였다. 이어서, 형질도입된 NK 세포를 마지막 형질도입 48시간 후에 수거하고, 2일마다 200 IU의 IL-2/ml을 첨가하여, SCGM 중에 배양하였다. 형질도입된 NK 세포를 증량 14 내지 28일 후에 실험을 위해 사용하였다.

[0200] 유세포분석에 의한 키메라 수용체 발현의 검출

[0201] 형질도입된 NK 세포를 알부민을 함유하는 인산염-완충 염수로 1회 세척하고, 2 μl의 토끼 혈청을 첨가하였다. 이어서, 세포를 암 중에 10분 동안 페리디닌 클로로필(PerCP)-컨쥬게이트된 항-인간 NKG2D 항체(클론 149810; 알앤디 시스템즈(R&D Systems), 미국 미니애폴리스 소재)로 염색하였다. 대조군에 있어서, 형질도입된 NK 세포를 각각의 PerCP-컨쥬게이트된 IgG 아이소타입 항체로 염색하였다. 모든 NK 세포를 다시 세척하고, 300 μl의 0.5% 포름알데히드로 고정 한 후, 아큐리(Accuri) C6 유세포분석기(BD, 미국 뉴저지주 프랭클린 레이크스 소재)를 사용하여 분석하였다. 데이터를 대응 t-검정을 사용하여 분석하였다.

[0202] 세포독성 검정

[0203] REH 세포를 칼세인 AM 레드-오렌지(red-orange)(썬모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific), 미국 매사추세츠주 윌섬 소재)로 염색하였다. REH 세포를 96-웰 둥근 바닥 플레이트(코스타(CoStar), 미국 뉴욕주 코닝 소재) 내로 씨딩하였다. 이어서, 형질도입된 NK 세포를 다양한 이펙터:표적(E:T) 비로 첨가하였다. 세포 배양물을 37°C에서 CO₂ 5%로 4시간 동안 인큐베이션시켰다. 염색된 생존 가능한 표적 세포를 아큐리 C6 유세포분석기

를 사용하여 계수하였다. U-2 OS 세포를 96-웰 평면 바닥 백색 플레이트(코스타) 내로 씨딩하고, 4시간 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 형질도입된 NK 세포를 상이한 E:T 비에 따라 첨가하였다. 이어서, 세포 배양물을 또 다른 4시간 동안 인큐베이션시켰다. 분석 이전에, 브라이트-글로(Bright-Glo) 기질(프로메가(Promega), 미국 위스콘신주 매디슨 소재)을 세포에 첨가하였다. 생존 가능한 표적 세포로부터의 발광의 세기를 FLx800 형광 판독기(바이오 테크(Bio Tek), 미국 버몬트주 위누스키 소재)를 사용하여 측정하였다. 발광의 세기와 대조군 간의 차이를 세포독성 백분율로 전환시켰다.

[0204] 인터페론 감마($IFN\gamma$) 생성 검정

[0205] NK 세포에 의해 생성되는 $IFN\gamma$ 의 양을 결정하기 위하여, 이펙터 및 표적 세포를 먼저 96-웰 둥근 바닥 플레이트에서 REH와 함께(1:1의 E:T) 또는 이것 없이, 배양하였다. 세포를 1시간 동안 인큐베이션한 후에, 골지플러그(GolgiPlug)(브레펠딘(brefeldin) A; 비디 바이오사이언스즈(BD Biosciences))를 첨가하였다. 또 다시 5시간의 배양 후에, 세포를 피코에리트린(PE)-컨쥬게이트된 항-인간 CD56 항체(클론 MY31, 비디 바이오사이언스즈)로 표지하였다. 세포를 전매 투과화 시약을 사용하여 투과화시키고, 암 중에 40분 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 세포를 전매 세척 완충제로 세척하였다. 세포내 $IFN\gamma$ 를 45분 동안 알로피코시아닌(APC)-컨쥬게이트된 $IFN\gamma$ 항체(클론 25723.11; 비디 바이오사이언스즈)로 검출하였다. 이어서, 세포를 고정하고, 아큐리 C6 유세포분석기를 사용하여 분석하였다.

[0206] 실시예 1 - CD3-제타 함유 NKG2D 작제물

[0207] 본원에 개시된 바와 같이, 다양한 막횡단 및/또는 신호전달 도메인과 커플링된 NKG2D 및/또는 NKG2D 변이체를 포함하는 다양한 작제물이 제공된다. 본 실험을 행하여, CD3-제타 신호전달 도메인을 포함하는 작제물의 발현 및 세포독성 활성을 평가하였다. 2개의 CD3-제타 작제물을 제조하고, 상기 기재된 방법 및 재료에 따라 시험하였다. 작제물에 따라, 사용되는 방법은 작제물을 생성하고, 발현시키고, 시험하기 위해 필요한 변화를 고려하기 위하여 용이하게 조정될 수 있다. 2개의 작제물은 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 및 NKG2D-41BB-CD3 ζ 였다. 참조를 위하여, 도 1a는 내인성 NKG2D를 개략적으로 도시한 것이다. NK 세포에서, NKG2D의 막횡단 영역 사이의 이온성 상호작용은 그의 어댑터 단백질 DAP10과의 회합을 가능하게 한다(문헌[Wu et al., 1999]). 리간드 결합 시에, NKG2D 신호는 DAP10 상에서 관찰되는 신호전달 모티프, YxNM을 통해 전달된다. CD3 ζ 는 그의 면역수용체 티로신-기반의 활성화 모티프(ITAM; 문헌[Lanier, 2008])를 통해 신호를 전달한다. 2개의 실험적 작제물은 도 1b 및 도 1c에 각각 개략적으로 예시되어 있다. 도 1b는 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 를 보여주며, 신호전달은 YxNM 및 ITAM 모티프 둘 모두를 통하여 발생한다. 도 1c는 NKG2D-41BB-CD3 ζ 작제물을 보여주며, 이는 CD8a 힌지 영역을 막횡단 도메인으로서, 그리고 4-1BB 및 CD3 ζ 를 신호전달 도메인으로서 사용한다.

[0208] 이들 작제물을 효율적으로 발현하는 NK 세포의 능력을 먼저 평가하였다. 건강한 성인 공여자의 PBMC로부터 증량된 NK 세포를 2개의 키메라 수용체 중 하나로 형질도입하였다. 모의-형질도입된 NK 세포를 대조군으로서 사용하였다(GFP만을 함유하는 빈 MSCV 벡터로 형질도입). 키메라 수용체의 존재 및 상대 존재비를 Per-CP 컨쥬게이트된 항-NKG2D 항체로의 NK 세포의 염색을 통해 결정하였다. 도 4a는 모의(좌측 패널), NKG2D-DAP10-CD3 ζ (중앙 패널) 또는 NKG2D-41BB-CD3 ζ (우측 패널) 작제물로의 형질도입 후의 NKG2D-양성 NK 세포의 백분율과 관련된 대표적인 유세포분석법 데이터를 도시한 것이다. 모의 형질도입된 NK 세포는 사용되는 항체로 NKG2D 발현을 보이지 않은 한편(활성화된 NK 세포 상에서의 천연적으로 높은 NKG2D 발현에도 불구하고, 아이소타입-일치된 비-반응성 항체를 초과하는 염색을 보이지 않음), NKG2D-DAP10-CD3 ζ 작제물로 형질도입된 세포의 60% 미만, 및 NKG2D-41BB-CD3 ζ 로 형질도입된 NK 세포의 80% 초과가 아이소타입-일치된 비-반응성 항체 대조군을 초과하는 NKG2D 발현을 나타내었다. 모든 공여자로부터의 NKG2D 양성 NK 세포의 백분율에 대한 풀링된 데이터는 도 4b에 나타나 있다. 둘 모두의 엔지니어링된 NKG2D 작제물은 모의에 비하여, NKG2D 발현의 상당한 증가를 초래하지만, 2개의 작제물의 발현 백분율 간에는 유의미한 차이가 존재하지 않는다. 도 4c는 NKG2D 작제물을 발현하는 집단 내에서, 세포가 작제물을 발현하는 정도를 나타내는 평균 형광 세기(MFI)에 기초한 발현 데이터를 도시한 것이다(예를 들어, 세포당 다수의 카피의 작제물은 더 큰 MFI를 제공할 것이다). 이러한 척도에 의해, NKG2D-41BB-CD3 ζ 의 발현은 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 작제물의 발현보다 유의미하게 더 크다.

[0209] 종합하여, 이들 데이터는 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따라, 엔지니어링된 작제물이 NK 세포 상에서 성공적으로 발현될 수 있음을 입증한다. 몇몇의 구현예에서, 향상된 작제물의 발현은 특정 작제물로의 NK 세포의 반복된 형질도입에 의해 달성될 수 있다. 몇몇의 구현예에서, 작제물의 성분은 단일의 벡터에서, 또는 대안적으로, 다수의 벡터를 사용하여 세포로 전달될 수 있다. 구현예에 따라, 작제물 그 자체는 향상된 발현을 야기할 수 있으며, 예를 들어, 선형 또는 헤드 투 테일 작제물은 다수의 서브유닛 작제물이 필요로 하는 더 적은 정도의 세

포-내 어셈블리 때문에, 증가된 발현을 제공할 수 있다.

[0210] 또한, NK 세포 상에서 NKG2D 작제물을 성공적으로 발현시키기 위해, NK 세포의 효과적인 신호전달이 표적 세포에서 작용하는 것이 요구된다. 형질도입된 NK 세포의 두 집단의 효력을 평가하기 위해, NK 세포 활성화에 민감성인 세포주, REH(현탁 세포) 및 U-2 OS(부착 세포)를 사용하여 세포독성 검정을 수행하였다. 2가지의 E:T 비에서, 독립적인 공여자에 걸친, REH 세포에 대한 상이한 군의 NK 세포의 세포독성 백분율을 요약한 데이터는 도 5A 내지 도 5C에 나타나 있다(오차 막대는 표준 편차를 나타내며; 모든 실험을 3별로 행한다; n = 3(P < 0.001)). 도 5A 내지 도 5C에 도시된 바와 같이, 어느 하나의 NKG2D 키메라 수용체((a) 표지된 화살표로 나타낸 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 및 (b) 표지된 화살표로 나타낸 NKG2D-41BB-CD3 ζ)를 발현하는 NK 세포는 모든 3명의 공여자에 있어서, 모의 NK 세포((c) 표지된 화살표로 나타냄)에 비해 REH에 대하여 유의미하게 더 높은 세포독성을 가졌다. NKG2D-DAP10-CD3 ζ-발현 NK 세포의 평균 세포독성 백분율은 91.8% ± 5.8%(1:1 E:T 비) 및 83.9% ± 5.6%(1:2 E:T 비)였다. NKG2D-41BB-CD3 ζ로 형질도입된 이들 NK 세포는 유사한 효력을 보였다 - 1:1 E:T 비에서 87.4% ± 6.1% 및 1:2 E:T 비에서 76.2% ± 4.8%. 키메라 수용체-발현 NK 세포는 또한 모의-형질도입된 NK 세포와 비교하는 경우 U-2 OS에 대하여 증가된 세포독성을 보였다(도 6A 내지 도 6C 참조, 도 6A는 (a) 표지된 화살표로 나타낸 NKG2D-DAP10-CD3 ζ를 도시한 것이며, 도 6B는 (b) 표지된 화살표로 나타낸 NKG2D-41BB-CD3 ζ를 도시한 것이며, 도 6C는 (c) 표지된 화살표로 나타낸 모의 NK 세포를 도시한 것이다).

[0211] 이들 데이터는 NK 세포가 키메라 수용체 작제물을 발현하도록 엔지니어링될 수 있을 뿐 아니라, 키메라 수용체를 발현하는 이들 세포가 활성화되고, 표적 세포에 대하여 향상된 세포독성 효과를 성공적으로 생성할 수 있다는 증거를 제공한다. 중요한 것은, 이들 데이터가 또한 더 많은 수의 표적 세포(이 실험에서 배가됨)가 존재하는 경우에, 세포 효력의 오직 약간의 감소만이 존재하는 것을 보여준다는 것이다. 이는 임상적 이용의 경우일 것과 같이, 심지어 NK 세포가 표적 세포에 비하여 더 작은 수로 존재하는 경우에도 엔지니어링된 NK 세포의 요망되는 세포독성 효과가 여전히 실현될 수 있는 것을 뒷받침한다. 또한, 이들 데이터는 일부 구현예에 따라, 주어진 NK 세포 상에서의 키메라 수용체 발현의 더 적은 밀도 또는 정도가 반드시 대등하게 감소된 세포독성 효과를 초래하지 않으며, 그들의 더 적은 작제물 발현을 고려하여, NK 세포의 예기치 않은 효능과 연관될 수 있다는 것을 나타낸다. 또한, 이들 데이터는 몇몇의 구현예에 따라 달성되는 예기치 않게 향상된 세포독성을 구현한다. 비-엔지니어링된 NK 세포가 세포독성이며, 활성화 시에 유의미한 양의 NKG2D를 발현하지만, 본원에 개시된 엔지니어링된 세포가 세포독성 효과를 이미 상승된 상한으로 고려될 수 있는 것(예를 들어, 고유 NK 세포 세포독성)을 유의미하게 넘어서게 할 수 있는 것은 예기치 못한 것이다.

[0212] 세포독성 데이터에 추가하여, 다양한 NKG2D 작제물을 발현하는 NK 세포에 의한 인터페론-감마(IFN γ)의 생성을 평가함으로써 NK 세포가 이들 효과를 발휘하는 메커니즘을 시험하였다. IFN γ는 NK 세포에 의해 생성되고 방출되는 주요 사이토카인이며, 이는 대식구를 동원하며, 면역자극 효과를 갖는다. 도 7a는 REH 세포에 의한 자극과 함께 또는 이것 없이, 모의(좌측 패널), NKG2D-DAP10-CD3 ζ-발현 NK 세포(중앙 패널) 및 NKG2D-41BB-CD3 ζ-발현 NK 세포(우측 패널)에서의 상대적인 IFN γ의 생성량(MFI에 의해 측정)을 보여준다. NK 세포를 세포내 IFN γ에 대한 APC-컨쥬게이트된 항-IFN γ 항체에 의해 염색하였다. 데이터를 대응 t 검정에 의해 분석하였다. 이들 데이터는 3개의 NK 세포의 군의 각각이 자극 없이 유사한 수준의 IFN γ 생성을 갖는 것으로 관찰되며, REH 세포에 의한 자극 후에 증가가 관찰되는 것을 보여준다. 몇몇의 구현예에 대하여 제공되는 바와 같이, NKG2D 작제물을 발현하는 엔지니어링된 NK 세포는 강력한 사이토카인 생성을 야기할 수 있다. 엔지니어링된 NK 세포가 반응하는 표적 세포(본원에서 REH 세포)의 존재는 생화학적 캐스케이드를 진행시키며, 이는 IFN γ 생성 및 궁극적으로 세포독성 효과를 야기한다. 도 7a에 나타낸 바와 같이, NKG2D-41BB-CD3 ζ-발현 NK 세포는 자극성 REH 세포의 존재 하에 강력한 IFN γ의 생성을 보여준다. 흥미롭게도, NKG2D-DAP10-CD3 ζ-발현 NK 세포는 유사한 정도의 반응을 보이지 못하였다. 이는 REH 세포로의 자극 후에 상이한 군의 NK 세포 간의 IFN γ의 수준을 평가한 도 7b(중간값이 나타나 있으며; 데이터를 비-대응 t 검정에 의해 분석하였음)에서 추가로 입증된다. 모든 IFN γ 실험을 3명의 독립적인 공여자, n = 9를 사용하여 3별로 행하였다. 도 7b는 NKG2D-DAP10-CD3 ζ-발현 NK 세포에 의한 IFN γ 생성이 모의-형질도입된 NK 세포와 유의미하게 상이하지 않았음을 보여준다. 대조적으로, NKG2D-41BB-CD3 ζ-발현 NK 세포는 모의-형질도입된 NK 세포에 비하여, IFN γ 생성의 유의미한 증가를 보인다. 그들이 본원에 논의된 바와 같이, 리간드 결합에 반응하는 키메라 수용체에 의한 신호전달이 관심 표적 세포에 대한 세포독성 효과를 생성하는데 필수적인 단계임을 나타내기 때문에, 이들 데이터는 흥미로운 것이다. 그러나, 2개의 상이한 키메라 수용체로 형질도입된 NK 세포 둘 모두가 상대적으로 유사한 세포독성을 나타내지만 반영하는 IFN γ 생성 수준이 존재하지 않기 때문에, 다양한 작제물이 신호전달하는 단일의 경로는 존재하지 않는다. 따라서, 일부 구현예에 따라, 정상적인 NK 세포에 비하여, IFN γ 또는 다른 면역자극 사이토카인의 상승된 생성을 통하여 세포독성 효과를 달성하는 작제물이 제공된다. 그러나, 몇몇의 구현예에서, 증가된 IFN γ의 생성은 반드시 달성되지

나 검출되지 않고, 오히려, 주어진 키메라 작제물에 의하여 또 다른 면역자극 경로가 이용되어, 상승된 세포독성 효과를 달성할 수 있다.

[0213] 실시예 2 - CD16 및 CD16-4-1BB 함유 NKG2D 작제물

[0214] 발현, 세포독성 및 사이토카인 생성을 평가하기 위하여 추가의 작제물을 생성하였다. 본원에 제공된 바와 같이, 몇몇의 구현에는 CD16 막횡단 및/또는 신호전달 도메인을 사용하는, 절단된 NKG2D(일부 구현예에서, 코돈 최적화됨)를 포함하는 작제물에 관한 것이다. 이러한 실험에서의 평가를 위하여 생성된 작제물은 도 2a 및 도 2b에 개략적으로 나타나 있으며, 이는 a) NKG2D-CD16 및 b) NKG2D-CD16-41BB 키메라 수용체의 구조를 보여준다. 두 키메라 수용체 모두는 CD3 ζ 또는 FcR γ 중 어느 하나와 회합하기 위하여 CD16의 막횡단 영역에 의존한다. 이들 작제물을 생성하기 위해 사용되는 플라스미드는 도 3b에 나타나 있다. 상기 논의된 바와 같이, 몇몇의 구현예에서, 사용되는 작제물은 CD3 ζ 또는 FcR γ 의 내인성 발현에 의존하지만, 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체를 인코딩하는 플라스미드(또는 개별 플라스미드)는 NK 세포에 의한 CD3 ζ 및/또는 FcR γ 의 발현을 상승시켜, 그에 의해, 세포의 효력을 향상시키도록 구성된다.

[0215] 상기와 같이, 작제물의 발현 수준을 평가하였다. 도 8a는 모의(좌측 패널), NKG2D-DAP10-CD3 ζ -발현 NK 세포(중앙 패널) 및 NKG2D-CD16-발현 NK 세포에 대한 대표적인 유세포분석법 데이터를 도시한 것이다(상이한 기호로 나타낸 3명의 독립적인 공여자로부터의 세포를 사용하여 실험을 행하였다. 데이터를 대응 t 검정에 의해 분석하였다). 도 8b는 NKG2D(및 이에 따라 작제물)를 발현하는 세포의 백분율에 관한 요약 데이터를 보여준다. 예상되는 바와 같이, 모의-트랜스펙션된 NK 세포는 사용되는 항체와 함께, 낮은 수준의 NKG2D 발현을 보인다. 대조적으로, 엔지니어링된 작제물 둘 모두는 유의미하게 향상된 발현을 나타내었으며, NKG2D-CD16-형질도입된 NK 세포는 모의-형질도입된 NK 세포에 비하여 35.8% \pm 6.9% 더 큰 발현을 발현하였다. 또한, MFI에 의해 평가되는 바와 같이(도 8c), NKG2D-CD16-형질도입된 NK 세포는 또한, 증가된 작제물의 발현을 나타내었다. 이들 데이터는 작제물이 NK 세포 내로 효율적으로 도입될 수 있으며 발현되는 것을 입증하는데 중요하다.

[0216] 작제물의 발현이 확립되면, 세포독성 효과를 나타내는 그들의 능력을 평가하였다. 상기 논의된 바와 같이, 3명의 공여자로부터의 NK 세포를 각각 3가지의 E:T 비에서, REH 세포 및 U-2 OS 세포에 대한 세포독성 효과에 대하여 시험하였다(모든 실험을 3벌로 행하였다, n=3). 흥미롭게도, 모의 NK 세포에 비하여 향상된 NKG2D-CD16 작제물의 발현은 증가된 세포독성을 초래하지 않았다(도 9A 내지 도 9C 참조, 오차 막대는 표준 편차를 나타냄). 이전의 실시예에서와 같이, NKG2D-DAP10-CD3 ζ -발현 NK 세포((a) 표지된 화살표로 나타냄)는 증가된 세포독성을 나타내지 않았다. U-2 OS 세포에 대한 세포독성에 관하여, NKG2D-CD16((b) 표지된 화살표로 나타냄)은 모의 NK 세포((c) 표지된 화살표로 나타냄)에 비하여 증가된 세포독성을 나타내지 않았다(도 10A 내지 도 10C 참조). 이들 데이터는 특정한 주어진 표적 세포 유형에 대한 세포독성 영향의 정도가 사용되는 NK 작제물과 함께 달라질 수 있는 것을 나타낸다. 일부 구현예에서, 특정 작제물은 유효하지 않을 수 있지만, 몇몇의 구현예에서, NK 세포의 집단의 조합이 사용될 수 있으며, 상승적 효과를 나타낸다. 다시 말하면, 일부가 NKG2D-CD16을 발현하며, 일부가 NKG2D-DAP10-CD3 ζ 를 발현하는 NK 세포의 집단(또는 본원에 개시된 작제물 중 임의의 것의 다른 조합)은 단독의 어느 하나의 하위-집단에 비하여 예기치 않게 향상된 세포독성을 나타낼 수 있다.

[0217] 다음으로, 인터페론- γ 생성을 측정하여, 트랜스펙션된 NK 세포의 작용 메커니즘을 확인하였다. 다양한 작제물을 발현하는 NK 세포를 REH 세포에 의해 자극하거나, 자극하지 않았으며, IFN γ 의 생성을 측정하였다. 이들 데이터는 도 11에 나타나 있다(데이터를 대응 t 검정에 의해 분석하였다). 모든 NK 세포의 군은 자극 없이 유사한 수준의 IFN γ 를 가졌으며, REH 세포와의 인큐베이션 후에 증가되었다. NKG2D-CD16-발현 NK 세포는 634 \pm 211 MFI의 IFN γ 생성의 증가를 나타내었으며, 이는 모의-형질도입된 NK 세포에 의해 나타나는 증가(423 \pm 70 MFI)보다 더 컸다. 그러나, 상기 증가는 2041 \pm 411 MFI 증가된 NKG2D-DAP10-CD3 ζ -발현 NK 세포에 대하여 관찰되는 증가보다 더 낮았다. 데이터와 일치하게, 몇몇의 구현예에 따라, IFN γ 의 생성은 특정 작제물을 발현하는 NK 세포가 나타내는 세포독성 효과와 연관된다.

[0218] 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따라, 다수의 신호전달 영역이 사용될 수 있다. 추가의 실험을 행하여, 증량된 NK 세포에서 NKG2D-CD16-41BB의 발현을 평가하였다(실험을 1명의 공여자로부터의 세포를 사용하여 행하였다). 발현 데이터는 도 12a 및 도 12b에 나타나 있다. 도 12a는 4-1BB 신호전달 영역의 첨가가 NKG2D-CD16 작제물에 비하여, NK 세포에 의한 작제물의 발현을 유의미하게 손상시키지 않는 것을 입증하는 유세포분석법 미가공 데이터를 보여준다. 이것은 또한, 시험되는 NK 세포 군의 각각의 표면 상에서의 상대적인 NKG2D 수용체의 양을 보여주는 도 12b의 요약 히스토그램에 반영된다. NKG2D-CD16-41BB는 NKG2D-CD16에 비하여 약간 감소된 MFI를 보이지만, 두 작제물 모두는 모의에 비하여 상승된 발현을 보인다.

[0219] 세포독성 효과를 표적으로서 REH 및 U-2 OS 세포 둘 모두를 사용하여 상기 기재된 바와 같이 평가하였다. 도 13A 및 도 13B는 생성된 데이터를 도시한 것이다(오차 막대는 표준 편차를 나타내며; 모든 실험을 3별로 행하였다, $n = 3$). 도 13A는 REH 세포에 대한 작제물의 세포독성 효과를 보여준다. 상기 실험과 유사하게, (b) 표지된 화살표로 나타낸 NKG2D-CD16-발현 세포는 (a) 표지된 화살표로 나타낸 모의 NK 세포에 비하여 유의미하게 상승된 세포독성 효과를 보이지 않았다. 대조적으로, ((c) 표지된 화살표로 나타낸) NKG2D-CD16-41BB를 발현하는 NK 세포는 REH 세포에 대하여 향상된 세포독성을 보였다. U-2 OS 세포에 대한 효능에 관하여, NKG2D-CD16 및 NKG2D-CD16-41BB 발현 세포는 둘 모두 향상된 세포독성을 보였으며, NKG2D-CD16-41BB 발현 세포는 더욱 강력한 세포독성 효과를 나타내었다. 이는 몇몇의 구현예에 따라, 신호전달 도메인의 조합의 이용이 형질도입된 NK 세포의 효능의 예기치 않은 향상을 초래할 수 있음을 보여준다. 따라서, 상기 기재된 바와 같이, 몇몇의 구현예는 함께 상승적으로 작용하는 2개 이상의 막형단/신호전달 도메인을 사용하여, 표적 세포에 대하여 향상된 세포독성을 제공한다.

[0220] 실시예 3 - 추가의 NKG2D 작제물

[0221] 다양한 세포의 도메인, 막형단 도메인 및 세포내 이펙터 도메인이 있는 추가의 작제물을 생성하여, 그들의 발현 및 세포독성을 평가하였다. 이러한 실험에서의 평가를 위해 생성된 12개의 작제물은 도 14에 개략적으로 나타나 있다. 이들 변이체 키메라 수용체의 일부는 CD3 ζ 또는 FcR γ 중 어느 하나와 회합하기 위하여 CD16 막형단 영역에 의존한다. 상기 논의된 바와 같이, 몇몇의 구현예에서, 사용되는 작제물은 CD3 ζ 또는 FcR γ 의 내인성 발현에 의존하지만, 몇몇의 구현예에서, 키메라 수용체를 인코딩하는 플라스미드(또는 개별 플라스미드)는 NK 세포에 의한 CD3 ζ 및/또는 FcR γ 의 발현을 상승시켜, 그에 의해 세포의 효력을 향상시키도록 구성된다. 상기와 같이, 작제물의 발현 수준을 평가하였다. 모의-트랜스펙션된 NK 세포는 MFI에 의해 평가시 낮은 수준의 NKG2D 발현을 보여준다(도 16a). 대조적으로, 상기 기재된 변이체 NKG2D 작제물로 형질도입된 NK 세포는 다양한 수준의 NKG2D의 발현을 보였으며, 엔지니어링된 변이체 작제물 4 및 9는 NK 세포에서 유의미하게 향상된 발현을 나타내었다. 도 16b는 2명의 공여자의 NK 세포로의 형질도입 후의 변이체 NKG2D 작제물 1, 4, 8, 9에 대한 대표적인 유세포분석법 데이터를 도시한 것이다. 모의-형질도입된 NK 세포에 비하여, 변이체 8- 및 9-형질도입된 NK 세포는 특히 강력한 키메라 수용체의 발현을 보였다. 변이체 작제물 발현은 형질도입 7일 후에, 2명의 공여자의 NK 세포에서 지속되었으며, 변이체 8 및 9는 MFI에 의해 평가시 특히 향상된 수준을 보여준다(도 16c). 이들 데이터는 작제물이 NK 세포 내로 효율적으로 도입될 수 있고, 발현되는 것을 입증하는데 중요하다. 작제물의 발현이 확립되면, 형질도입된 NK 세포에서 세포독성 효과를 전달하는 그들의 능력도 또한 평가하였다. NKG2D 변이체 작제물 4, 8 및 9의 세포독성을 1:1 E:T 비에서의 NK 세포 내로의 형질도입 14일 후에 평가하였다(도 17).

[0222] 추가의 변이체 작제물을 생성하고, 도 15에 개략적으로 나타내었으며, 이는 다양한 세포의 도메인, 막형단 도메인 및 세포내 이펙터 도메인을 포함하는 키메라 수용체의 구조를 보여준다. 이들 변이체 키메라 수용체의 일부는 리간드 결합 시에 신호전달을 전달하기 위하여 CD3제타 및/또는 또 다른 신호전달 도메인을 포함하는 이펙터 도메인에 의존하지만, 다른 변이체 키메라 수용체는 이량체화를 통하여 전장 CD3제타 분자를 시냅스에 동원하는 CD3제타 막형단 도메인을 포함한다. 상기와 같이, 작제물의 발현 수준을 평가하였다. MFI에 의해 평가되는 바와 같이(도 18a 및 도 18b), 엔지니어링된 작제물로 형질도입된 NK 세포는 모의 형질도입된 세포에 비하여 증가된 키메라 수용체의 발현을 나타내었다. 1:1의 이펙터:표적 비를 사용하여 상기 기재된 바와 같이 세포독성 효과를 평가하였다. 도 19a 및 도 19b에 도시된 바와 같이, 엔지니어링된 작제물(특히 변이체 18)로 형질도입된 NK 세포는 모의 대조군에 비하여 향상된 세포독성을 갖는다.

[0223] 변이체 18이 향상된 세포독성 효과를 동반하는 NK 세포에서 강력한 발현을 나타내기 때문에, CD3제타 막형단 도메인을 포함하는 일련의 변이체 NKG2D 작제물을 생성하였다. 이들 변이체는 "NK39"로 명명되어 있고, 도 15에 개략적으로 나타나 있다. (낮은 IL-2 조건에서의 4일의 배양과 함께) 공여자 NK 세포로의 트랜스펙션 14일 후에, 형질도입된 NK 세포의 세포독성을 평가하였다. 도 21은 1:1 및 1:2 E:T 비에서, 배양된 REH 세포에 대한 작제물의 세포독성 효과를 보여준다. 엔지니어링된 NK39 작제물을 발현하는 모든 NK 세포는 1:1 E:T 비에서 대조군 NK 세포에 비하여 유의미하게 상승된 세포독성 효과를 나타내었다. 1:2 E:T 비에서 평가되는 경우, 키메라 작제물 16-7, 39-1, 39-2, 39-3 및 39-5는 각각 모의 대조군에 비하여 그들의 각각의 형질도입된 NK 세포의 세포독성 효과를 향상시켰다. 활성화 수용체의 외인성 발현이 NK 세포 아네르키 및 세포사를 야기할 수 있기 때문에, 엔지니어링된 작제물을 2개의 공여자 NK 세포 내로 형질도입하였으며, 21일 후에 생존을 평가하였다. 도 23a 및 도 23b에 도시된 바와 같이, NK39-5 및 NK39-10 형질도입된 세포는 2명의 시험된 공여자에서 NK16보다 더 나은 생존을 보인다.

[0224] 실시예 4 - NK45 NKG2D 작제물의 평가

[0225] 본원에 개시된 구현예에 따른 다양한 세포의 도메인, 힌지, 막횡단 도메인 및 세포내 이펙터 도메인을 갖는 추가의 작제물은 도 22에 개략적으로 나타나 있다. 이들 7가지의 작제물에 의해 매개되는 발현, 세포독성, 지속성 및 사이토카인 생성을 실시예 3에 기재된 NK39 작제물 중 3가지(NK39-5, NK39-6, NK39-10) 및 막-결합된 인터류킨 15를 비시스트론적으로 발현하는 NK16의 버전(NK26-8)과 비교하여 이러한 실시예에서 평가하였다. 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따라, 다수의 신호전달 영역이 사용될 수 있다. 이들 변이체 키메라 수용체의 일부는 리간드 결합 시에 신호전달을 전달하기 위하여 CD3제타 및/또는 또 다른 신호전달 도메인(예를 들어, OX40, CD28 및/또는 4-1BB 동시자극 도메인)을 포함하는 이펙터 도메인에 의존하는 한편, 다른 변이체 키메라 수용체는 이량체화를 통하여 전장 CD3제타 분자를 시냅스에 동원하는 CD3제타 막횡단 도메인을 포함한다. 본원에 개시된 바와 같이, 이들 작제물은 추가로 막-결합된 IL15를 동시-발현하도록 구성된다.

[0226] 상기와 같이, 이들 작제물을 효율적으로 발현하는 NK 세포의 능력을 먼저 평가하였다. 4명의 공여자의 PBMC로부터 증량된 NK 세포를 변이체 작제물(또는 GFP만을 함유하는 빈 MSCV 대조군 벡터)로 형질도입하였으며, NKG2D 발현을 3일 후에 MFI에 의해 평가하였다. 도 24에 도시된 바와 같이, 모의-트랜스팩션된 NK 세포는 상대적으로 낮은 수준의 NKG2D 발현을 보여준다. 대조적으로, 엔지니어링된 변이체 작제물은 유의미하게 향상된 발현을 나타내었으며, NK45-4(NKG2D-OX40-CD3 ζ)는 모든 공여자에서 놀랍게도 강력한 발현을 보여준다. OX40은 활성화된 NK 세포에서 발현되지만, 그의 역할은 널리-확립되어 있지 않다. CD28 동시자극 도메인을 함유하는 이펙터 도메인이 있는 변이체 키메라 수용체(NK45-2; NKG2D-CD28-CD3 ζ)는 또한, 형질도입 3일 후에 강력한 발현을 보여주었다.

[0227] 변이체 작제물의 발현이 확립되면, 표적으로서 REH 및 HL60 세포를 사용하여, 상기와 같이 세포독성 효과를 발휘하는 그들의 능력을 평가하였다. 형질도입 14일 후에, 1:1 E:T 비에서 REH 세포(도 25a) 및 HL60 세포(도 25b)에 대하여 4명의 공여자로부터의 NK 세포의 효력을 시험하였다. 도 25a 및 도 25b에 도시된 바와 같이, 엔지니어링된 작제물은 모의 NK 세포에 비하여, 4명의 공여자 모두에서 REH 및 HL60 세포 둘 모두에 대하여 향상된 세포독성을 발휘하였다. 그의 두드러진 발현 프로파일에 더하여, NK45-4를 발현하는 세포(NKG2D-OX40-CD3 ζ)는 또한, 모의 대조군 및 시험되는 다른 작제물에 비하여 놀랍게도 상승된 세포독성을 나타내었다. NK45-1 및 NK45-2를 발현하는 NK 세포는 또한, 이들 검정에서 두드러진 세포독성을 보였다. 이들 데이터는 몇몇의 구현예에 따라, 신호전달 도메인의 조합(특히 OX40 동시자극 도메인)의 이용이 형질도입된 NK 세포의 효능의 예기치 않은 향상을 초래할 수 있음을 보여준다. 도 28a 및 도 28b는 다양한 E:T 비(1:2 및 1:4)에서 몇몇의 변이체 작제물로 형질도입되고, 더욱 연장된 기간에 걸쳐 평가되는 NK 세포의 U2OS 세포에 대한 세포독성 활성을 도시한 것이다. 놀랍게도, 45-4 작제물로 형질도입된 NK 세포는 시간 경과를 통하여 세포독성 활성을 유지하는 것으로 보인다. 유리하게는, 이들 실험은 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따라, NKG2D 변이체 작제물이 구현예에 따라, 2 내지 3일, 3 내지 5일, 5 내지 7일, 7 내지 8일, 8 내지 10일, 10 내지 14일, 14 내지 21일 또는 21 내지 50일의 범위(및 중점을 포함하는 열거된 것들 사이의 임의의 범위)일 수 있는 연장된 기간에 걸쳐 예기치 않게 향상된 세포독성을 제공하는 것을 나타낸다. 몇몇의 구현예에서, 훨씬 더 긴 세포독성 효과의 기간이 달성된다.

[0228] 세포독성 데이터에 추가로, REH 세포로의 자극 후에 그들의 IFN γ, TNF α 및 GM-CSF의 생성을 평가함으로써 NK 세포가 이들 효과를 발휘하는 메커니즘을 시험하였다. 도 26a 내지 도 26c에 도시된 바와 같이, 변이체 작제물의 각각의 발현은 GFP-발현 대조군 NK 세포에 의해 나타나는 IFN γ, TNF α 및 GM-CSF의 생성에 비하여 향상된 사이토카인 분비를 제공하였다. 키메라 수용체 NK45-1은 지속적으로 높은 사이토카인 생성을 매개하였으며, 이러한 작제물이 NK26-8(그것은 힌지 영역에 관해서만 상이함)보다 실질적으로 더 낮은 수준으로 발현하기 때문에 이는 놀라운 것이다. 따라서, 이들 데이터는 자극에 반응하여 강력한 사이토카인 생성을 매개하기 위한, 본원에 개시된 힌지 영역의 예기치 않은 중요성을 보여준다. 또한, NKG2D-OX40-CD3 ζ-발현 NK 세포는 또한 IFN γ, TNF α 및 GM-CSF의 상승된 생성을 보여주었다.

[0229] 활성화 수용체의 외인성 발현이 NK 세포 아네르기 및 세포사를 야기할 수 있기 때문에, 엔지니어링된 작제물을 2명의 공여자 NK 세포 내로 형질도입하였으며, 총 세포 계수를 형질도입 후 7, 14 및 21일에 평가하였다. 놀랍게도, 총 세포 계수가 GFP-발현 대조군 세포와 유사한 수준으로 유지되기 때문에, NK45-4의 예기치 않게 강력한 발현은 배양 중인 감소된 NK 세포 지속성을 희생시키지 않는다(도 27a 및 도 27b). 마찬가지로, 변이체 작제물을 높은 수준으로 발현하는 다른 NK 세포는 형질도입 후 적어도 3주 동안 2명의 공여자에서 계속 증식하였다. 종합하여, 이들 데이터는 본원에 개시된 몇몇의 구현예에 따라, 엔지니어링된 작제물이 NK 세포에서 높은 수준으로 성공적으로 발현되고, 세포독성 효과를 매개할 수 있으며, 추가로 이러한 향상된 발현이 감소된 NK 세포

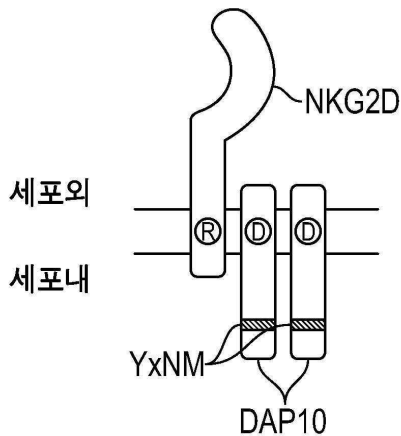
증식 및/또는 생존을 손상시키지 않는 것을 보여준다.

[0230] 상기 개시된 구현예의 특정 특징 및 양태의 다양한 조합 또는 하위조합이 이루어질 수 있고, 여전히 본 발명 중 하나 이상에 속하는 것으로 생각된다. 더욱이, 일 구현예와 연관되는 임의의 특정 특징, 양태, 방법, 성질, 특성, 품질, 속성, 요소 등의 본원의 개시내용은 본원에 제시된 모든 다른 구현예에서 사용될 수 있다. 따라서, 개시된 구현예의 다양한 특징 및 양태는 다양한 방식의 개시된 발명을 형성하기 위해 서로 조합되거나 치환될 수 있음을 이해하여야 한다. 이에 따라, 본원에 개시된 본 발명의 범위는 상기 기재된 특정 개시된 구현예에 의해 한정되지 않아야 하는 것으로 의도된다. 더욱이, 본 발명이 다양한 수정 및 대안의 형태에 영향을 받기 쉽지만, 그 특정 예가 도면에 도시되고 본원에 상세히 기재되어 있다. 그러나, 본 발명은 개시된 특정 형태 또는 방법으로 한정되는 것이 아니라, 반대로, 본 발명은 기재된 다양한 구현예 및 첨부된 청구범위의 취지 및 범위 내에 속하는 모든 수정, 균등물 및 대안을 망라하는 것임을 이해하여야 한다. 본원에 개시된 임의의 방법은 나열된 순서로 수행될 필요는 없다. 본원에 개시된 방법은 실행자가 취하는 특정 행동을 포함하지만; 그들은 명시적으로 또는 암시에 의해 그들 행동의 임의의 제3자의 지시를 포함할 수 있다. 예를 들어, "증량된 NK 세포의 집단을 투여하는 것"과 같은 행동은 "증량된 NK 세포의 집단의 투여를 지시하는 것"을 포함한다. 또한, 개시내용의 특징 또는 양태가 마쿠쉬 그룹에 관하여 기재되는 경우, 해당 분야의 숙련자는 본 개시내용이 또한 그에 의해 마쿠쉬 그룹의 임의의 개별 구성원 또는 그의 구성원의 하위그룹에 관하여 기재되는 것을 인식할 것이다.

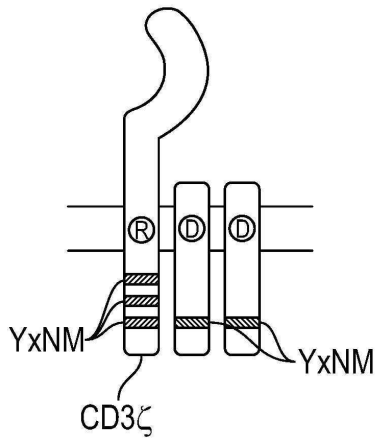
[0231] 본원에 개시된 범위는 또한 임의의 및 모든 중첩, 하위-범위, 및 그의 조합을 포함한다. "까지", "적어도", "초과", "미만", "사이" 등과 같은 언어는 나열된 수를 포함한다. "약" 또는 "대략"과 같은 용어가 선행하는 수는 나열된 수를 포함한다. 예를 들어, "약 90%"는 "90%"를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 95% 상동성은 참조 서열에 대한 96%, 97%, 98%, 99% 및 100% 상동성을 포함한다. 또한, 서열이 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열을 "포함하는" 것으로 개시되는 경우, 이러한 참조서열은 다르게 나타내지 않는 한, 서열이 언급된 서열을 "포함하거나", "이로 이루어지거나", 또는 "본질적으로 이로 이루어지는" 것을 포함하여야 한다.

도면

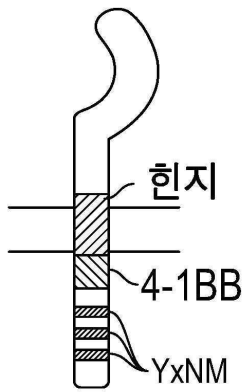
도면 1a



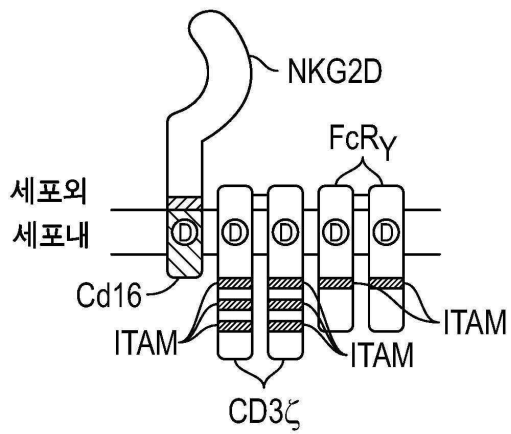
도면1b



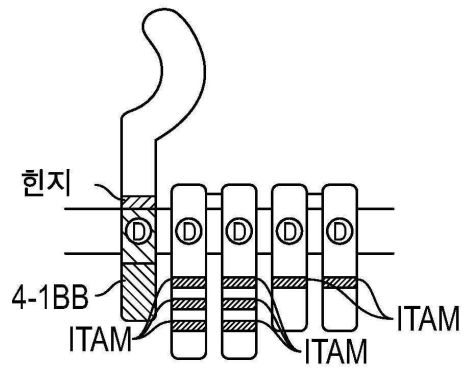
도면1c



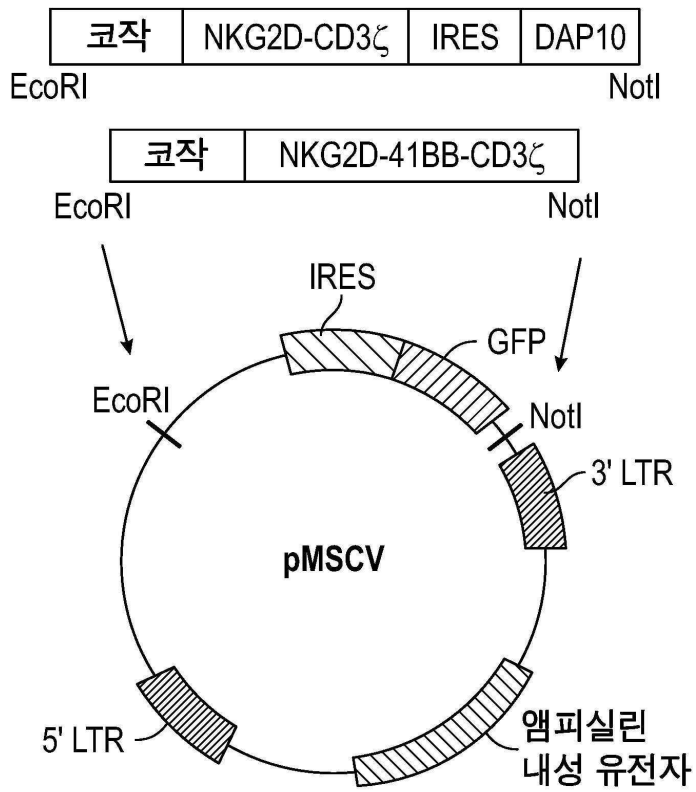
도면2a



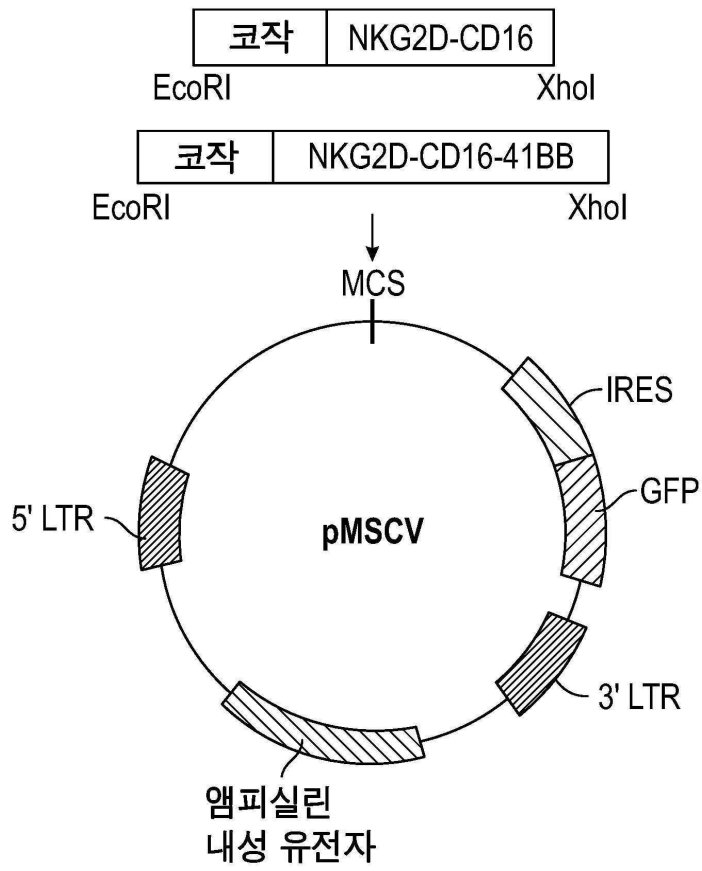
도면2b



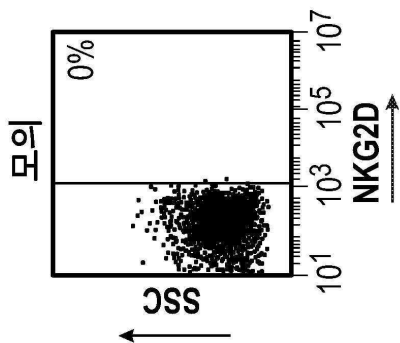
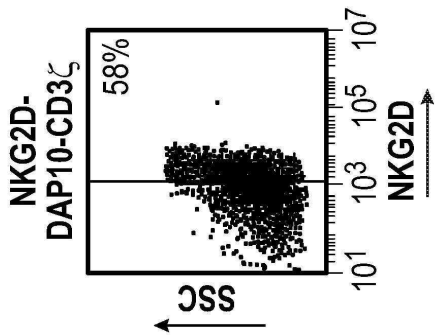
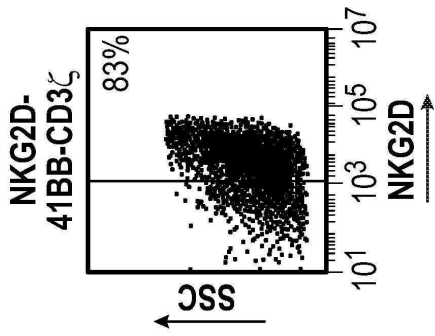
도면3a



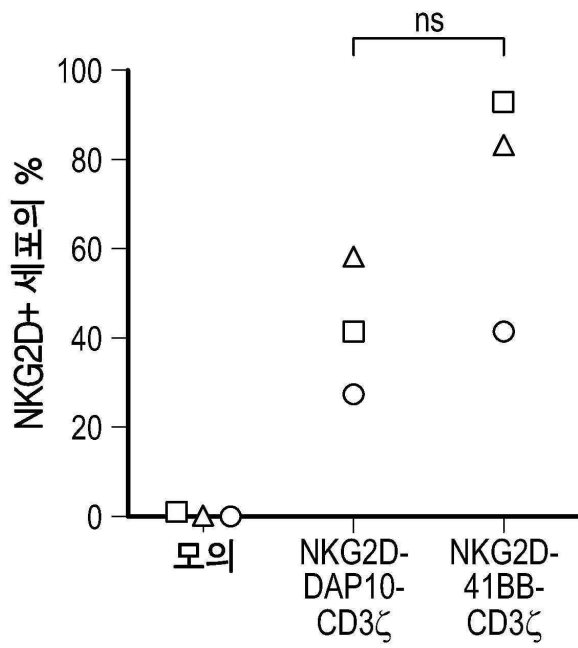
도면 3b



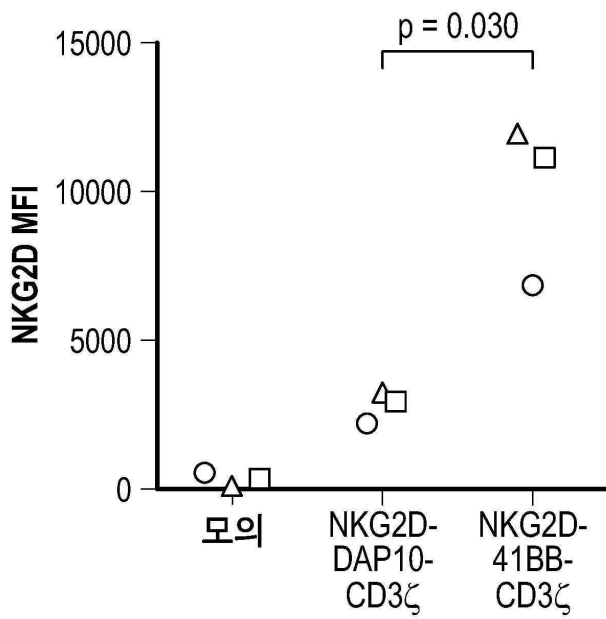
도면4a



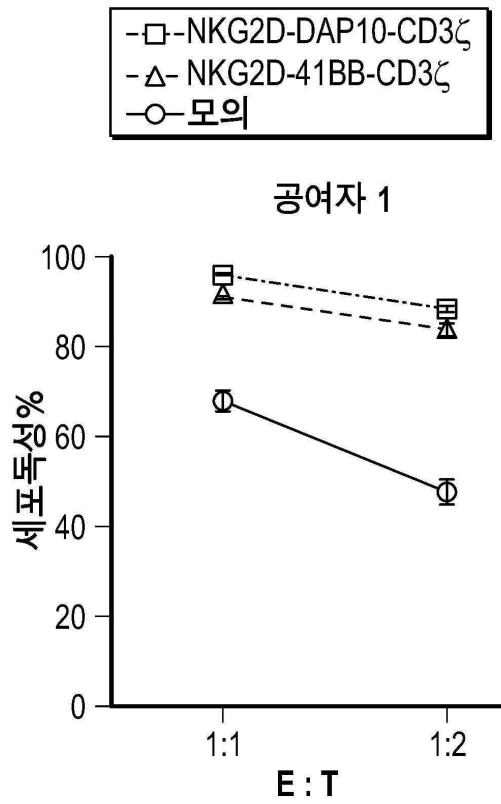
도면4b



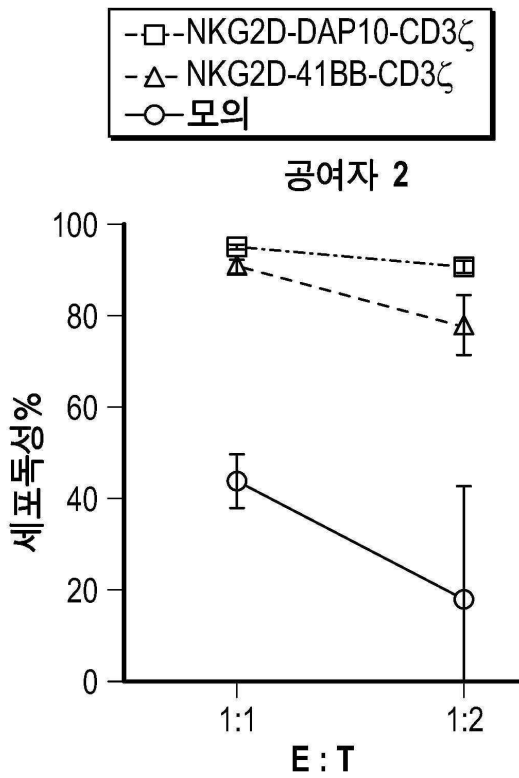
도면4c



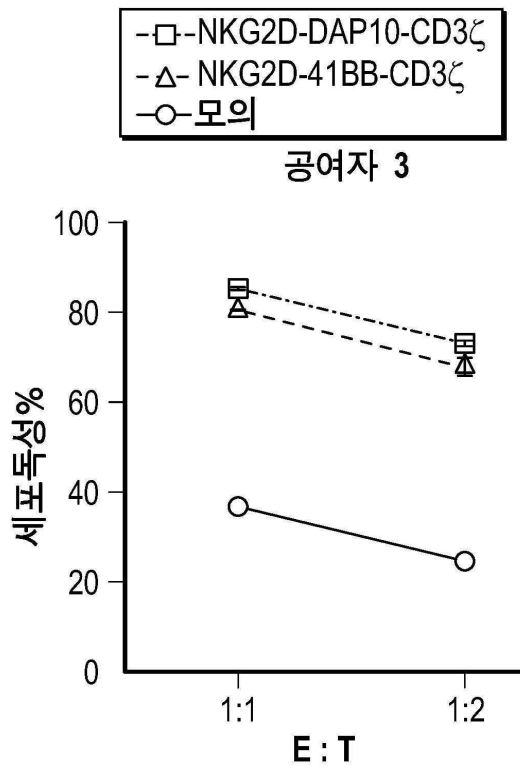
도면5a



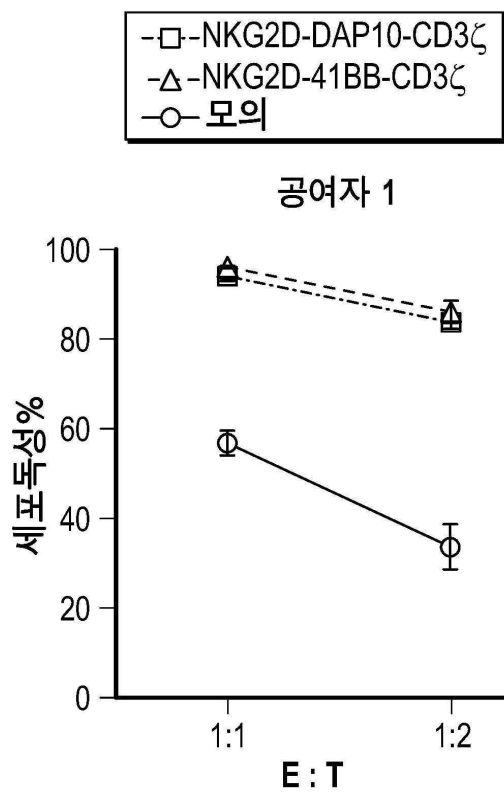
도면5b



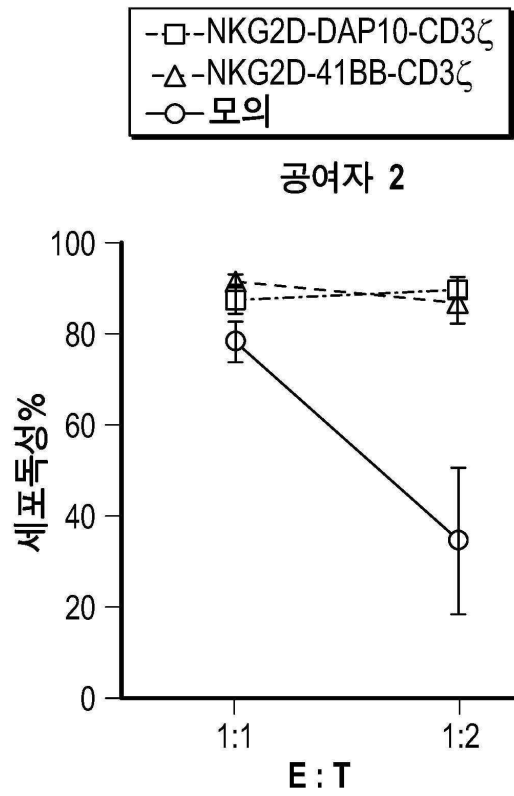
도면5c



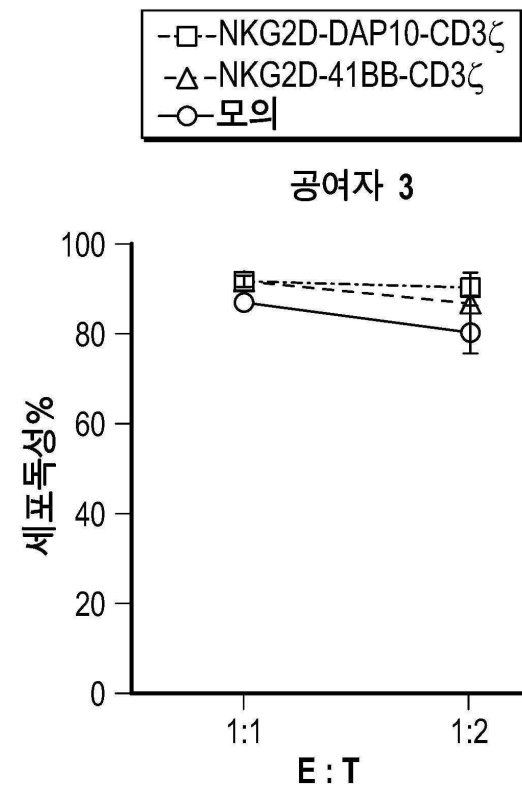
도면6a



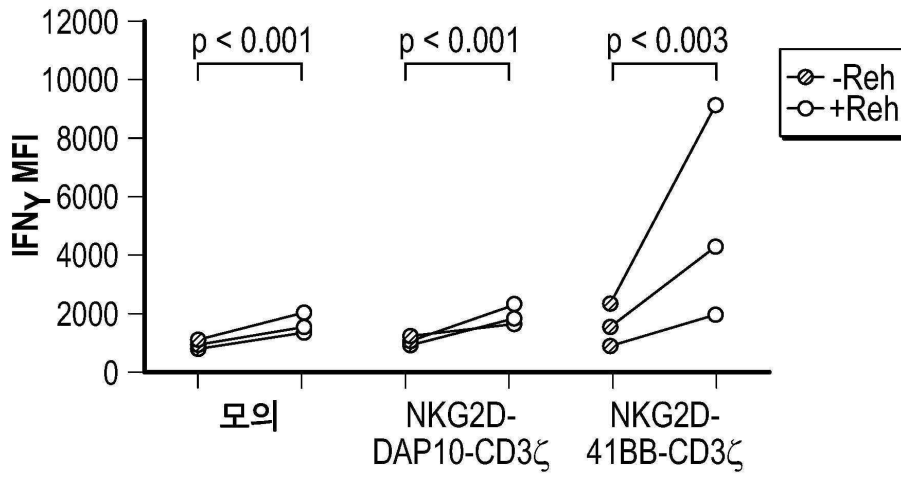
도면6b



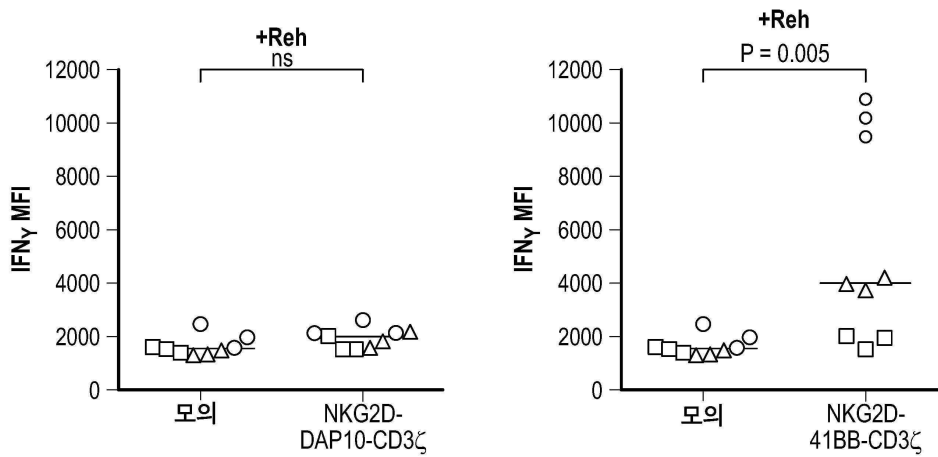
도면6c



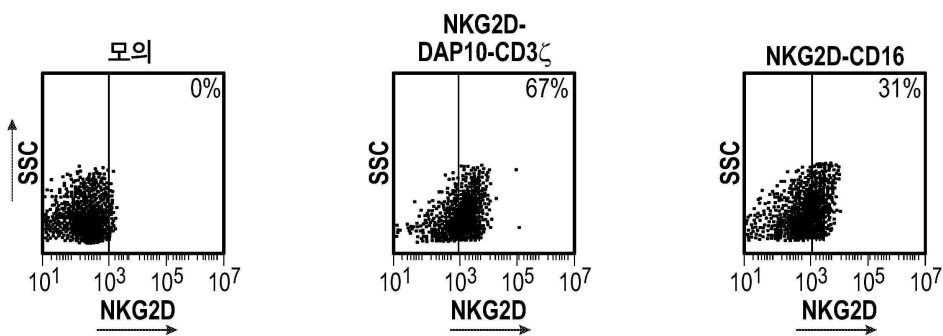
도면7a



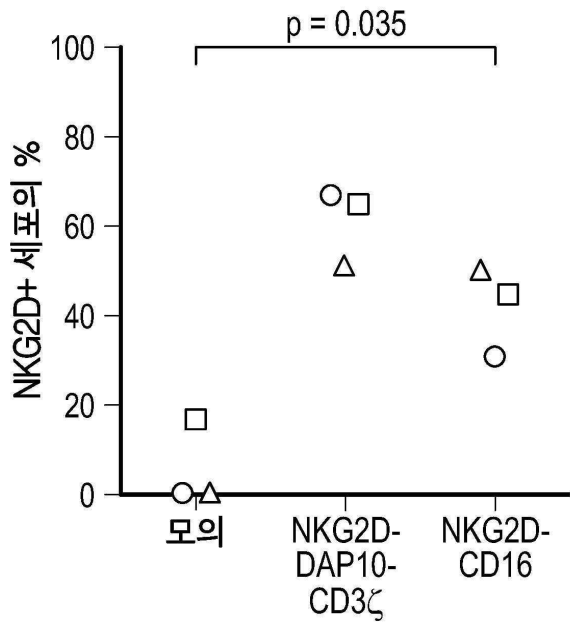
도면7b



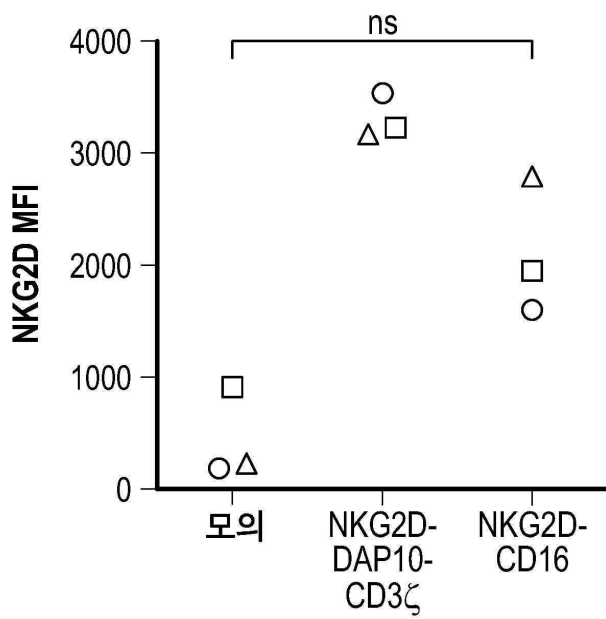
도면8a



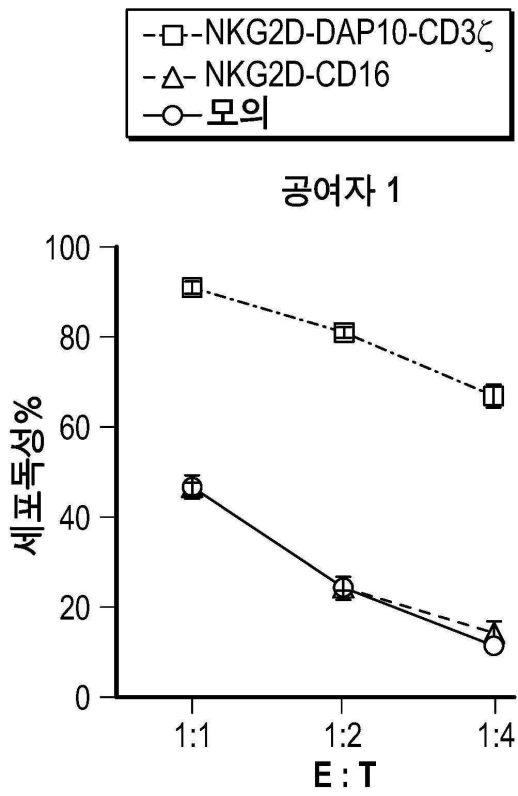
도면8b



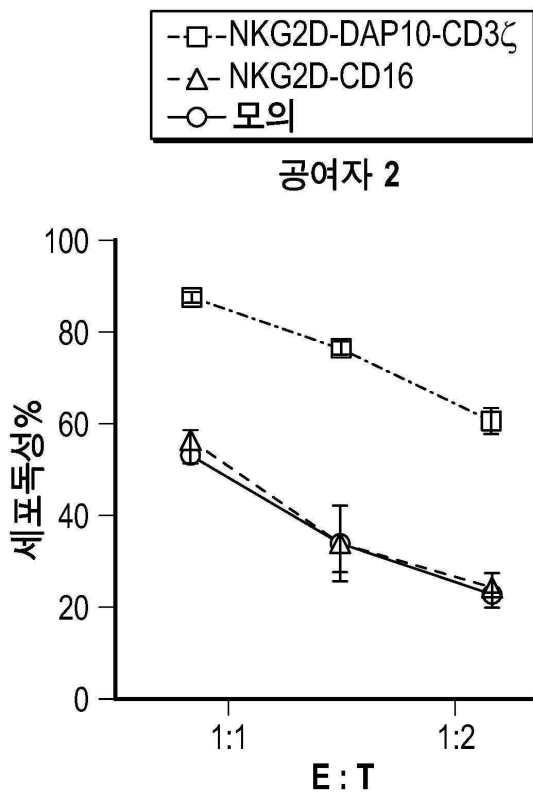
도면8c



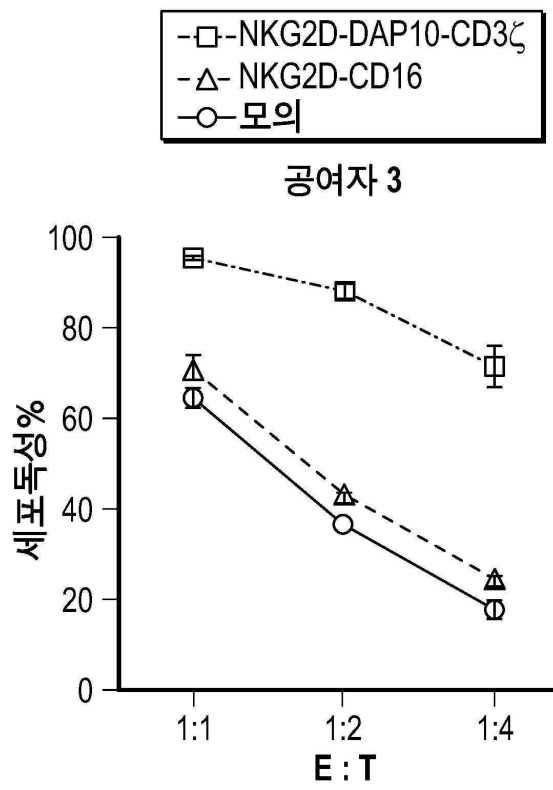
도면9a



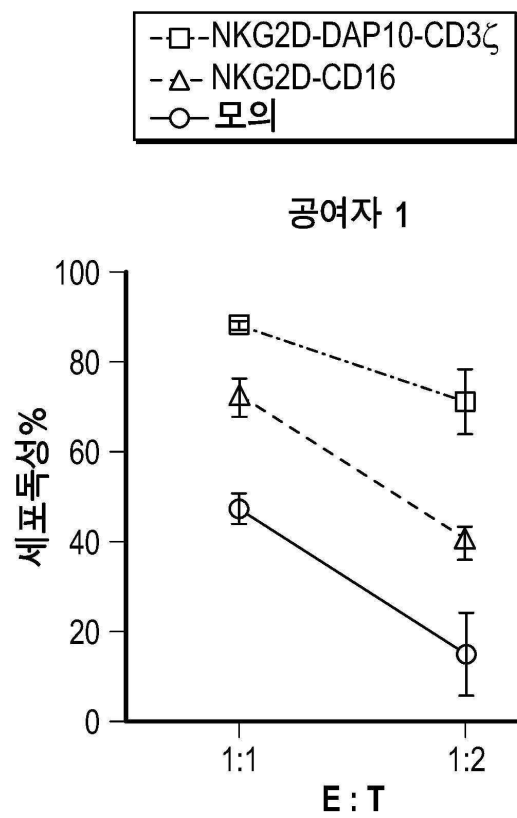
도면9b



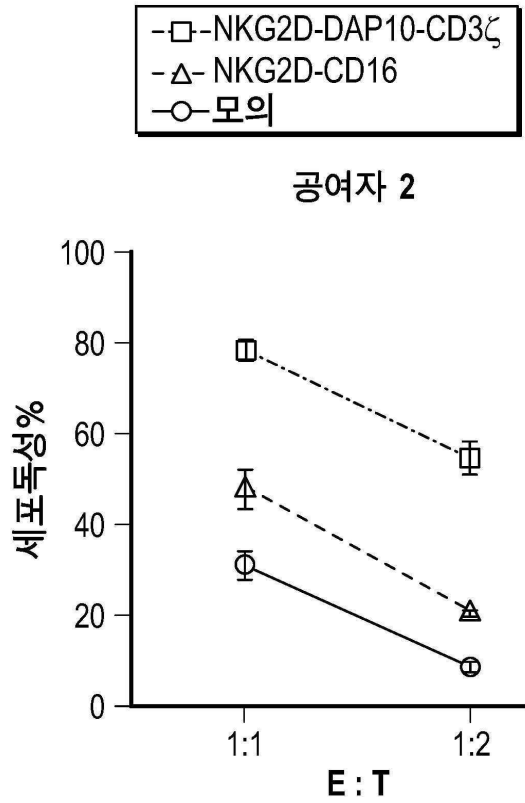
도면9c



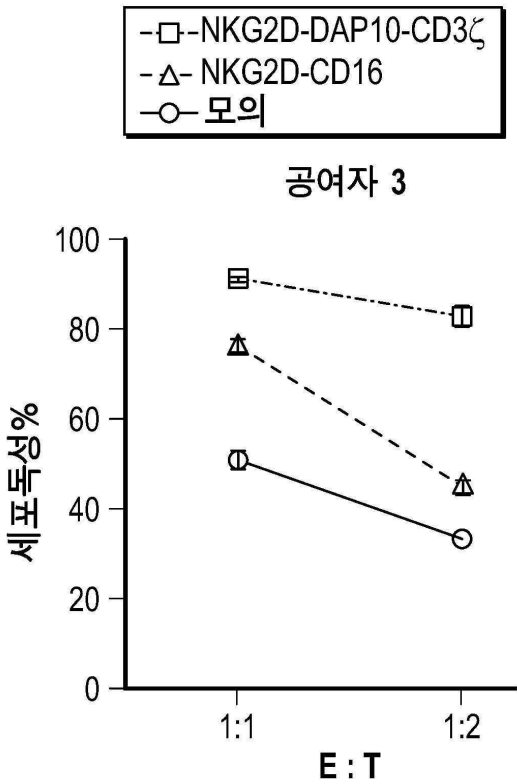
도면10a



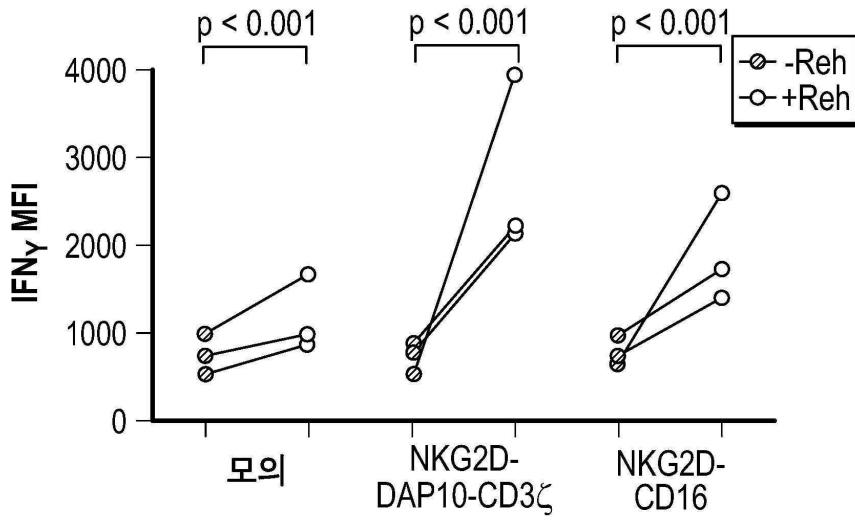
도면10b



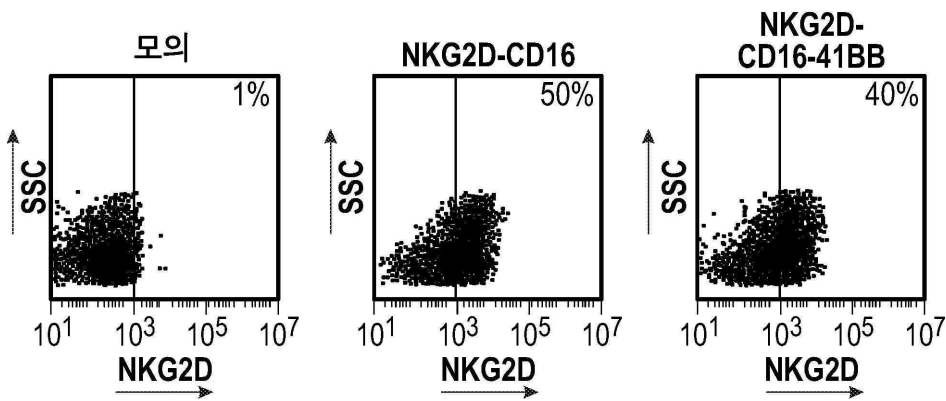
도면10c



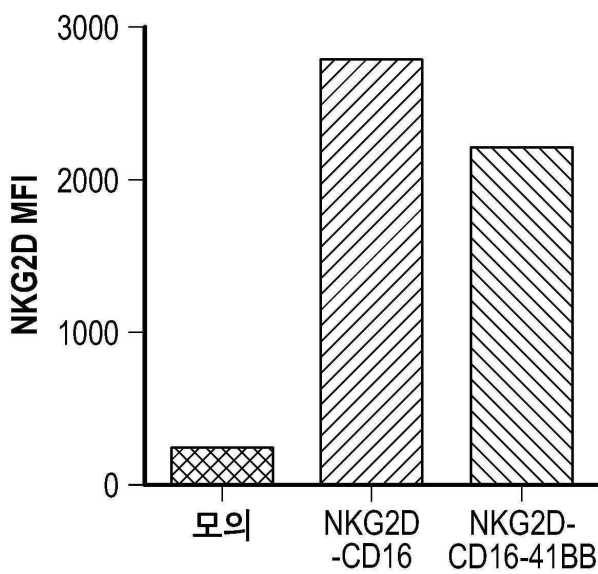
도면11



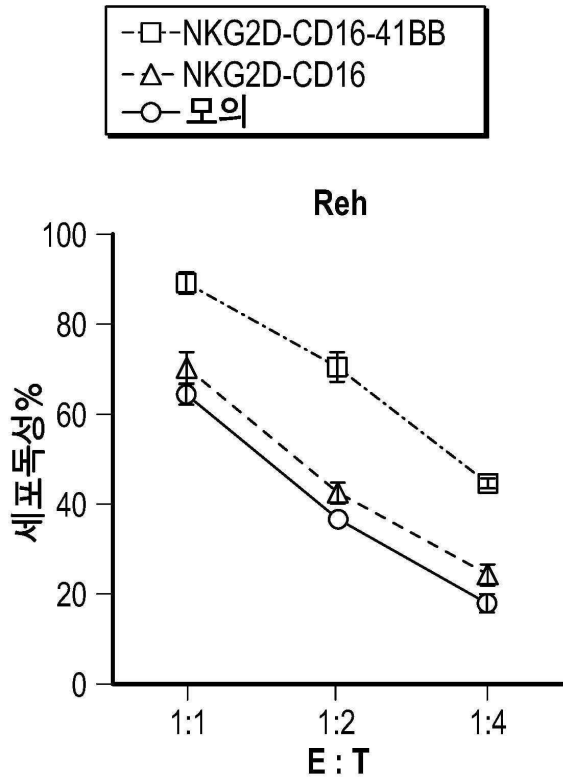
도면12a



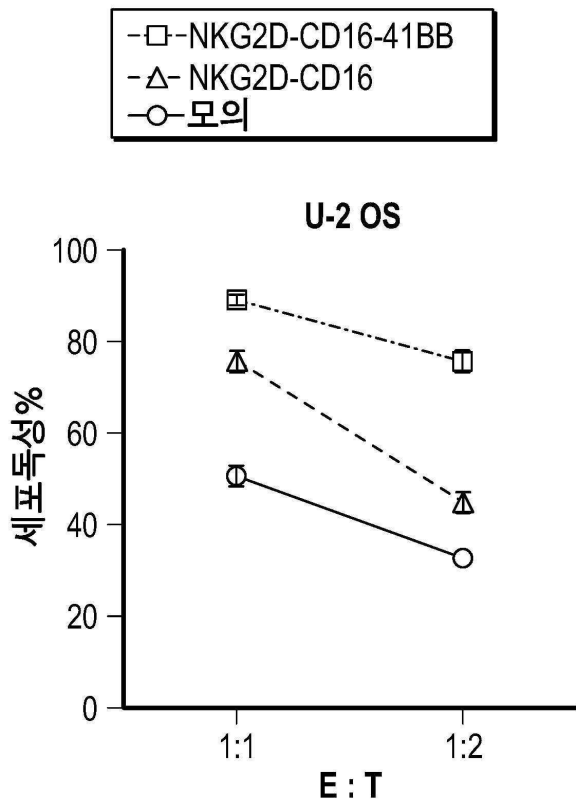
도면12b



도면13a



도면13b



도면14

NK15	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD16 TM/IC	4-1BB
변이체 1	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ CD8 α 힌지	CD16 TM/IC	4-1BB
변이체 2	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ CD16 TM/IC	4-1BB	
변이체 3	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD16 TM/IC	4-1BB	
변이체 4	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB 2B4
변이체 5	NKG2D EC	ADRB2 EC	ADRB2 TM	4-1BB 2B4
변이체 6	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB 2B4 GS ₃ NKp80
변이체 7	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB GS ₃ NKp80
변이체 8	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ NKG2D EC	ADRB2 EC	ADRB2 TM 4-1BB GS ₃ NKp80
변이체 9	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM 4-1BB GS ₃ NKp80
변이체 10	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD16 TM/IC 4-1BB
변이체 11	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD16 TM/IC	4-1BB 2B4
변이체 12	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD16 TM/IC	4-1BB GS ₃ NKp80

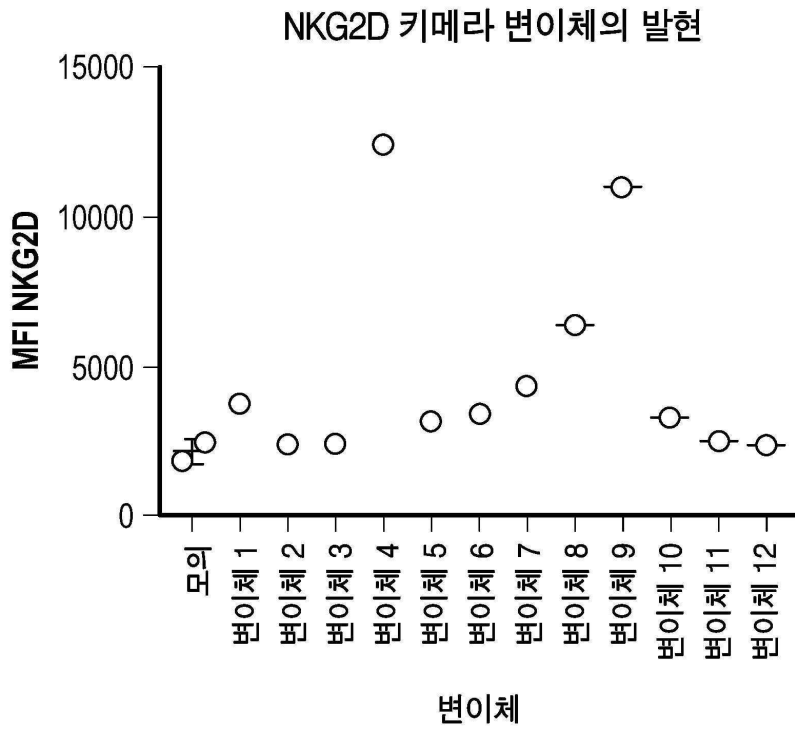
도면15a

NK16	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB	CD3 ζ ITAM
변이체 13	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB 2B4	CD3 ζ ITAM
변이체 14	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB	DAP10 IC
변이체 15	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB	DAP10 IC 2B4
변이체 16	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB 2B4	DAP10 IC
변이체 17	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD8 α TM 4-1BB	CD3 ζ ITAM
변이체 18 (NK39)	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	CD16 IC	4-1BB
NK39_1	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM CD16 IC	4-1BB 2A mMIL-15
NK39_2	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	CD16 IC	4-1BB GS ₃ NKp80 2A mMIL-15

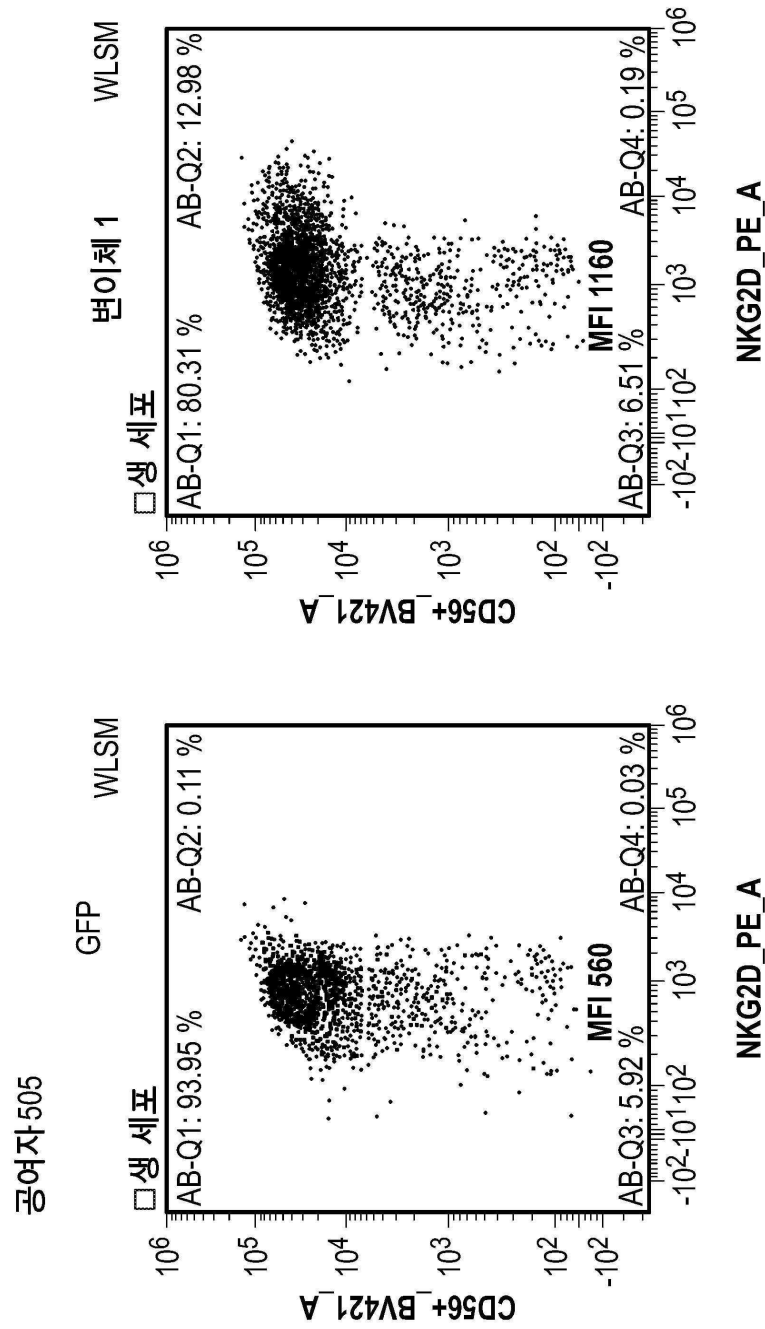
도면15b

NK39_3	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ NKG2D EC CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	CD16 IC	4-1BB	GS ₃ NKp80	mIL-15
NK39_4	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	4-1BB	2A	mIL-15	
NK39_5	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	4-1BB	CD3Zeta	2A	mIL-15
NK39_6	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	4-1BB	GS ₃ NKp80	2A	mIL-15
NK39_7	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	4-1BB	GS ₃ CD16 IC	2A	mIL-15
NK39_8	NKG2D EC	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	4-1BB	FC 감마	2A	mIL-15
NK39_9	IL-15	GS ₃ NKG2D EC	CD8 α 힌지	4-1BB	CD3 ζ ITAM		
NK39_10	NKG2D EC (코돈 최적화)	CD8 α 힌지	CD3 ζ TM	CD16 IC	4-1BB	2A	mIL-15
NK16_7	NKG2D EC (코돈 최적화)	GS ₃ NKG2D EC CD8 α 힌지	CD8 α TM	4-1BB	Cd3 ζ ITAM	2A	mIL-15

도면16a

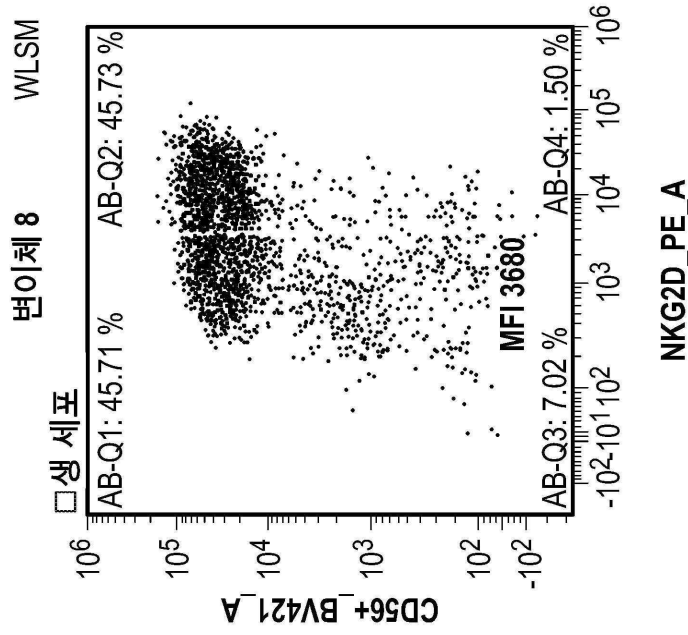
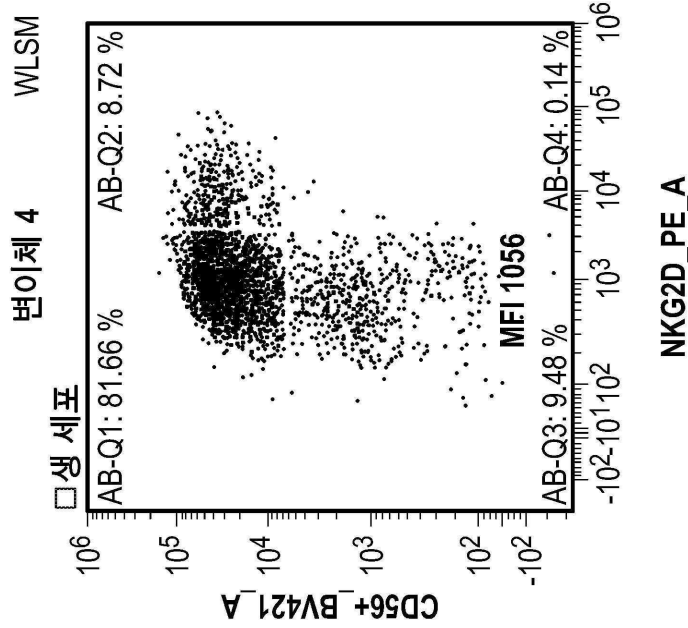


도면16ba

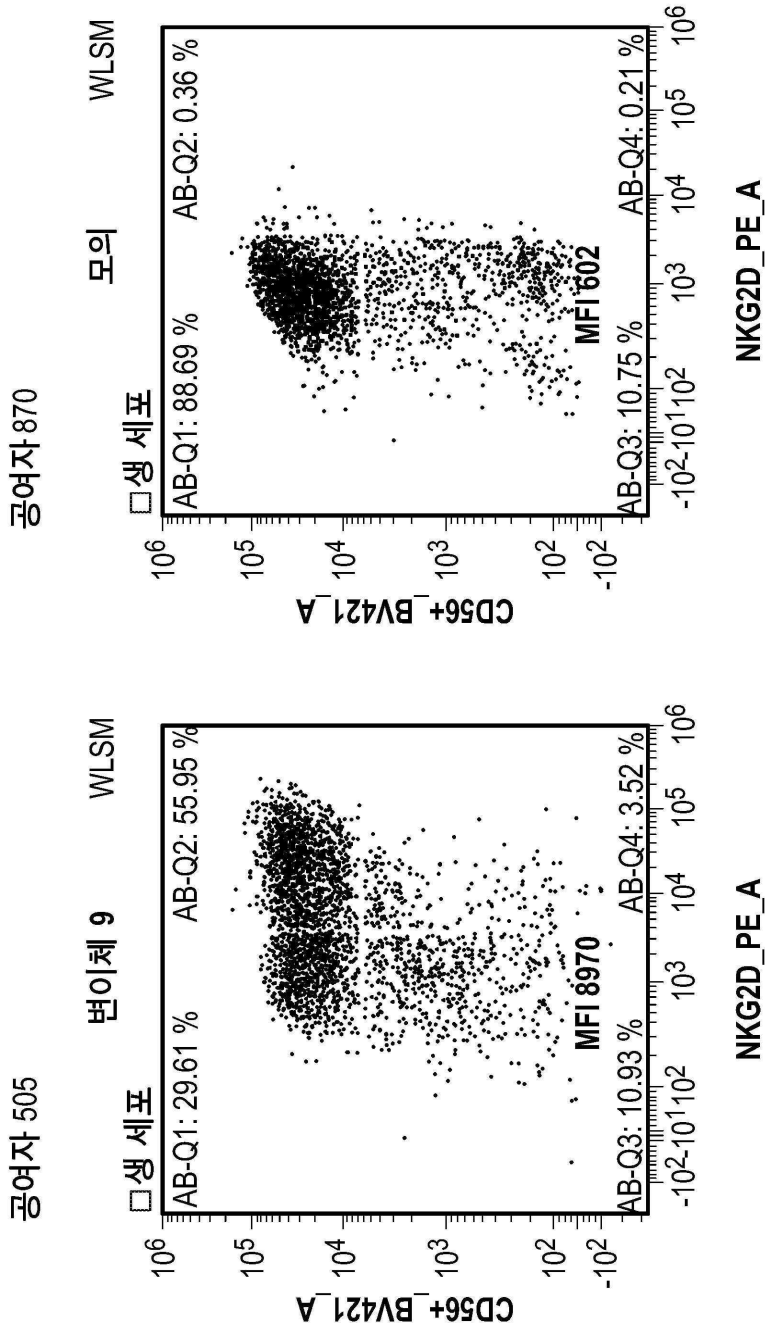


도면16bb

공여자 505

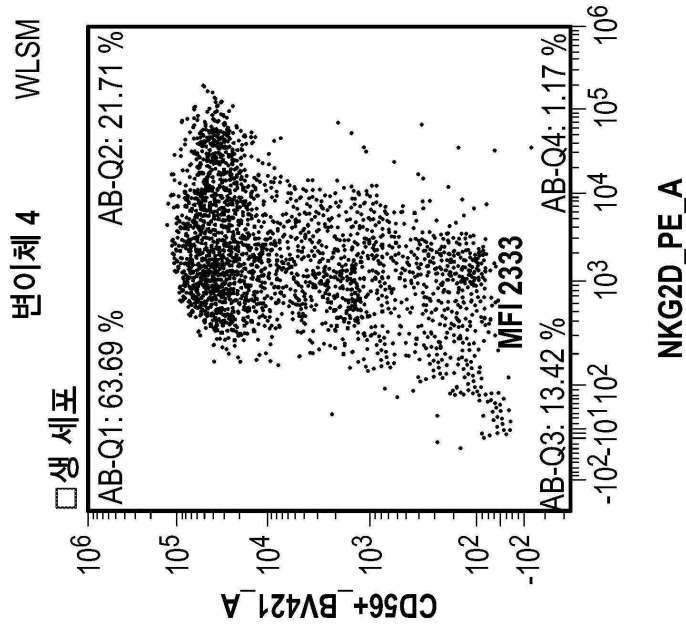
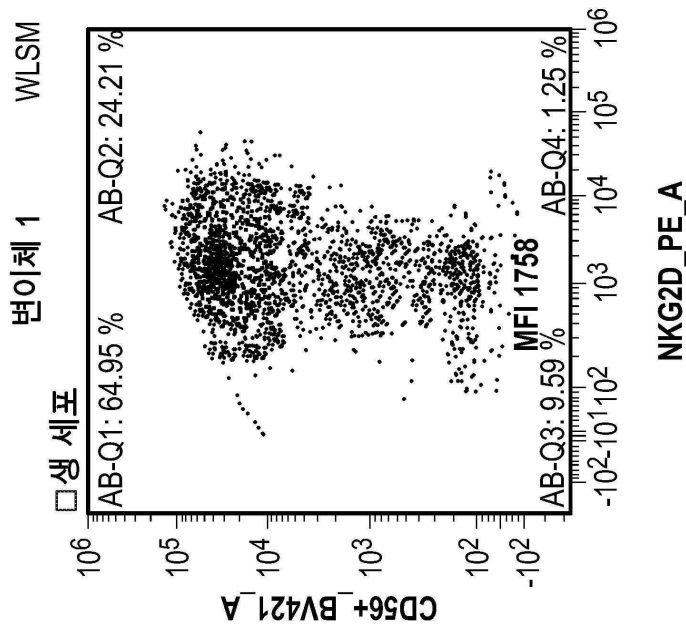


도면16bc



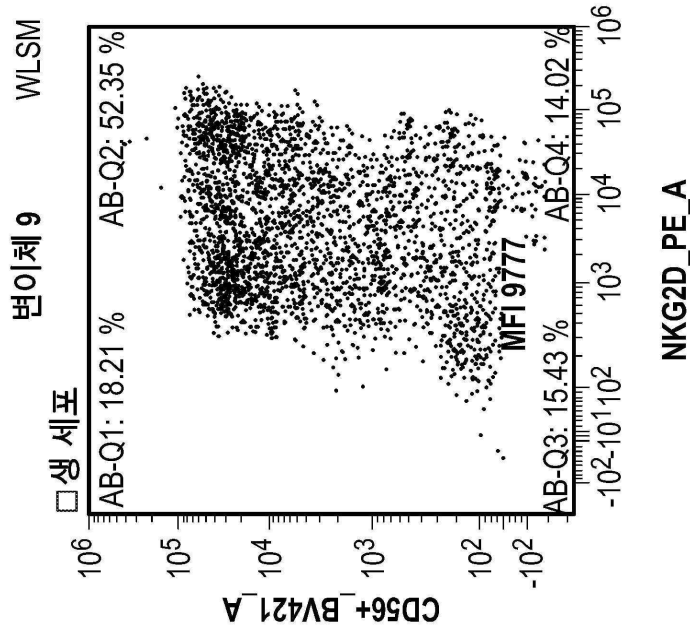
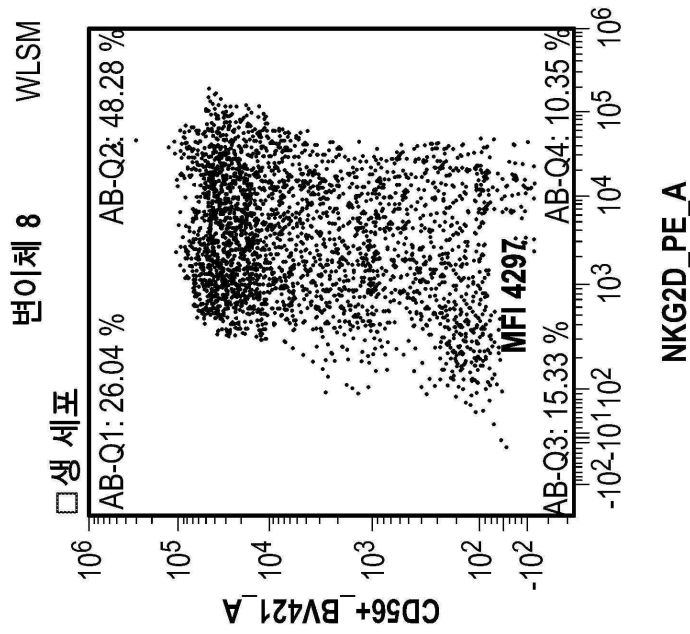
도면16bd

공여자:870

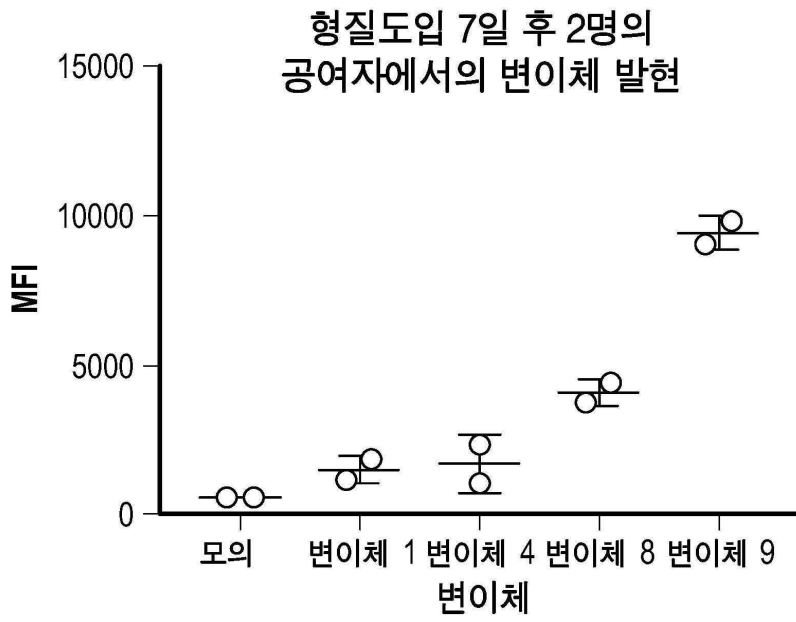


도면16be

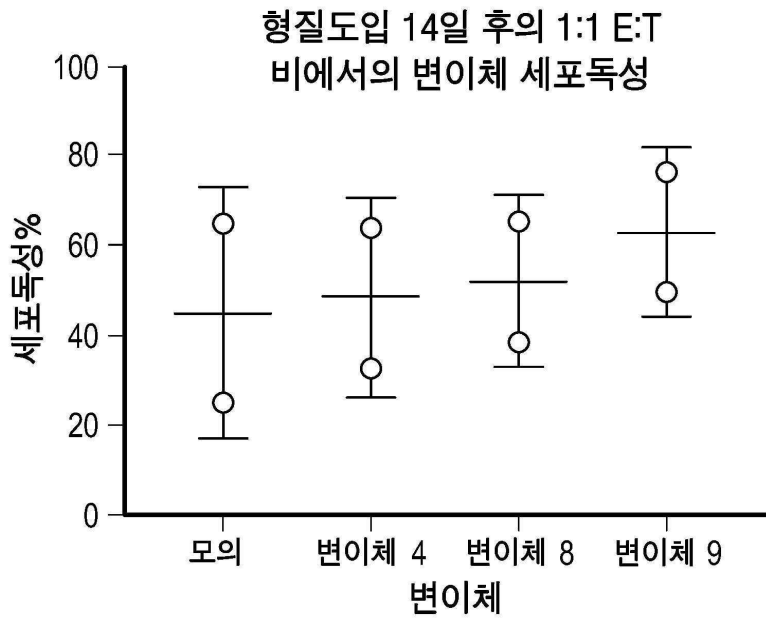
공여자:870



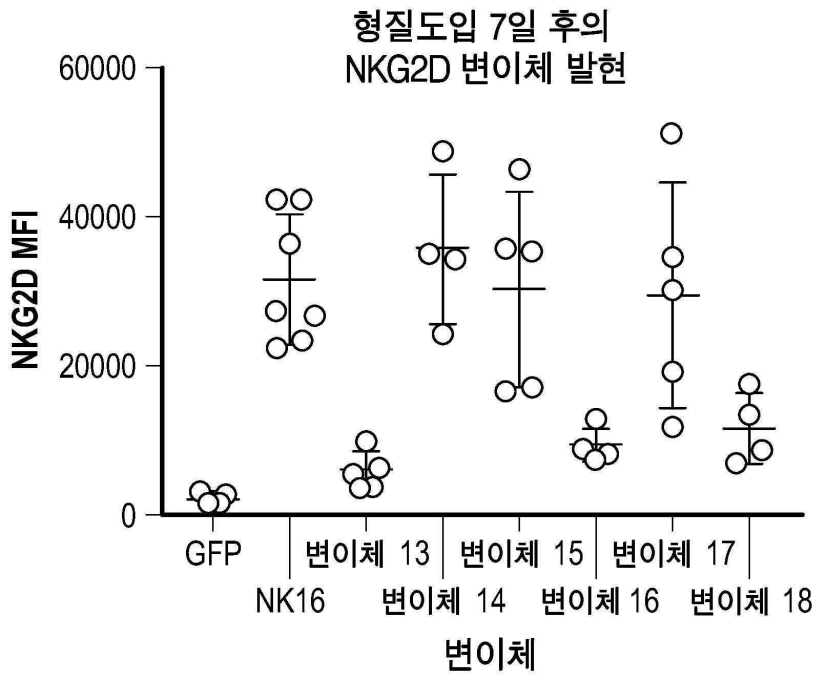
도면16c



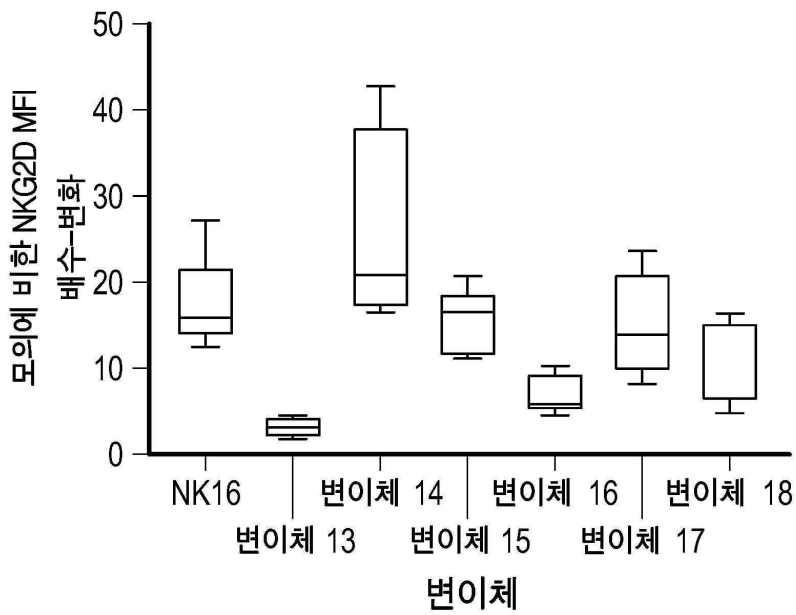
도면17



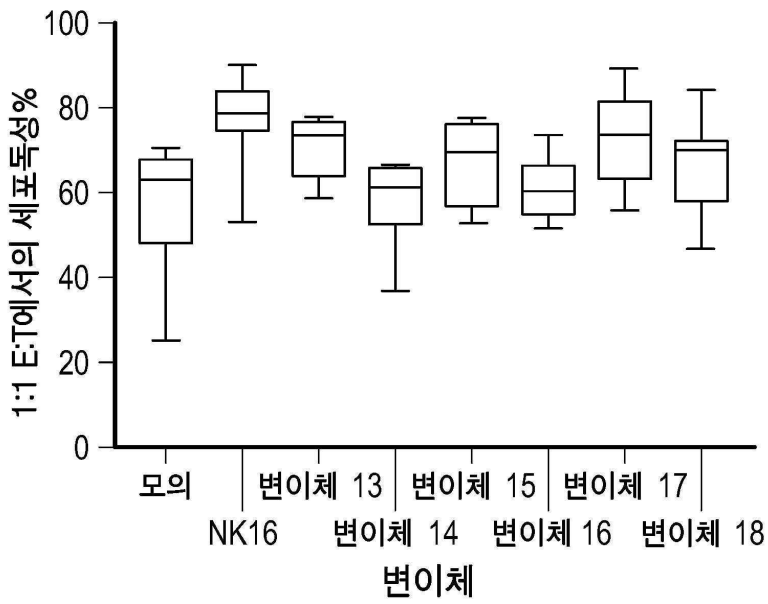
도면18a



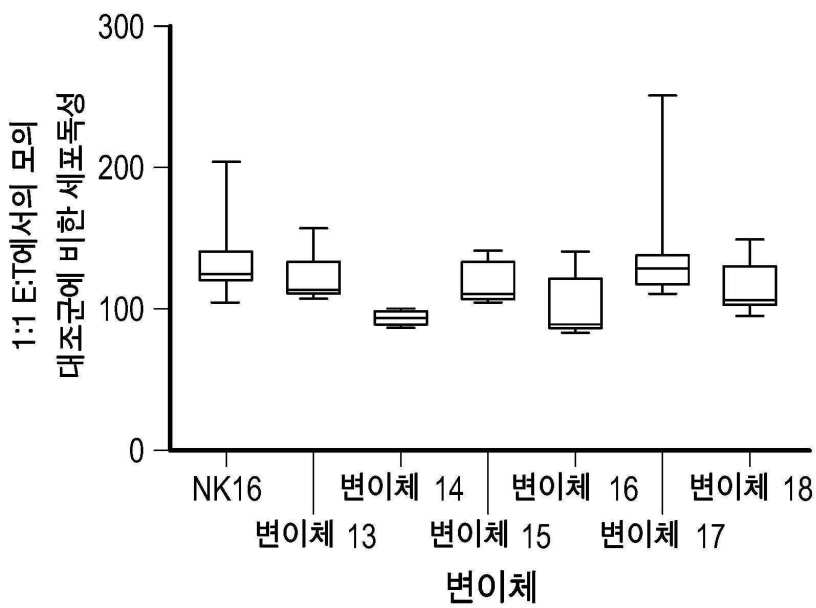
도면18b



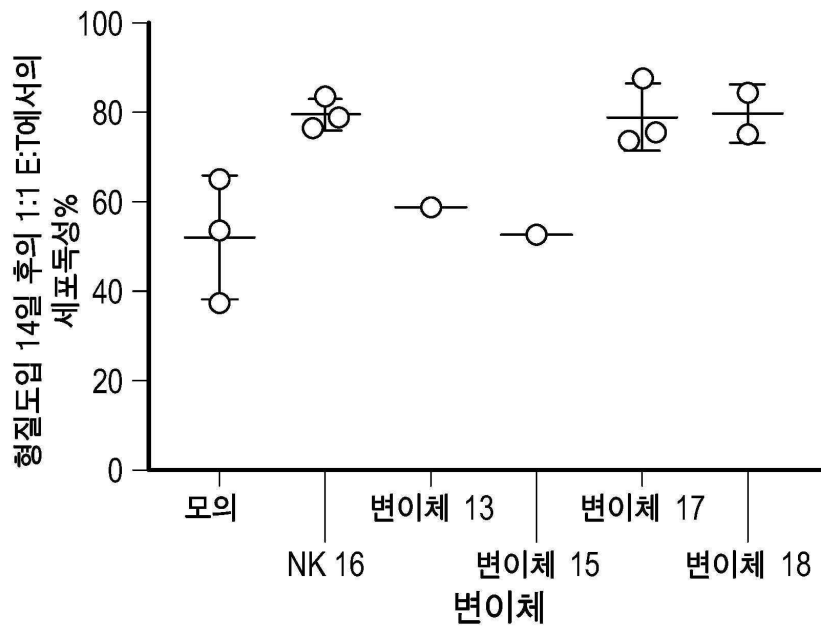
도면19a



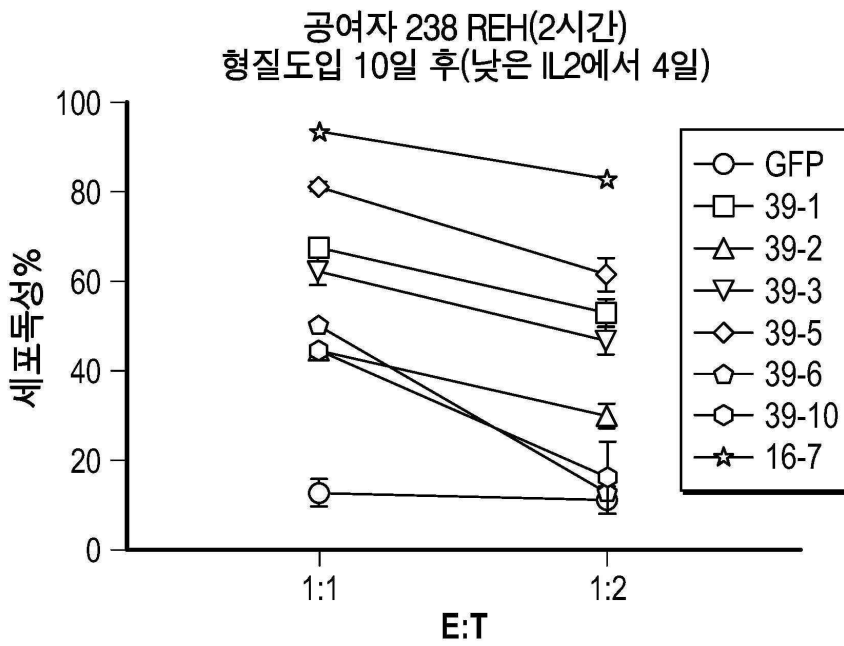
도면19b



도면20



도면21

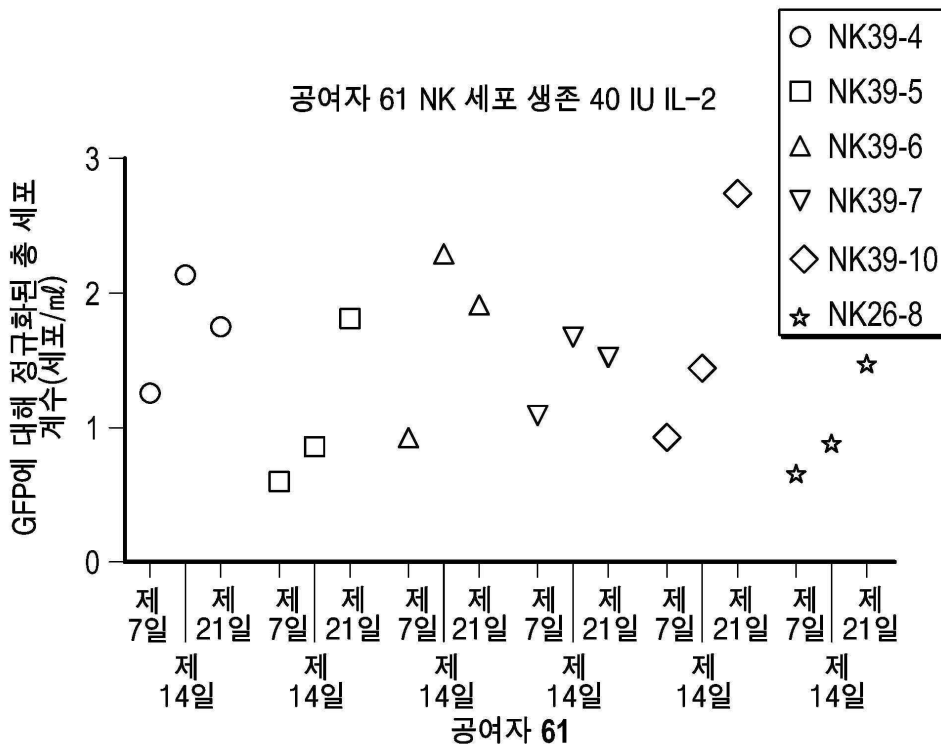


도면22

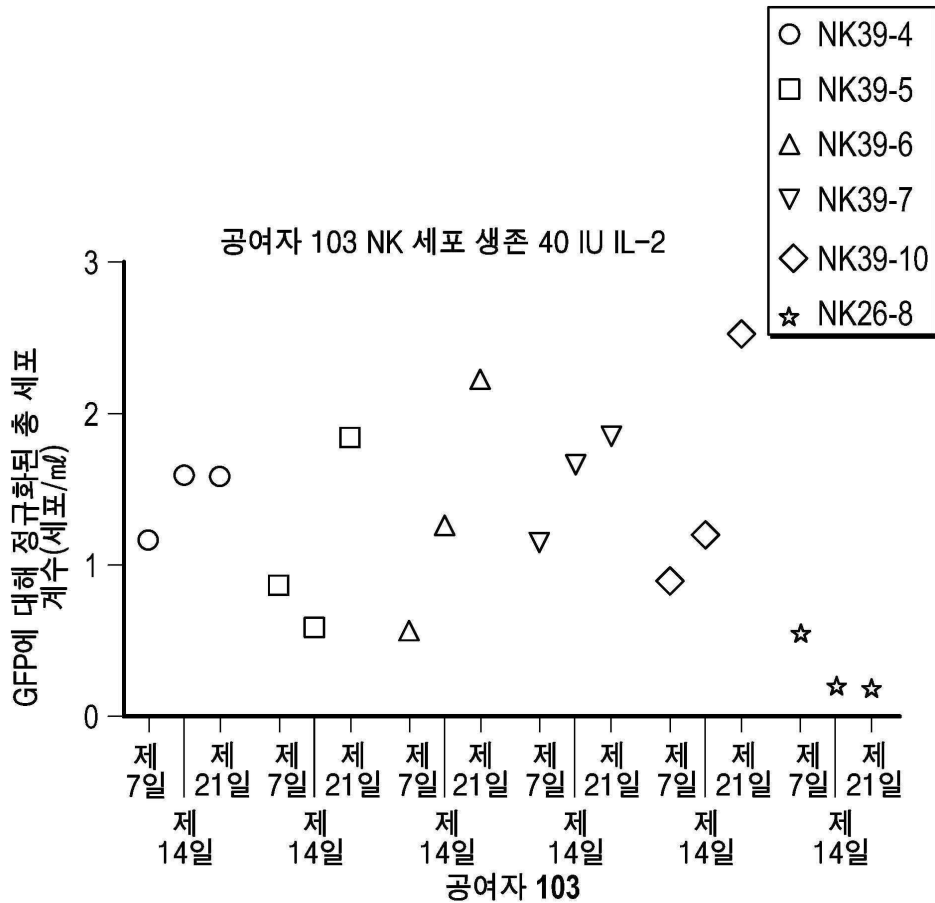
NKG2D(짧은 힌지) - 41BB - Cd3z IgG4 힌지 : ESKYGPPCPSCP)

NK45-1	NKG2D EC	Ig4 SH	CD8 α _{TM}	4-1BB	Cd3ζ ITAM	2A	mIL- 15
NKG2D-CD28-CD3z							
NK45-2	NKG2D EC	CD8α 힌지	CD28 TM	CD28	Cd3ζ ITAM	2A	mIL- 15
NKG2D (SH)-CD28 - CD3z							
NK45-3	NKG2D EC	Ig4SH	CD28 TM	CD28	Cd3ζ ITAM	2A	mIL- 15
NKG2D-OX40-CD3z							
NK45-4	NKG2D EC	CD8α 힌지	CD8α TM	OX40	Cd3ζ ITAM	2A	mIL- 15
NKG2D (SH)-OX40-CD3z							
NK45-5	NKG2D EC	Ig4SH	CD8α TM	OX40	Cd3ζ ITAM	2A	mIL- 15
NKG2D-CD3TM-CD28-CD3z							
NK45-6	NKG2D EC	CD8α 힌지	CD3α TM	CD28	Cd3ζ ITAM	2A	mIL- 15
NKG2D-CD28-41BB-CD3z							
NK45-7	NKG2D EC	CD8α 힌지	CD28 TM	CD28	4-1BB	Cd3ζ ITAM	2A mIL- 15

도면23a

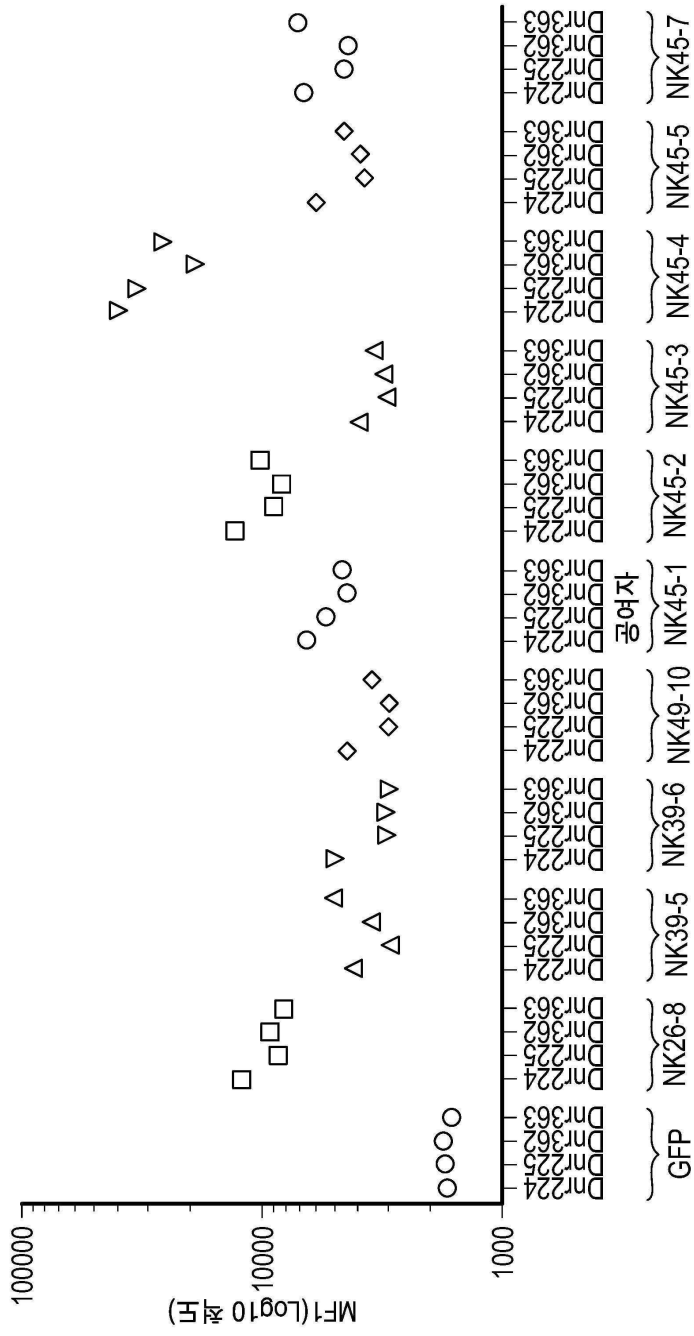


도면23b

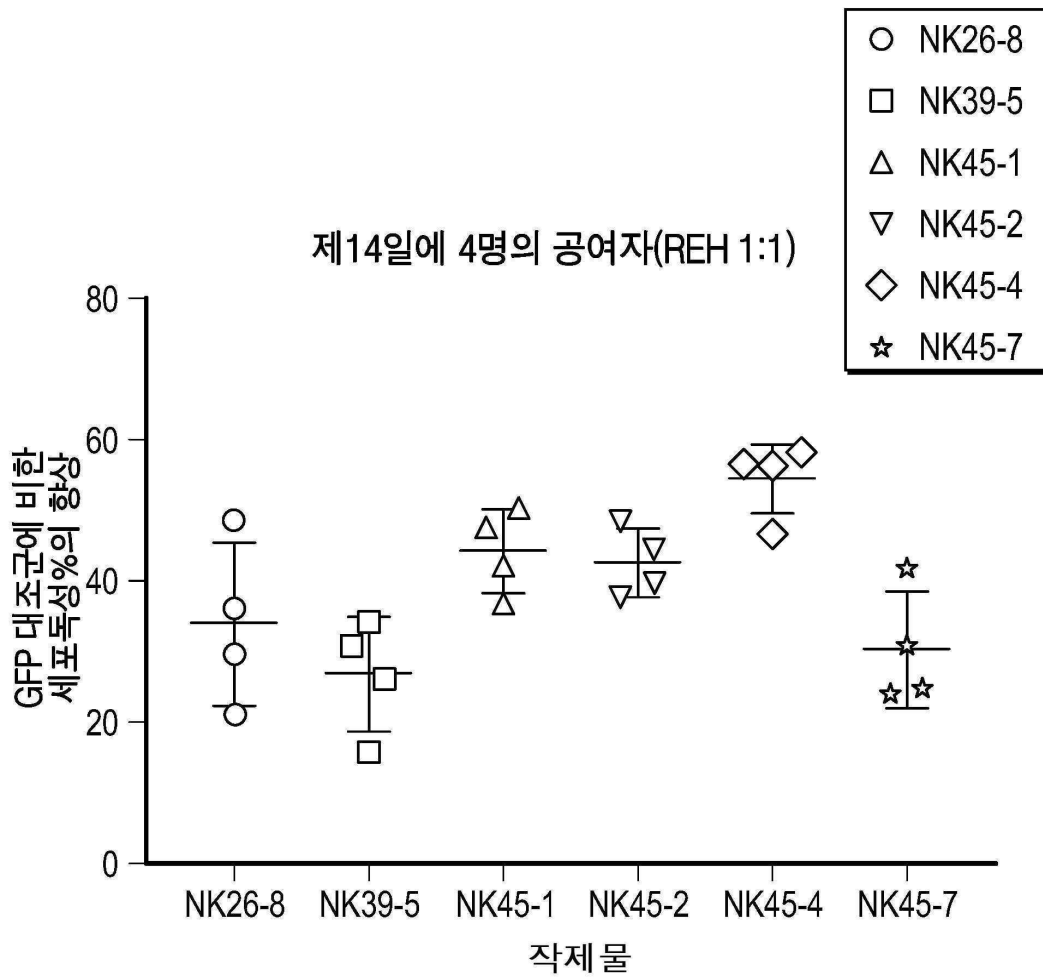


도면24

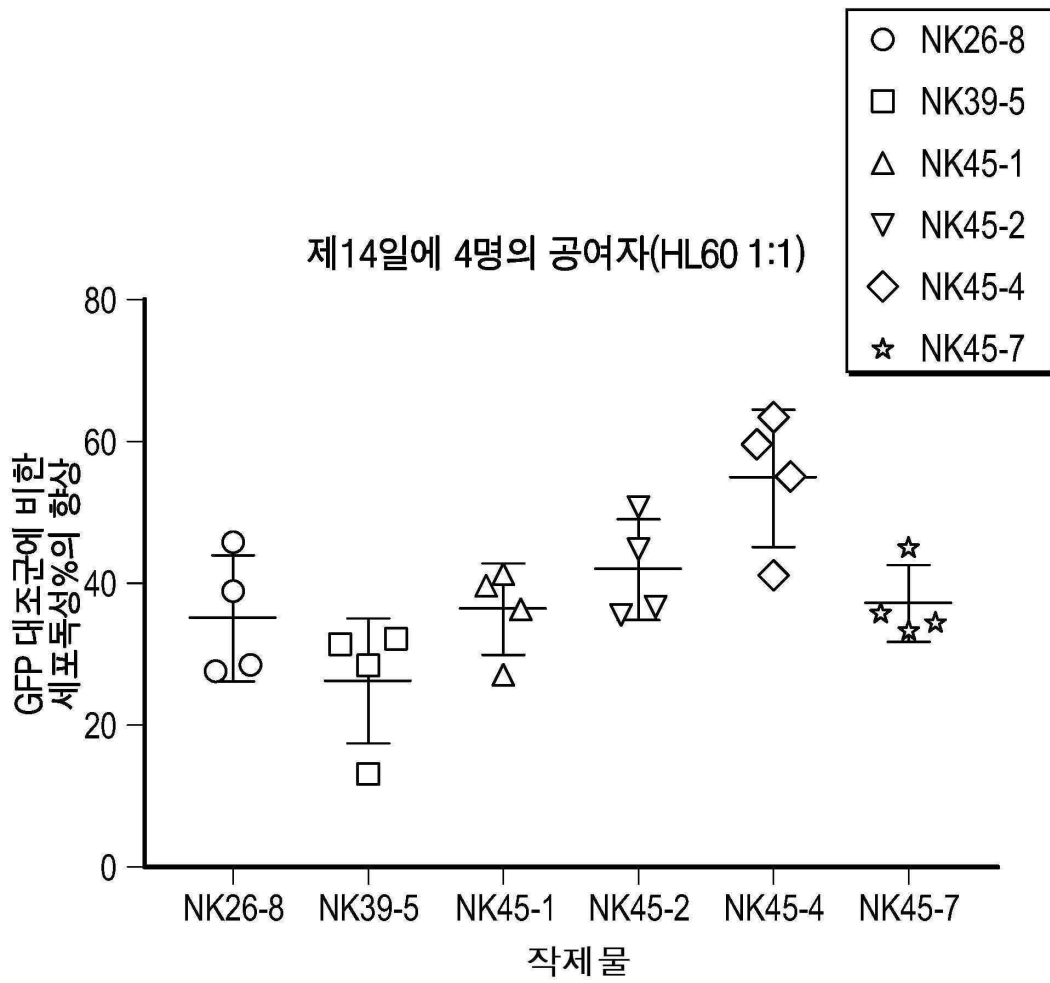
형질도입 3일 후 4명의 공여자에서의 NKG2D 발현



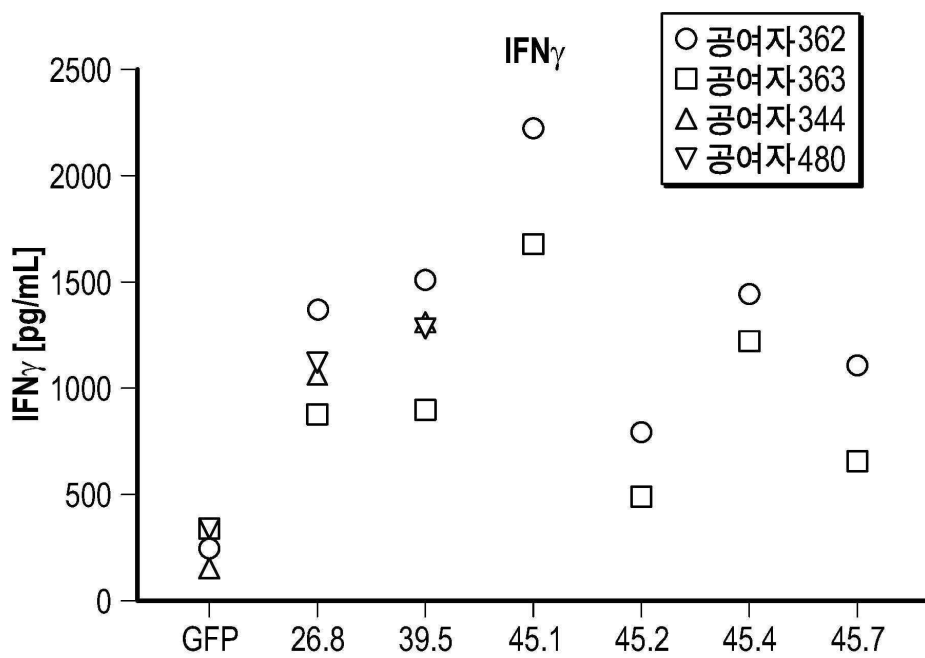
도면25a



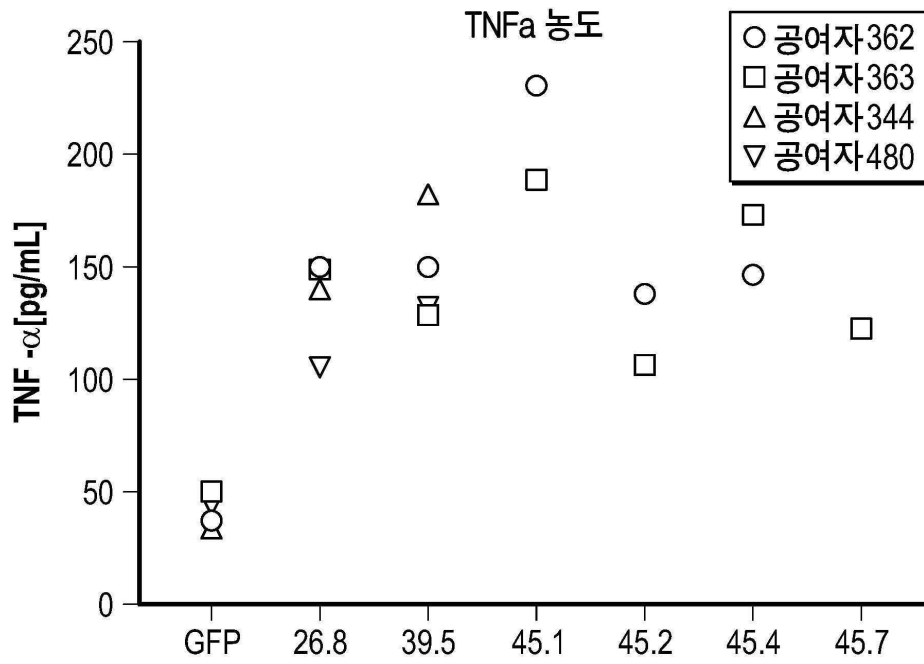
도면25b



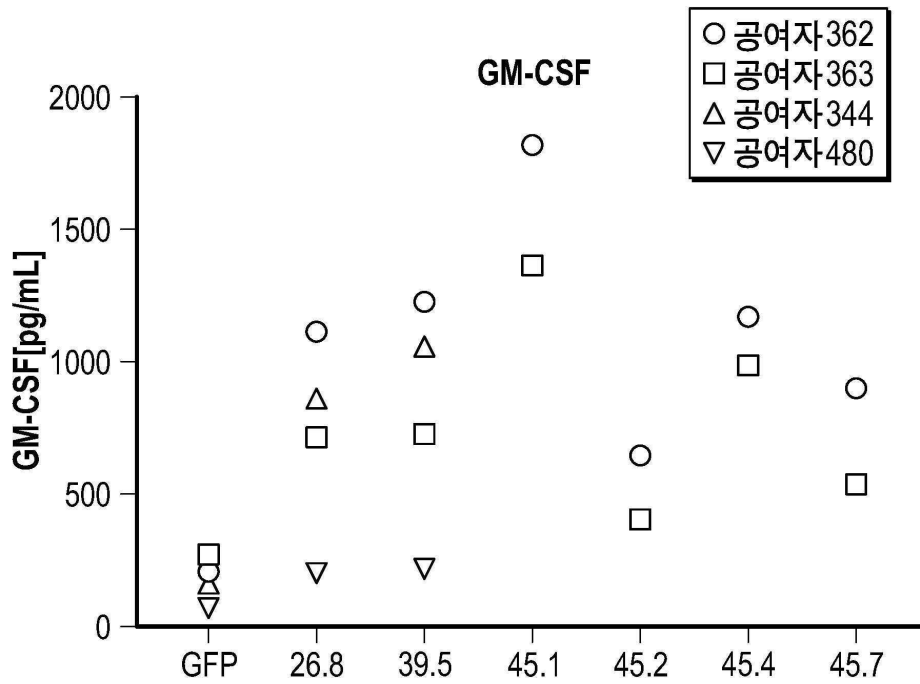
도면26a



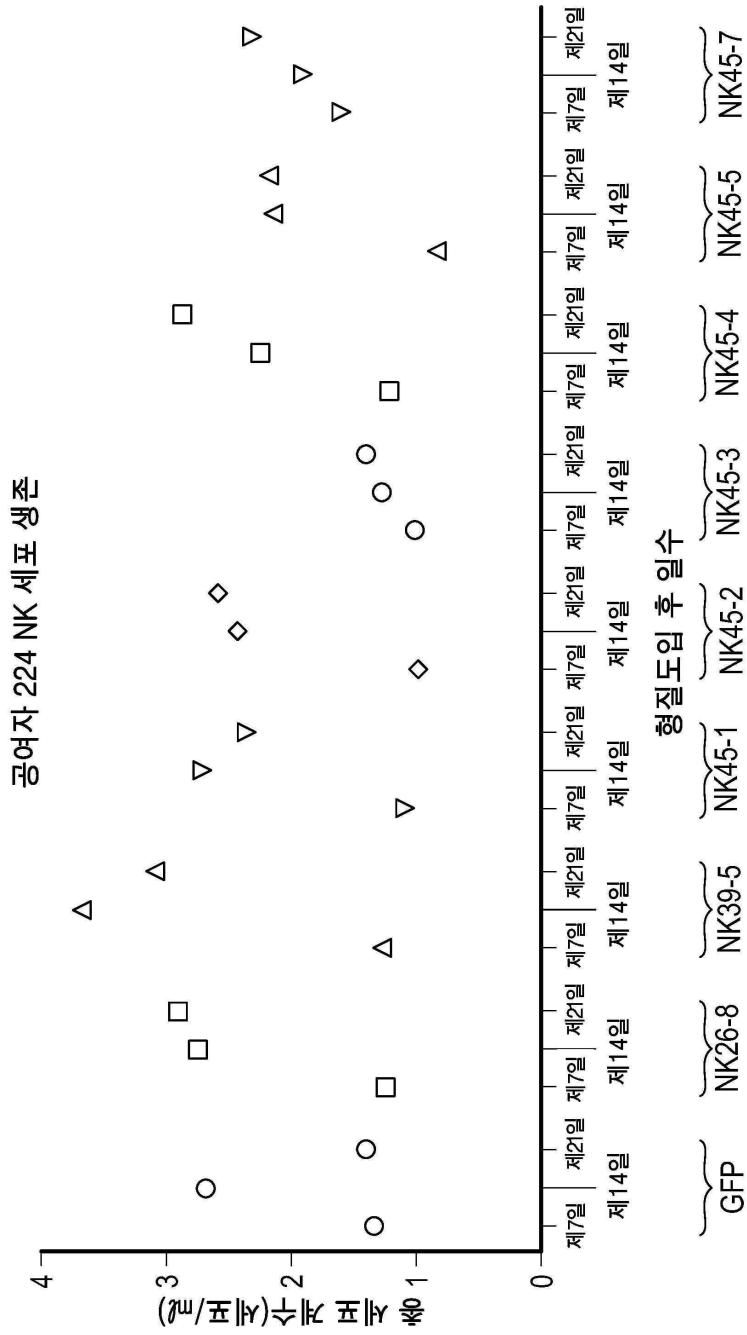
도면26b



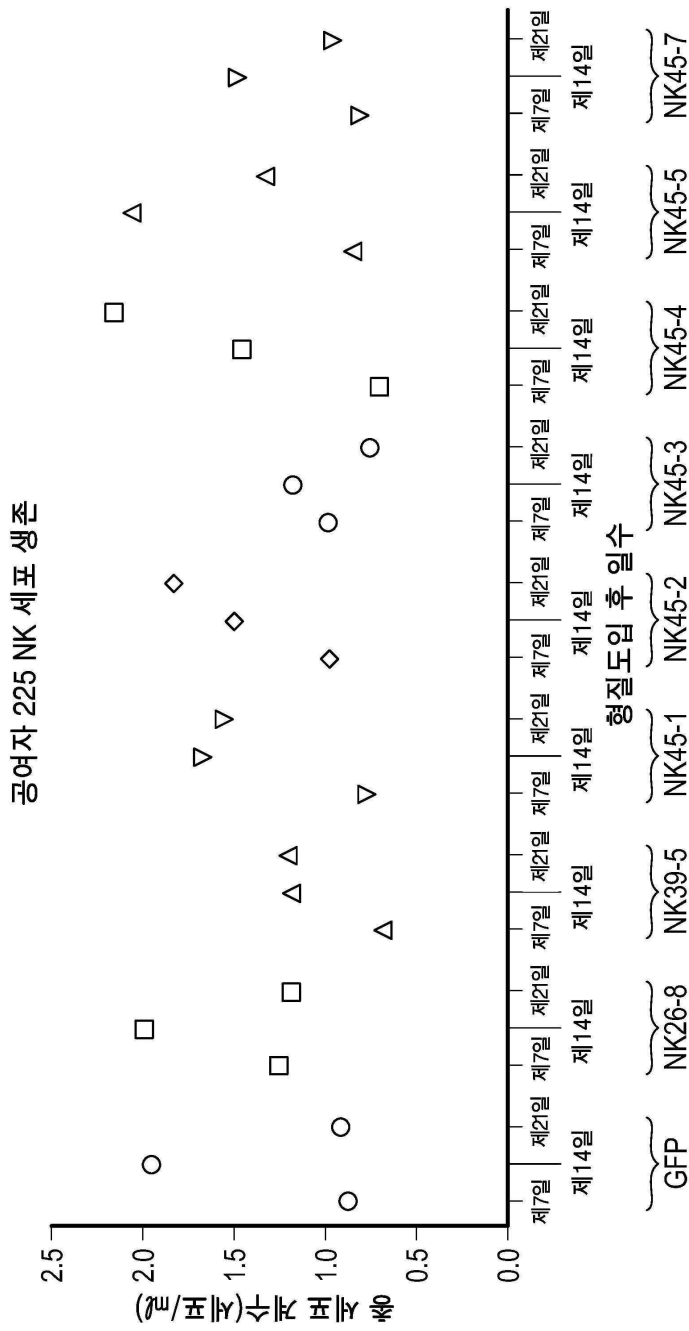
도면26c



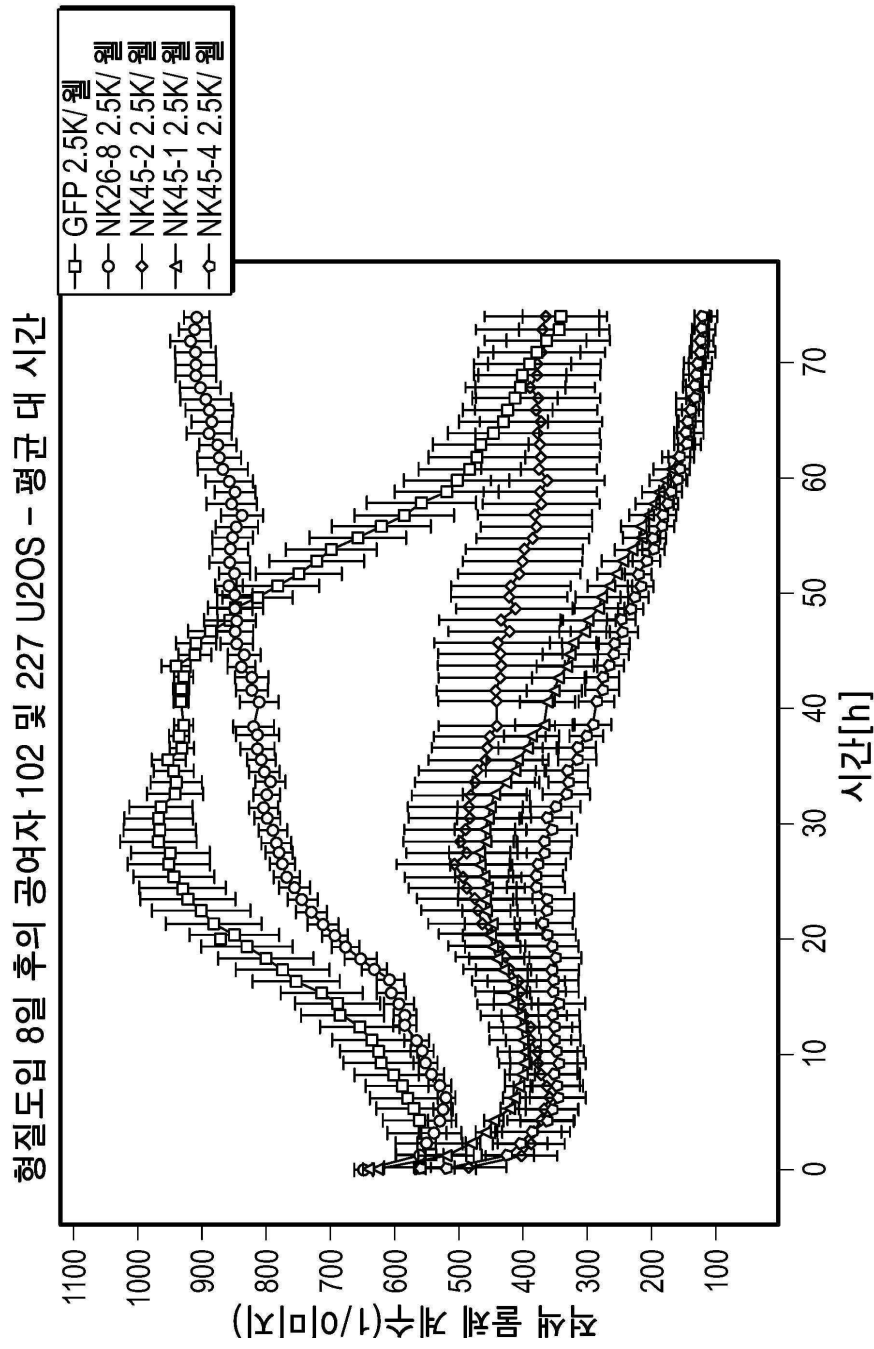
도면27a



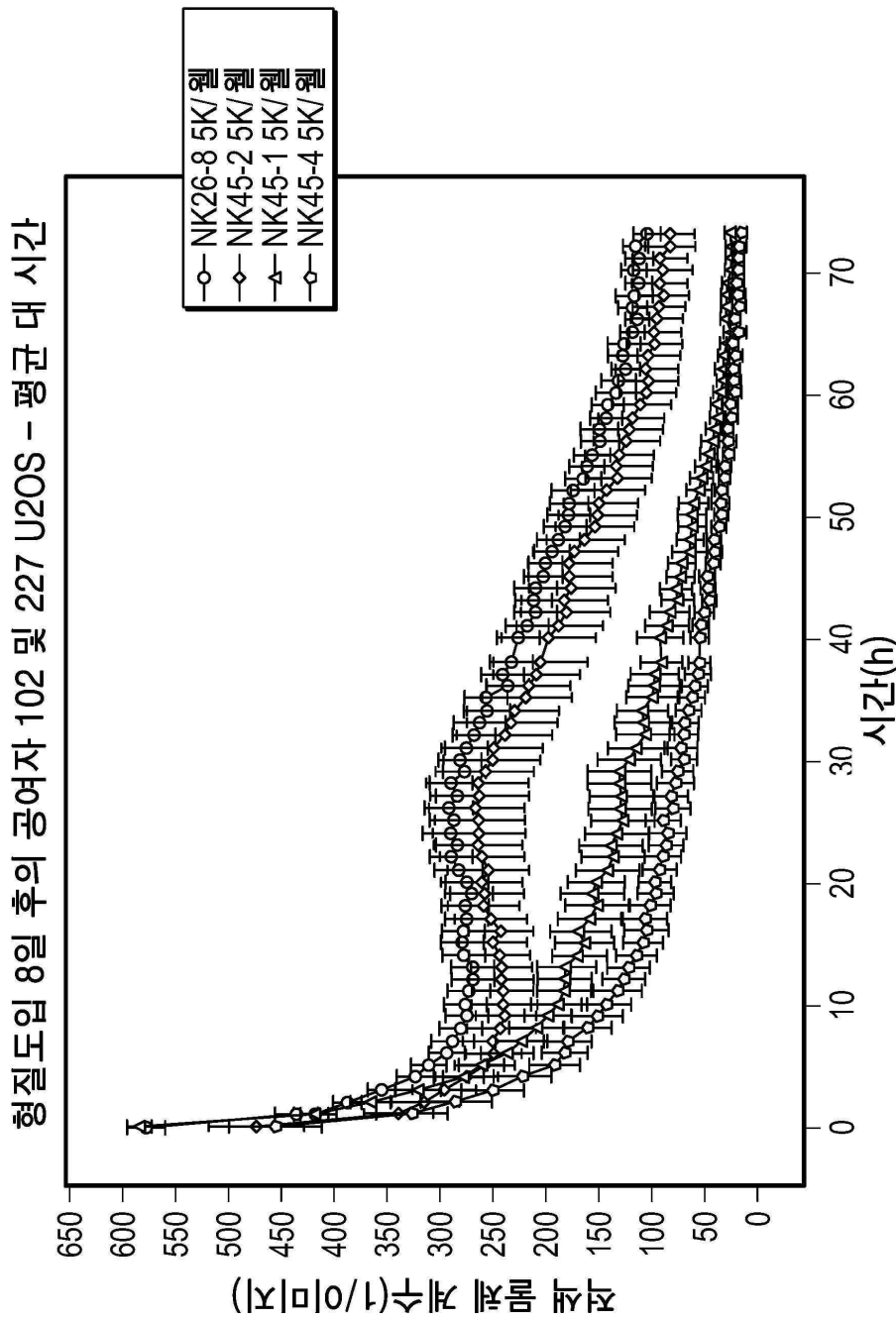
도면27b



도면28a



도면28b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> National University of Singapore; Nkarta, Inc

<120> TRUNCATED NKG2D CHIMERIC RECEPTORS AND USES THEREOF IN NATURAL
KILLER CELL IMMUNOTHERAPY

<130> 4459.1144002

<150> 62/477335

<151> 2017-03-27

<150> 62/628774
 <151> 2018-02-09
 <160> 109
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 645
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> Full length NKG2D
 <400> 1

gggtggattc gtggtcggag gtctcgacac agctgggaga tgagtgaatt tcataattat 60

 aacttggatc tgaagaagag tgatttttca acacgatggc aaaagcaaag atgtccagta 120
 gtcaaaagca aatgtagaga aaatgcatct ccattttttt tctgctgctt catcgctgta 180
 gccatgggaa tccgtttcat tattatggta acaatatgga gtgctgtatt cctaaactca 240
 ttattcaacc aagaagtcca aattcccttg accgaaagtt actgtggccc atgtcctaaa 300
 aactggatat gttacaaaaa taactgctac caattttttg atgagagtaa aaactggtat 360
 gagagccagg ctctttgtat gtctcaaaat gccagccttc tgaagata cagcaaagag 420
 gaccaggatt tacttaaac tggtaagtca tatcattgga tgggactagt acacattcca 480

 acaaatggat ctggcagtg ggaagatggc tccattctct cacccaacct actaacaata 540
 attgaaatgc agaagggaga ctgtgcactc tatgcctcga gctttaaagg ctatatagaa 600
 aactgttcaa ctccaaatac gtacatctgc atgcaaagga ctgtg 645

<210> 2
 <211> 405
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> Truncated NKG2D
 <400> 2

ttattcaacc aagaagtcca aattcccttg accgaaagtt actgtggccc atgtcctaaa 60
 aactggatat gttacaaaaa taactgctac caattttttg atgagagtaa aaactggtat 120
 gagagccagg ctctttgtat gtctcaaaat gccagccttc tgaagata cagcaaagag 180

gaccaggatt tacttaaact ggtgaagtca tatcattgga tgggactagt acacattcca 240
 acaaatggat ctggcagtg ggaagatggc tccattctct cacccaacct actaacaata 300
 attgaaatgc agaagggaga ctgtgcactc tatgcctcga gctttaaagg ctatatagaa 360
 aactgttcaa ctccaaatac gtacatctgc atgcaaagga ctgtg 405

<210> 3

<211> 405

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> Codon Optimized Truncated NKG2D

<400> 3

ctgttcaate aggaagtcca gatccccctg acagagtctt actgcggccc atgteccaag 60

aactggatct gctacaagaa caattgttat cagttctttg acgagagcaa gaactggtat 120
 gagtcccagg cctcttgc atgagcagaat gcctctctgc tgaaggtgta cagcaaggag 180
 gaccaggatc tgctgaagct ggtgaagtcc taccactgga tgggcctggt gcacatccct 240
 acaaacggct ctggcagtg ggaggacggc tccatcctgt ctccaaatct gctgaccatc 300
 atcgagatgc agaagggcga ttgcgccctg tacgccagct ccttcaaggg ctatatcgag 360
 aactgttcaa ctccaaatac gtacatctgt atgcagagga cctgtg 405

<210> 4

<211> 63

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> CD8 Signaling Sequence

<400> 4

atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60

cca 63

<210> 5

<211> 135

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> CD8 alpha hinge

<400> 5
accacaaccc ctgcaccacg cccccctaca ccagcaccta ccatcgcaag ccagcctctg 60
tccttgcggc cagaggcatg tagaccagca gcaggaggag cagtgcacac aagaggcctg 120
gacttcgcct gcgat 135

<210> 6
<211> 1722
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220><221> misc_feature
<223> CD8 beta
<220><221> misc_feature
<222> (674)..(773)
<223> n is a, c, g, or t
<220><221> misc_feature
<222> (859)..(958)
<223> n is a, c, g, or t
<400> 6

atctaggtct tgctgcacc gcacaacct caaacagcgt cggggccttc tctgcacctc 60
cagttcccag ctcacctccc tcagtgtcac agccggttac ctttcttcc tccttggggg 120
agggcaagac ttgggcttg ctgactccag gccagccca gccggggca cccaggagcc 180
cctcaattgc tactcaaaaca gacaagaagc ggcccagatt agtggccagc tccacatgc 240

actacacatc ctgacctctc tgagcctcta ctgtcactcg gggtcacaac ctttctga 300
gcacctccc gggcaggggg cgatgacaca catgcagctg cctgggggag gccggcggtg 360
tccccctctt ttggaacgc ggagggtcct ggtgggctct gaaacgcag cccagacctt 420
tgcaatgcta ggaggatgag ggccgagacc tcgcggtccc caacaccaga ctcccgcagc 480
caccgcgcc ggtcccgc tcccactgc cccccagct ccccgacca ggcccccgc 540
ccggccagct ctcaccac cccagccgc actgtctcc cagagcccc gggccaggt 600
gtcccgggcg cgccacgatg cgcccgggc tgtggctcct cctggccgc cagctgacag 660

gtaaggcggc ggcnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 720
nnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnttgcttt 780
cctcttccag gccggcggag gagagcccgg cttcgtttca tgaacagta agtgtataac 840
ctgggtgtgg ccttgggann nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 900

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnct 960
 tgctgtgtt ttcagat ttt acaaatgagc agagaat acg gttttggtg cctgctacaa 1020
 aaagacatcg gtcagtaacg agcacgatgt ggaaaaatga gagaaggac acattcaacc 1080

 ctggagagtt caatggctgc tgaagctgcc tgcttttcac tgctgcaagg cttttctgtg 1140
 tgtgacgtgc atgggagcaa cttgttcgtg ggtcatcggg aatactaggg agaaggtttc 1200
 attgccccca gggcacttca cagagtgtgc tggaggactg agtaagaaat gctgcccattg 1260
 ccaccgcttc cggctcctgt gctttccctg aactgggacc tttagtgggtg gccatttagc 1320
 caccatcttt gcaggttctg ttgccctggt agggcagtaa cattgggtcc tgggtctttc 1380
 atgggggtgat gctgggctgg ctccctgttg gtcttcccag gctggggctg accttctctg 1440
 cagagaggcc aggtgcaggt tgggaatgag gcttgctgag aggggctgtc cagtcccag 1500

 aaggcatatc agtctctgag ggcttccttt ggggccggga acttgccgggt ttgaggatag 1560
 gagttcactt catcttctca gctcccattt ctactcttaa gtttctcagc tcccatttct 1620
 actctcccat ggcttaatgc ttctttcatt tctgtttgt tttatacaaa tgtcttagtt 1680
 gtaaaaaata agtcccaggt taaagataac aaacgggtcc tg 1722

 <210> 7
 <211> 2415
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> CD16 alpha
 <400> 7

 attcttgggtg ctgggtggat ccaaatccag gagatggggc aagcatcctg ggatggctga 60
 gggcacactc tggcagattc tgtgtgtgtc ctcatatgct cagccacaga cctttgaggg 120

 agtaaagggg gcagaccac ccaccttgc tccaggtctt ttccttctg gtctgtttct 180
 atggtggggc tccttgcca gacttcagac tgagaagtca gatgaagttt caagaaaagg 240
 aaattggtgg gtgacagaga tgggtggagg gctggggaa aggctgttta cttcctctg 300
 tctagtcggt ttggtccctt tagggtccg gatatctttg gtgacttgtc cactccagtg 360
 tggcatcatg tggcagctgc tcctcccaac tgetctgcta cttctagttt cagctggcat 420
 gcggactgaa gatctccaa aggctgtggt gttcctggag cctcaatggt acagggtgct 480
 cgagaaggac agtgtgactc tgaagtcca gggagcctac tcccctgagg acaattccac 540

 acagtggttt cacaatgaga gcctcatctc aagccaggcc tcgagctact tcattgacgc 600

tgccacagtc gacgacagtg gagagtacag gtgccagaca aacctctcca ccctcagtga 660
 cccggtgcag ctagaagtc atatcggtg gctgttgctc caggccctc ggtgggtgtt 720
 caaggaggaa gaccctattc acctgagggtg tcacagctgg aagaacctg ctctgcataa 780
 ggtcacatat ttacagaatg gcaaaggcag gaagtatfff catcataatt ctgacttcta 840
 cattcaaaa gccacactca aagacagcgg ctctacttc tgcagggggc tttttgggag 900
 taaaaatgtg tcttcagaga ctgtgaacat caccatcact caaggtttgg cagtgtcaac 960

 catctcatca ttctttccac ctgggtacca agtctctttc tgcttggtga tggactcct 1020
 ttttgcaagt gacacaggac tatattttc tgtgaagaca aacattcgaa gctcaacaag 1080
 agactggaag gaccataaat ttaaatggag aaaggacct caagacaaat gaccccatc 1140
 ccatgggggt aataagagca gtagcagcag catctctgaa catttctctg gatttgcaac 1200
 cccatcatcc tcaggcctct ctacaagcag caggaaacat agaactcaga gccagatccc 1260
 ttatccaact ctgactttt ccttggcttc cagtggaagg gaaaagccca tgatcttcaa 1320
 gcaggggaagc cccagtgagt agctgcattc ctgaaattg aagtttcaga gctacacaaa 1380

 cactttttct gtcccaaccg ttccctcaca gcaaagcaac aatacaggct agggatggtg 1440
 atcctttaa catacaaaa ttgctcgtgt tataaattac ccagtttaga ggggaaaaaa 1500
 aaacaattat tctaaataa atggataagt agaattaatg gttgaggcag gaccatacag 1560
 agtgtgggaa ctgctgggga tctagggaaat tcagtgggac caatgaaagc atggctgaga 1620
 aatagcaggt agtcaggat agtctaaggg aggtgttccc atctgagccc agagataagg 1680
 gtgtcttctt agaacattag ccgtagtgga attaacagga aatcatgagg gtgacgtaga 1740
 attgagtctt ccaggggact ctatcagaac tggacatct ccaagtatat aacgatgagt 1800

 cctcttaatg ctaggagtag aaaatggtcc taggaagggg actgaggatt gcggtggggg 1860
 gtggggtgga aaagaaagta cagaacaaac cctgtgtcac tgtccaagt tgctaagtga 1920
 acagaactat ctcagcatca gaatgagaaa gcctgagaag aaagaaccaa ccacaagcac 1980
 acaggaagga aagcgcagga ggtgaaaatg ctttcttggc cagggtagta agaattagag 2040
 gttaatgcag ggactgtaaa accacctttt ctgcttcaat atctaattcc tgtgtagctt 2100
 tgttcattgc atttattaaa caaatgttgi ataaccaata ctaaatgtac tactgagctt 2160
 cgctgagtta agttatgaaa ctttcaaatc cttcatcatg tcagttccaa tgaggtgggg 2220

 atggagaaga caattgttgc ttatgaaaga aagctttagc tgtctctgtt ttgtaagctt 2280
 taagcgcaac atttcttgg tccaataaag cattttacaa gatcttgcac gctactctta 2340
 gatagaagat gggaaaaacca tggtaataaa atatgaatga taaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400
 aaaaaaaaaa aaaaa 2415

<210> 8
 <211> 2473
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> CD16 beta
 <220><221> misc_feature
 <222> (211)..(310)
 <223> n is a, c, g, or t
 <220><221> misc_feature

 <222> (537)..(636)
 <223> n is a, c, g, or t
 <220><221> misc_feature
 <222> (968)..(1067)
 <223> n is a, c, g, or t
 <400> 8
 aaagatgggt ggaggactg gggaaagct gtttactccc tctgtctag tggcttgg 60
 ccctttagggt gtcggatat ctttgggtgac ttgtccactc cagtgtggca tcatgtggca 120
 gctgctcctc ccaactgctc tgctacttct aggtaagtag gatctccctg gttgaggag 180
 aagtttgaga tgccttgggt tcagcagaga nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 240
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 300

 nnnnnnnnnn aagaggcatg aacagtggaa gaccagagag caggtagcaa ggtttccacc 360
 agaaacatcc tgattcttgg gaaaattggg ctctggggc agaggagggc aggggagttt 420
 taaactcact ctatgttcta atcactctga tctctgcccc tactcaatat ttgatttact 480
 cttttttctt gcagtttcag ctggcatgcg gactggtgag tcagcttcat ggtctttnnn 540
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 600
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnncact gagagctgag ctcccgggcc 660
 tggggtgtct ctgtgtcttt caggetgget gttgctecag gccctcgggt ggggtgttcaa 720

 ggaggaagac cctattcacc tgagggtgtca cagctggaag aacctgctc tgcataaggt 780
 cacatattta cagaatggca aagacaggaa gtattttcat cataattctg acttccacat 840
 tccaaaagcc aactcaaag atagcggctc ctacttctgc agggggcttg ttgggagtaa 900
 aaatgtgtct tcagagactg tgaacatcac catcactcaa ggtgagacat gtgccaccct 960

ggaatgcnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 1020
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnttt ttcattctctc 1080
 cacttctcct aataggtttg gcagtgtaa ccatctcctc attctctcca cctgggtacc 1140

 aagtctcttt ctgcttggtg atggtactcc tttttgcagt ggacacagga ctatatttct 1200
 ctgtgaagac aaacatttga agctcaaca gagactggaa ggaccataaa cttaaatgga 1260
 gaaaggacce tcaagacaaa tgaccccat cccatgggag taataagagc agtggcagca 1320
 gcatctctga acatttctct ggatttgcaa cccatctcct ctcaggcctc tctacaagca 1380
 gcaggaaca tagaactcag agccagatcc tttatccaac tctcgatttt tccttggtct 1440
 ccagtggaag ggaaaagccc atgatcttca agcaggaag cccagttag tagctgcatt 1500
 cctagaaatt gaagtttcag agctacaca aactttttc tgtccaacc attccctcac 1560

 agtaaaaca caatacaggc tagggatggt aatcctttaa acatacaaaa attgctcgta 1620
 ttataaatta cccagtttag accgaaaaa agaaaataat tattcctaaa caaatggata 1680
 agtagaatta atgattgagg caggacccta cagagtgtgg gaactgctgg ggatctagag 1740
 aattcagtgg gaccaatgaa agcatggctg agaaatagca gggtagtcca ggagagtcta 1800
 agggagggtg tccatctga gccagagat aagggtgtct tcctagaaca ttagccctag 1860
 tggaattaac aggaaatcat gaggtgacg tagaattgag tcttcaggg gactctatca 1920
 gaactggacc attccaagt atataacgat gagccctcta atgctaggag tagcaaatgg 1980

 tcctaggaag gggactgagg attggggtgg ggggtgggtg gaaaagaaag tacagaaca 2040
 accctgtgtc actgtccaa gttaagctaa gtgaacagaa ctatctcagc atcagaatga 2100
 gaaagcctga gaagaaagaa ccaaccaca gcacacagga aggaaagcgc aggagtgaa 2160
 aatgctttct tggccagggt agtaagaatt agaggtaat gcagggactg taaaaccacc 2220
 tttctgctt caatgtctag ttctgtata gctttgttca ttgcatttat taaacaaatg 2280
 ttgtataacc aactactaat gtactactga gcttactga gttacgctgt gaaacttca 2340
 aatccttctt catgtcagtt ccaatgaggt ggggatggag aagacaattg ttgcttatga 2400

 aaaaaagctt tagctgtctc tgtttttaa gctttcagtg caacatttct tggttccaat 2460
 aaagcatttt aca 2473

 <210> 9
 <211> 370
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE

<223> 2B4

<400> 9

Met Leu Gly Gln Val Val Thr Leu Ile Leu Leu Leu Leu Lys Val

1 5 10 15

Tyr Gln Gly Lys Gly Cys Gln Gly Ser Ala Asp His Val Val Ser Ile

 20 25 30

Ser Gly Val Pro Leu Gln Leu Gln Pro Asn Ser Ile Gln Thr Lys Val

 35 40 45

Asp Ser Ile Ala Trp Lys Lys Leu Leu Pro Ser Gln Asn Gly Phe His

 50 55 60

His Ile Leu Lys Trp Glu Asn Gly Ser Leu Pro Ser Asn Thr Ser Asn

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

Ser Gly Lys Val Gln Thr Ala Thr Phe Gln Val Phe Val Phe Glu Ser

 115 120 125

Leu Leu Pro Asp Lys Val Glu Lys Pro Arg Leu Gln Gly Gln Gly Lys

 130 135 140

Ile Leu Asp Arg Gly Arg Cys Gln Val Ala Leu Ser Cys Leu Val Ser

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

Gly Thr His Thr Tyr Thr Cys Asn Val Ser Asn Pro Val Ser Trp Glu

 195 200 205

Ser His Thr Leu Asn Leu Thr Gln Asp Cys Gln Asn Ala His Gln Glu

 210 215 220

Phe Arg Phe Trp Pro Phe Leu Val Ile Ile Val Ile Leu Ser Ala Leu

225 230 235 240
Phe Leu Gly Thr Leu Ala Cys Phe Cys Val Trp Arg Arg Lys Arg Lys
 245 250 255
Glu Lys Gln Ser Glu Thr Ser Pro Lys Glu Phe Leu Thr Ile Tyr Glu
 260 265 270
Asp Val Lys Asp Leu Lys Thr Arg Arg Asn His Glu Gln Glu Gln Thr
 275 280 285

Phe Pro Gly Gly Gly Ser Thr Ile Tyr Ser Met Ile Gln Ser Gln Ser
 290 295 300
Ser Ala Pro Thr Ser Gln Glu Pro Ala Tyr Thr Leu Tyr Ser Leu Ile
305 310 315 320
Gln Pro Ser Arg Lys Ser Gly Ser Arg Lys Arg Asn His Ser Pro Ser
 325 330 335
Phe Asn Ser Thr Ile Tyr Glu Val Ile Gly Lys Ser Gln Pro Lys Ala
 340 345 350

Gln Asn Pro Ala Arg Leu Ser Arg Lys Glu Leu Glu Asn Phe Asp Val
 355 360 365
Tyr Ser
 370

<210> 10

<211> 279

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DAP10

<400> 10

atgatccatc tgggtcacat cctcttctctg cttttgctcc cagtggctgc agctcagacg 60
actccaggag agagatcadc actcctctgcc ttttaccctg gcacttcagg ctcttgttcc 120
ggatgtgggt ccctctctct gccgctcctg gcaggcctcg tggctgctga tgcgggtggca 180
tcgctgctca tcgtgggggc ggtgttctctg tgcgcacgcc cacgccgcag ccccgcccaa 240

gatggcaaag tctacatcaa catgccaggc aggggctga 279

<210> 11

<211> 575
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> DAP12
 <400> 11
 agacttctc cttcacttgc ctggacgctg cgccacatcc caccggccct tacactgtgg 60
 tgtccagcag catccggctt catgggggga ctfgaacct gcagcaggct cctgctcctg 120
 cctctcctgc tggctgtaag tgattgcagt tgccttacgg tgagcccggg cgtgctggca 180
 gggatcgtga tgggagacct ggtgctgaca gtgctcattg ccctggccgt gtacttctg 240
 ggccggctgg tcctcgggg gcgaggggct gcggaggcag cgaccggaa acagcgtatc 300

 actgagaccg agtcgcctta tcaggagctc cagggtcaga ggtcggatgt ctacagcgac 360
 ctcaacacac agaggccgta ttacaaatga gcccgaaatca tgacagtcag caacatgata 420
 cctggatcca gccattcctg aagcccaccc tgcacctcat tccaactcct accgcgatac 480
 agaccacag agtgccatcc ctgagagacc agaccgctcc ccaatactct cctaaaataa 540
 acatgaagca caaaaacaaa aaaaaaaaaa aaaaa 575
 <210> 12
 <211> 126
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> 4-1BB
 <400> 12
 aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacac catttatgag accagtaca 60

 actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt 120
 gaactg 126
 <210> 13
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> CD3-zeta
 <400> 13

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
 cgggacctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
 gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac caggtctca gtacagccac caaggacacc 300
 tacgacgccc ttcacatgca ggccctgecc cctcgctaa 339

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Canonical hemi-tam

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(5)

<223> X = any amino acid

<400> 14

Asp Gly Tyr Xaa Xaa Leu

1 5

<210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> ITSM Motif

<220

><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> N = S or T

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> x = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(5)

<223> x = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> N = L or I

<400> 15

Asn Xaa Tyr Xaa Xaa Asn

1 5

<210> 16

<211> 614

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> Membrane-bound IL15

<400> 16

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccgaactggg tgaatgtaat aagtgatttg aaaaaaattg aagatcttat tcaatctatg 120

catattgatg ctactttata tacggaaagt gatgttcacc ccagttgcaa agtaacagca 180

atgaagtgct ttctcttgga gttacaagtt atttcaacttg agtccggaga tgcaagtatt 240

catgatacag tagaaaatct gatcatccta gcaaacaaca gtttgtcttc taatgggaat 300

gtaacagaat ctggatgcaa agaatgtgag gaactggagg aaaaaaatat taaagaattt 360

ttgcagagtt ttgtacatat tgtccaaatg ttcatacaaca cttctaccac gacgccagcg 420

ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgccagag 480

gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgctgtgat 540

atctacatct gggcgcctt ggccgggact tgtgggtcc ttctctgtc actggtatca 600

ccctttactg ctaa 614

<210> 17

<211> 204

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Membrane-bound IL15

<400> 17

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 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys

20 25 30

Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr

35 40 45

Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser

85 90 95

Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu

100 105 110

Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val

115 120 125

Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro

130 135 140

Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu

145 150 155 160

Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp

165 170 175

Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly

180 185 190

Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

195 200

<210> 18

<211> 1140

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NKG2D/CD8a/4-1BB/CD3z

<220><221> misc_feature

<223> NKG2D/CD8a/4-1BB/CD3z (aka NK16)
 <400> 18
 atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120
 aaaaactgga tatgttacia aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180
 tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240
 gaggaccagg attacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300
 ccaacaaatg gatcttggca gtgggaagat ggctccattc tctacccaa cctactaaca 360

ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420
 gaaaactggt caactccaaa tacatacatc tgcatgcaaa ggactgtgac cagcagcca 480
 gcgccgagc caccaacacc ggcgcccacc atcgctcgc agcccctgtc cctgcgcca 540
 gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgctgt 600
 gatatctaca tctggcgcc cttggccggg acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt 660
 atcacccfff actgcaaacg gggcagaaag aaactcctgt atatatcaa acaaccatff 720
 atgagaccag tacaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 780

gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac 840
 cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 900
 gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 960
 cctcaggaag gcctgtacia tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag 1020
 attgggatga aaggcagcgc ccggaggggc aaggggcacg atggccttta ccagggtctc 1080
 agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggcctgcc cctcgcftaa 1140

<210> 19
 <211> 379
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino acid sequence of NKG2D/CD8a/4-1BB/CD3z

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino acid sequence of NKG2D/CD8a/4-1BB/CD3z (aka NK16)

<400> 19

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30
 Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45
 Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln
 50 55 60
 Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys
 65 70 75 80
 Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly
 85 90 95
 Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser
 100 105 110
 Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp
 115 120 125
 Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser
 130 135 140
 Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro
 145 150 155 160
 Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175
 Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 180 185 190
 Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
 195 200 205
 Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
 210 215 220
 Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
 225 230 235 240
 Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
 245 250 255
 Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser

260 265 270
 Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
 275 280 285

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys

290 295 300
 Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
 305 310 315 320

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
 325 330 335

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
 340 345 350

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr

355 360 365
 Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

370 375

<210> 20

<211> 46

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino acid for NCR1 TM/IC

<400> 20

Met Gly Leu Ala Phe Leu Val Leu Val Ala Leu Val Trp Phe Leu Val

1 5 10 15

Glu Asp Trp Leu Ser Arg Lys Arg Thr Arg Glu Arg Ala Ser Arg Ala
 20 25 30

Ser Thr Trp Glu Gly Arg Arg Arg Leu Asn Thr Gln Thr Leu

35 40 45

<210> 21

<211> 276

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Full length NCR2

<400> 21

Met Ala Trp Arg Ala Leu His Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe

1 5 10 15

Pro Gly Ser Gln Ala Gln Ser Lys Ala Gln Val Leu Gln Ser Val Ala

 20 25 30

Gly Gln Thr Leu Thr Val Arg Cys Gln Tyr Pro Pro Thr Gly Ser Leu

 35 40 45

Tyr Glu Lys Lys Gly Trp Cys Lys Glu Ala Ser Ala Leu Val Cys Ile

50 55 60

Arg Leu Val Thr Ser Ser Lys Pro Arg Thr Met Ala Trp Thr Ser Arg

65 70 75 80

Phe Thr Ile Trp Asp Asp Pro Asp Ala Gly Phe Phe Thr Val Thr Met

 85 90 95

Thr Asp Leu Arg Glu Glu Asp Ser Gly His Tyr Trp Cys Arg Ile Tyr

 100 105 110

Arg Pro Ser Asp Asn Ser Val Ser Lys Ser Val Arg Phe Tyr Leu Val

115 120 125

Val Ser Pro Ala Ser Ala Ser Thr Gln Thr Ser Trp Thr Pro Arg Asp

130 135 140

Leu Val Ser Ser Gln Thr Gln Thr Gln Ser Cys Val Pro Pro Thr Ala

145 150 155 160

Gly Ala Arg Gln Ala Pro Glu Ser Pro Ser Thr Ile Pro Val Pro Ser

 165 170 175

Gln Pro Gln Asn Ser Thr Leu Arg Pro Gly Pro Ala Ala Pro Ile Ala

180 185 190

Leu Val Pro Val Phe Cys Gly Leu Leu Val Ala Lys Ser Leu Val Leu

195 200 205

Ser Ala Leu Leu Val Trp Trp Gly Asp Ile Trp Trp Lys Thr Met Met

210 215 220

Glu Leu Arg Ser Leu Asp Thr Gln Lys Ala Thr Cys His Leu Gln Gln

225 230 235 240

Val Thr Asp Leu Pro Trp Thr Ser Val Ser Ser Pro Val Glu Arg Glu

245 250 255

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

260 265 270

Glu His Thr Leu

275

<210> 22

<211> 66

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> NCR3 TM/IC domains

<400> 22

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

1 5 10 15

Leu Ser Val Ala Val Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Gln Gly Lys Cys Leu

20 25 30

Thr Trp Lys Gly Pro Arg Arg Gln Leu Pro Ala Val Val Pro Ala Pro

35 40 45

Leu Pro Pro Pro Cys Gly Ser Ser Ala His Leu Leu Pro Pro Val Pro

50 55 60

Gly Gly

65

<210> 23

<211> 741

<

212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NKG2D/CD16

<400> 23

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgcccgc 60
 ccctgttca accaggaagt gcagatcccc ctgaccgagt cctattgtgg cccttgccct 120
 aagaattgga tttgctataa aaacaactgc taccagtctt ttgacgagtc taagaattgg 180
 tatgagtccc aggcctcttg tatgagccag aacgcctctc tgctgaaggt gtacagcaag 240
 gaggaccagg atctgctgaa gctggtgaag tcctatcact ggatgggcct ggtgcacatc 300
 cccacaaaacg gctcttggca gtgggaggac ggtccatcc tgtctcctaa tctgctgacc 360

atcatcgaga tgcagaaggg cgattgcgcc ctgtacgcca gctccttcaa gggtatatc 420
 gagaactgca gcacacccaa tacctacatc tgtatgcagc ggacagtgac cacaacccca 480
 gcaccaggc ccctacacc tgcaccaacc atcgcaagcc agccactgtc cctgaggcct 540
 gaggcatgta ggccagcagc aggaggagca gtgcacacac ggggcctgga cttcgctgc 600
 gatgtgagct tttgtctggt catggtgctg ctgttcgccg tggataccgg cctgtatfff 660
 tccgtgaaga caaatatccg gtctagcacc agagactgga aggatcaciaa gttcaaatgg 720
 aggaaggacc cacaggacaa g 741

<210> 24
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE
 <223> NKG2D/CD16
 <400> 24

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

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

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser
 100 105 110

Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp
 115 120 125

Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser
 130 135 140

Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro
 145 150 155 160

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 180 185 190

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Val Ser Phe Cys Leu Val Met
 195 200 205

Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr
 210 215 220

Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp Lys Asp His Lys Phe Lys Trp
 225 230 235 240

Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
 245

<210> 25

<211> 870

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> CD8/NKG2D0pt/CD8a/CD16 TM/IC/4-1BB

<400> 25

atggctctgc ccgtcaccgc actgetgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60
 ccactgttca atcaggaagt ccagatcccc ctgacagagt cttactgcgg cccatgtccc 120
 aagaactgga tctgctacaa gaacaattgt tatcagttct ttgacgagag caagaactgg 180
 tatgagtccc aggcctcttg catgagccag aatgcctctc tgctgaaggt gtacagcaag 240

gaggaccagg atctgctgaa gctgggtgaag tcctatcact ggatgggcct ggtgcacatc 300

cctacaaacg gctcttggca gtgggaggac ggctccatcc tgtctccaaa tctgctgacc 360

atcatcgaga tgcagaaggg cgattgccc ctgtaccca gctccttcaa gggctatatac 420

gagaactgct ccacaccaa tacctacatc tgtatgcaga ggaccgtgac cacaaccct 480

gcaccagcc ccctacacc agcacctacc atcgaagcc agcctctgtc cctgcggcca 540

gaggcatgta gaccagcagc aggaggagca gtgcacacaa gaggcctgga cttcgctgc 600

gatgtgagct tttgtctggc catgggtgctg ctgttcgccg tggataccgg cctgtacttt 660

tcctgaaga caaatatcag gtctagcacc cgcgactgga aggatcaciaa gtttaagtgg 720

cggaaggacc ctcaggataa gaagcggggc agaaagaagc tgctgtatat cttcaagcag 780

cccttcatgc ggcccgtgca gacaaccag gaggaagacg gctgctcatg tagatttct 840

gaagaagaag aaggggctg tgaactgtaa 870

<210> 26

<211> 289

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD8/NKG2D0pt/CD8a/CD16 TM/IC/4-1BB

<400> 26

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgcccgc 60
 cctctgttca accaggaagt gcagatcct ctgaccgaaa gctattgcgg accttgccct 120
 aagaattgga tttgctataa aaacaactgc taccagtctt ttgacgagtc taagaattgg 180
 tatgagtctc aggccagctg tatgtcccag aacgcctctc tgctgaaggt gtacagcaag 240
 gaggaccagg atctgctgaa gctggtgaag tcctatcact ggatgggcct ggtgcacatc 300

cccacaaacg gctcttggca gtgggaggac ggctctatcc tgagccctaa tetgctgacc 360
 atcatcgaga tgcagaaggg cgattgcgcc ctgtacgcca gctccttcaa ggctatatc 420
 gagaactgca gcacacccaa tacctacatc tgtatgcaga ggacagtgc cacaacccca 480
 gcaccccgcc ccctacacc tgcaccaacc atcgcaagcc agccactgtc cctgcggcct 540
 gaggcctgca gaccagcagc aggaggagca gtgcacaccc ggggcctgga cttcgctgt 600
 gatatgggcc tggcctttct ggtgctggtg gccctggtgt ggtttctggt ggaggattgg 660
 ctgtcccgga agagaacaag ggagagggcc tcccgggcct ctacctggga aggaagaagg 720

agactgaaca cccagacact g 741

<210> 28

<211> 247

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> NKG2D/NCR1

<400> 28

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

100 105 110

Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp

115 120 125

Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser

130 135 140

Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro

145 150 155 160

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu

165 170 175

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

180 185 190

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Met Gly Leu Ala Phe Leu Val

195 200 205

Leu Val Ala Leu Val Trp Phe Leu Val Glu Asp Trp Leu Ser Arg Lys

210 215 220

Arg Thr Arg Glu Arg Ala Ser Arg Ala Ser Thr Trp Glu Gly Arg Arg

225 230 235 240

Arg Leu Asn Thr Gln Thr Leu

245

<210> 29

<211> 801

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NKG2D/NCR3

<400> 29

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccaga 60

ccctgttca accaggaggt gcagattccc ctgacagaaa gctattgtgg cccttgccct 120

aaaaattgga tttgctataa aaacaactgc taccagtctt ttgacgagtc taagaattgg 180

tatgagtctc aggccagctg tatgtcccag aacgcctctc tgctgaaggt gtacagcaag 240

gaggaccagg atctgctgaa gctggtgaag tcctatcact ggatgggcct ggtgcacatc 300
 cctacaaacg gctcttggca gtgggaggac ggctctatcc tgagcccaaa tctgctgacc 360
 atcatcgaga tgcagaaggg cgattgcgcc ctgtacgcca gctccttcaa gggctatatac 420
 gagaactgca gcacacccaa tacctacatc tgtatgcagc ggacagtgac cacaacccca 480
 gcaccagac ccctacacc tgcaccaacc atgccagcc agccactgtc cctgaggccc 540
 gaggcataca ggctgcagc aggaggcgcc gtgcacacaa ggggcctgga ctttgctgt 600
 gatgcaggaa ccgtgctgct gctgagagca ggcttctatg ccgtgtcctt tctgtctgtg 660

gccgtgggct ccacagtga ctatcagggc aagtgcctga cctggaaggg cccacggaga 720
 cagctgcccg ccgtgggtgcc cgcccctctg ccacccctt gtggcagtag cgcccactg 780
 ctgccaccg tgcccggagg a 801

<210> 30

<211> 267

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> NKG2D/NCR3

<400> 30

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

100 105 110

Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp

115 120 125
Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser
130 135 140
Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro

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

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

<210> 31

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (6)..(6)

<223> N is an integer indicating the number of GGGGS repeated

<400> 31

Gly Gly Gly Gly Ser Asn

1 5

<210> 32

<211> 60

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> GS3/CD8a

<400> 32

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr
 1 5 10 15
 Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
 20 25 30

Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
 35 40 45

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
 50 55 60

<210> 33

<211> 45

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> GS9

<400> 33

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 35 40 45

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> GS3

<400> 34

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 35

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> 2B4 ICR

<400> 35

Trp Arg Arg Lys Arg Lys Glu Lys Gln Ser Glu Thr Ser Pro Lys Glu

1 5 10 15

Phe Leu Thr Ile Tyr Glu Asp Val Lys Asp Leu Lys Thr Arg Arg Asn

20 25 30

His Glu Gln Glu Gln Thr Phe Pro Gly Gly Gly Ser Thr Ile Tyr Ser

35 40 45

Met Ile Gln Ser Gln Ser Ser Ala Pro Thr Ser Gln Glu Pro Ala Tyr

50 55 60

Thr Leu Tyr Ser Leu Ile Gln Pro Ser Arg Lys Ser Gly Ser Arg Lys

65 70 75 80

Arg Asn His Ser Pro Ser Phe Asn Ser Thr Ile Tyr Glu Val Ile Gly

85 90 95

Lys Ser Gln Pro Lys Ala Gln Asn Pro Ala Arg Leu Ser Arg Lys Glu

100 105 110

Leu Glu Asn Phe Asp Val Tyr Ser

115 120

<210> 36

<211> 360

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> 2B4 ICR

<400> 36

tggaggagga aaaggaagga gaaacagagc gagacctccc ctaaggagt cctgaccatc 60

tacgaggacg tgaaggacct gaagaccagg aggaaccacg agcaggaaca gacctttcct 120
 ggcggaggca gcaccatcta cagcatgac cagagccaga gcagcgcccc taccagccaa 180
 gagcctgcct acacctgta cagcctgac cagcccagca ggaaaagcgg ctccaggaag 240
 aggaaccaca gcccagctt caacagcacc atctatgagg tgatcggcaa gagccagccc 300
 aaggcccaga accctgccag gctgtccagg aaggagctgg agaacttca cgtgtacagc 360

<210> 37
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE
 <223> NKp80 ICR
 <400> 37

Met Gln Asp Glu Asp Gly Tyr Met Thr Leu Asn Val Gln Ser Lys Lys
 1 5 10 15
 Arg Ser Ser Ala Gln Thr Ser Gln Leu Thr Phe Lys Asp Tyr Ser Val
 20 25 30
 Thr Leu His Trp Tyr Lys
 35

<210> 38
 <211> 114
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature

<223> NKp80 ICR
 <400> 38
 atgcaggatg aggacggcta tatgaccctg aacgtccagt ccaagaagag gtccagcgct 60
 cagaccagcc agctgacctt caaggactac tccgtgacct tgcactggta caag 114

<210> 39
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE
 <223> B2Ad N-term ECD

<400> 42
 gtgtgggtgg tgggcatggg catcgtcatg tctctcatcg tcctggccat cgtgtttggc 60
 aatgtgctgg tcatcacagc cattgccaag ttcgagcgt 99

<210> 43
 <211> 924
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature

<223

> NK15_1

<400> 43
 gccgccacca tggtctgcc cgtcaccgca ctgctgctgc ctctggctct gctgctgcac 60
 gccgcacgac cactgttcaa tcaggaagtc cagatcccc tgacagagtc ttactgcggc 120
 ccatgtccca agaactggat ctgctacaag aacaattgtt atcagttctt tgacgagagc 180
 aagaactggg atgagtccca ggctcttgc atgagccaga atgcctctct gctgaagggt 240
 tacagcaagg aggaccagga tctgctgaag ctggtgaagt cctatcactg gatgggcctg 300
 gtgcacatcc ctacaaacgg ctcttggcag tgggaggacg gctccatcct gtctccaaat 360
 ctgctgacca tcatcgagat gcagaagggc gatttgcgcc tgtacgccag ctcttcaag 420

 ggctatatcg agaactgctc cacaccaat acctacatct gtatgcagag gaccgtgggt 480
 ggcggtggct cgggcggtgg tgggtcgggt ggcgccggat ctaccacaac cctgcacca 540
 cgcccccta caccagcacc taccatcgca agccagcctc tgtccctgcg gccagaggca 600
 tgtagaccag cagcaggagg agcagtgcac acaagaggcc tggacttcgc ctgcatgtg 660
 agcttttgtc tggatcatgt gctgctgttc gccgtggata ccggcctgta cttttccgtg 720
 aagacaaata tcaggtctag caccgcgac tggaggatc acaagtttaa gtggcggaag 780
 gaccctcagg ataagaagcg gggcagaaag aagctgctgt atatcttcaa gcagccctc 840

 atgcggcccc tgcagacaac ccaggaggaa gacggctgct catgtagatt tectgaagaa 900
 gaagaagggg gctgtgaact gtaa 924

<210> 44
 <211> 789
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature

<223> NK15_2

<400> 44

```

gccgccacca tggctctgcc cgtcaccgca ctgctgctgc ctctggctct gctgctgcac      60
gccgcacgac cactgttcaa tcaggaagtc cagatcccc tgacagagtc ttactgcggc      120
ccatgtccca agaactggat ctgctacaag aacaattggt atcagttctt tgacgagagc      180
aagaactggt atgagtccca ggcctcttgc atgagccaga atgcctctct gctgaaggtg      240

tacagcaagg aggaccagga tctgctgaag ctggtgaagt cctatcactg gatgggcctg      300
gtgcacatcc ctacaaacgg ctcttggcag tgggaggacg gctccatcct gtctccaaat      360
ctgctgacca tcatcgagat gcagaagggc gattgcgccc tgtacgccag ctcttcaag      420
ggctatatcg agaactgctc cacaccaat acctacatct gtatgcagag gaccgtgggt      480
ggcgggtggct cgggcgggtg tgggtcgggt ggcggcggat ctgtgagctt ttgtctggtc      540
atggtgctgc tgttcgccgt ggataccggc ctgtactttt ccgtgaagac aaatatcagg      600
tctagcaccg cgcactggaa ggatcacaag ttaagtggc ggaaggaccg tcaggataag      660

aagcggggca gaaagaagct gctgtatac ttcaagcagc ccttcatgcg gcccgctcag      720
acaaccagg aggaagacgg ctgctcatgt agatttctg aagaagaaga agggggctgt      780
gaactgtaa                                         789

```

<210> 45

<211> 744

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NK15_3

<400> 45

```

gccgccacca tggctctgcc cgtcaccgca ctgctgctgc ctctggctct gctgctgcac      60
gccgcacgac cactgttcaa tcaggaagtc cagatcccc tgacagagtc ttactgcggc      120
ccatgtccca agaactggat ctgctacaag aacaattggt atcagttctt tgacgagagc      180

aagaactggt atgagtccca ggcctcttgc atgagccaga atgcctctct gctgaaggtg      240
tacagcaagg aggaccagga tctgctgaag ctggtgaagt cctatcactg gatgggcctg      300
gtgcacatcc ctacaaacgg ctcttggcag tgggaggacg gctccatcct gtctccaaat      360
ctgctgacca tcatcgagat gcagaagggc gattgcgccc tgtacgccag ctcttcaag      420
ggctatatcg agaactgctc cacaccaat acctacatct gtatgcagag gaccgtgggt      480
agcttttgtc tggctcatggt gctgctgttc gccgtggata ccggcctgta cttttccgtg      540

```

aagacaaata tcaggtctag cacccgcgac tggaggatc acaagtttaa gtggcggaag 600

gaccctcagg ataagaagcg gggcagaaag aagctgctgt atatcttcaa gcagcccttc 660

atgcgcccg tgcagacaac ccaggaggaa gacggctgct catgtagatt tectgaagaa 720

gaagaagggg gctgtgaact gtaa 744

<210> 46

<211> 1164

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NK15_4

<400> 46

gccgccacca tggccctgcc tgtgacagcc ctgctgctgc ctctggctct gctgctgcac 60

gctgccagac ccttattcaa ccaagaagt ccaattcct tgaccgaaag ttactgtggc 120

ccatgtccta aaaactggat atgttacaaa aataactgct accaattttt tgatgagagt 180

aaaaactggt atgagagcca ggcttcttgt atgtctcaaa atgccagcct tctgaaagta 240

tacagcaaag aggaccagga ttactttaa ctggtgaagt catatcattg gatgggacta 300

gtacacattc caacaaatgg atcttggcag tgggaagatg gctccattct ctaccaaac 360

ctactaacia taattgaaat gcagaaggga gactgtgcac tctatgcctc gagctttaa 420

ggctatatag aaaactgttc aactccaaat acgtacatct gcatgcaaag gactgtgacc 480

acaacccccg ctcccagacc tcttaccct gccctacaa tcgccagcca gccctgagc 540

ctgagaccgg aagcctgtag acctgctgcc ggaggcctg tgcacacaag aggcctggac 600

ttgcctgcg atatctatat ctgggcccct ctggctggaa cctgtggcgt getgctgctg 660

agcctggtga ttaccaagag gggcaggaag aagctgctgt acatcttcaa gcagcccttc 720

atgagccccg tgcaaacac ccaggaggag gacggctgca gctgcagatt ccctgaggag 780

gaggagggcg gatgagctgt gtggaggagg aaaaggaagg agaaacagag cgagacctec 840

cctaaggagt tctgacct ctacaggac gtgaaggacc tgaagaccag gaggaaccac 900

gagcaggaac agaccttttc tggcggaggc agcacatct acagcatgat ccagagccag 960

agcagcgccc ctaccagcca agagcctgcc tacacctgt acagcctgat ccagcccagc 1020

aggaaaagcg gctccaggaa gaggaaccac agccccagct tcaacagcac catctatgag 1080

gtgatcgca agagccagc caaggcccag aaccctgcca ggctgtccag gaaggagctg 1140

gagaacttcg acgtgtacag ctga 1164

<210> 47

<211> 1155

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NK15_5

<400> 47

gccgccacca tggccctgcc tgtgacagcc ctgctgctgc ctctggctct gctgctgcac 60

gctgccagac ccttattcaa ccaagaagtt caaatccct tgaccgaaag ttactgtggc 120

ccatgtccta aaaactggat atgttaciaa aataactgct accaattttt tgatgagagt 180

aaaaactggt atgagagcca ggcttcttgt atgtctcaaa atgccagcct tctgaaagta 240

tacagcaaag aggaccagga tttacttaaa ctggtgaagt catatcattg gatgggacta 300

gtacacattc caacaaatgg atcttggcag tgggaagatg gctccattct ctcaccaac 360

ctactaacia taattgaaat gcagaaggga gactgtgcac tctatgcctc gagctttaa 420

ggctatatag aaaactgttc aactccaaat acgtacatct gcatgcaaag gactgtgatg 480

ggacagcctg gaaacggcag cgccttctg ctggccccta acagaagcca cgccccgat 540

cacgatgtga cccagcagag ggacgaggtg tgggtggtgg gcatgggcat cgtgatgagc 600

ctgatcgtgc tggctatcgt gttcggcaac gtgctggtga tcaccgcat cgccaagttc 660

gagaggaaga ggggcaggaa aaagctgctc tacatcttca agcagccctt catgaggccc 720

gtgcagacca cccaggaaga ggatggctgc tctgttaggt ttcccagga ggaggagggc 780

ggctgtgagc tgtggaggag aaaaaggaag gagaagcaga gcgagaccag cccaaggag 840

ttcttgacca tctacagga cgtgaaggac ctgaagacca ggaggaacca cgagcaggaa 900

cagaccttc ccggcggagg cagcacatc tacagcatga tccagagcca gtccagcgcc 960

cccacaagcc aggaaccgc ctacacactg tatagcctga tccagccctc caggaagagc 1020

ggcagcagga agaggaacca cageccagc ttcaacagca ccatttacga ggtgatcgga 1080

aagagccagc ccaaggctca gaaccccgcc aggctgagca ggaaggagct cgaaaacttc 1140

gacgtgtaca gctga 1155

<210> 48

<211> 1349

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NK15_6

<400> 48

ggatccgaat tcgccccac catggccctg cctgtgacag ccctgctgct gcctctggct 60
 ctgctgctgc acgctgccag acccttattc aaccaagaag ttcaaattcc cttgaccgaa 120
 agttactgtg gcccatgtcc taaaaactgg atatgttaca aaaataactg ctaccaattt 180

tttgatgaga gtaaaaactg gtatgagagc caggcttctt gtatgtctca aatgccagc 240
 cttctgaaag tatacagcaa agaggaccag gatttactta aactggtgaa gtcatatcat 300
 tggatgggac tagtacacat tccaacaaat ggatcttggc agtgggaaga tggctccatt 360
 ctctcaccca acctactaac aataattgaa atgcagaagg gagactgtgc actctatgcc 420
 tcgagcttta aaggctatat agaaaactgt tcaactccaa atacgtacat ctgcatgcaa 480
 aggactgtga ccacaacccc tgctcccaga cctcccacac ccgccctac aategcctcc 540
 cagcctctga gcctgagacc cgaagcctgt agacctgccg ccggcggagc tgtgcataca 600

agaggcctgg acttcgcctg cgacatctac atctgggccc ctctggctgg cacatgcgga 660
 gtctctgctgc tgagcctggt gatcaccaag aggggcagga agaagctgct gtacatcttc 720
 aagcagccct tcatgagccc tgtgcagacc acacaggagg aggacggctg ctctgcagg 780
 ttccctgagg aggaggaggg aggctgagcag ctgtggagga ggaagagaaa ggagaagcag 840
 tccgagacct cccccaagga gtctctcacc atttacgagg acgtgaagga cctgaagacc 900
 aggagaaacc acgagcagga acaaaccttc cccggcggcg gcagcaccat ctacagcatg 960
 atccagagcc agtcctccgc ccctacaagc caggagcctg cctacaccct gtacagcctg 1020

atccagccta gcaggaagag cggctccagg aagaggaacc actccccag cttcaacagc 1080
 accatztatg aggtgatcgg caagtcccag cccaaggccc agaaccctgc cagactgtcc 1140
 aggaaggagc tggagaactt cgacgtctac tccggcggcg gcggcagcgg cggaggaggc 1200
 tccggaggag gcggcagcat gcaggatgag gacggctata tgaccctgaa cgtccagtcc 1260
 aagaagaggt ccagcgtca gaccagccag ctgacctca aggactactc cgtgaccctg 1320
 cactggtaca agtgagcggc cgcgtcgac 1349

<210> 49

<211> 989

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NK15_7

<400> 49

```

ggatccgaat tcgccccac catggccctg cctgtgacag ccctgctgct gcctctggct      60
ctgctgctgc atgccccag acccttattc aaccaagaag ttcaaattcc cttgaccgaa      120
agttactgtg gcccatgtcc taaaaactgg atatgttaca aaaataactg ctaccaattt      180
tttgatgaga gtaaaaactg gtatgagagc caggcttctt gtatgtctca aaatgccagc      240
cttctgaaag tatacagcaa agaggaccag gatttactta aactggtgaa gtcatatcat      300
tggatgggac tagtacacat tccaacaaat ggatcttggc agtgggaaga tggctccatt      360

ctctcaccca acctactaac aataattgaa atgcagaagg gagactgtgc actctatgcc      420
tcgagcttta aaggctatat agaaaactgt tcaactccaa atacgtacat ctgcatgcaa      480
aggactgtga ccaccacccc tgctcccaga cccctacac ctgccctac aatgccagc      540
cagcccctga gcctgagacc tgaggcctgc agacctgctg ctggaggcgc tgtgcacaca      600
aggggcctcg acttcgctg cgacatctac atctgggccc ctctggccgg cacatgtgga      660
gtgctgctgc tgcctctgt gatcaccaag aggggcagga agaagctgct gtacatcttc      720
aagcagccct tcatgaggcc cgtgcagacc acccaggagg aggacggctg ctctgcaga      780

tccccgagg aggaggagg cggatgtgaa ctgggcggag gaggcagcgg cggcggcggc      840
agcggcggcg gcggcagcat gcaggatgag gacggctaca tgacctgaa cgtgcagagc      900
aagaagagga gcagcgccca gaccagccag ctgacctca aggactacag cgtgacctg      960
cactggtaca agtgagcggc cgcgtcgac      989

```

<210> 50

<211> 1430

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NK15_8

<400> 50

```

ggatccgaat tcgccccac catggccctg cccgtgacag ctctgctgct gcctctggcc      60
ctgctgctgc atgccctag acccctgttc aaccaggagg tgcagatccc cctgaccgaa      120

agctactgcg gccctgccc caagaactgg atctgttaca agaacaactg ctatcagttc      180
ttcgacgaga gcaagaactg gtacgagagc caggccagct gtatgagcca gaacgccagc      240
ctgctgaaag tgtatagcaa ggaggaccag gacctgctga agctggtgaa gagctaccac      300
tggatgggcc tggtgacat ccccaccaac ggaagctggc agtgggagga cggcagcatc      360
ctgagcccca acctgctgac catcatcgag atgcagaagg gcgactgcgc cctgtatgcc      420

```


agcagcttca agggctacat cgagaactgt agcaccccca acacctacat ctgcatgcag 480
 aggaccgtgg gcggcggcgg cagcggcgga ggcggctccg gcggcggcgg cagcttattc 540

 aaccaagaag ttcaaattcc cttgaccgaa agttactgtg gcccatgtcc taaaaactgg 600
 atatgttaca aaaataactg ctaccaattt ttgatgaga gtaaaaactg gtatgagagc 660
 caggcttctt gtatgtctca aaatgccagc cttctgaaag tatacagcaa agaggaccag 720
 gatttactta aactggtgaa gtcatatcat tggatgggac tagtacacat tccaacaaat 780
 ggatcttggc agtgggaaga tggctccatt ctctcaccca acctactaac aataattgaa 840
 atgcagaagg gagactgtgc actctatgcc tcgagcttta aaggctatat agaaaactgt 900
 tcaactcaa atacgtacat ctgcatgcaa aggactgtga tgggccagcc tggcaacggc 960

 agcgcctttc tgcctggccc caacaggagc catgccctg accacgacgt gaccagcag 1020
 agggacgagg tctgggtggt gggcatgggc atcgtgatga gcctgatcgt gctggccatc 1080
 gtgttcggca acgtgctggt gatcaccgcc atcgccaagt tcgagaggaa gaggggcagg 1140
 aagaagctgc tgtacatctt caagcagccc ttcattgagac ccgtgcaaac caccaggag 1200
 gaggacggct gcagctgcag gtttcccag gagaggagg gcgatgcga actgggaggc 1260
 ggaggaagcg gaggaggagg atccggagga ggcggaagca tgcaggacga ggacggctac 1320
 atgaccctga acgtccagag caagaagagg agcagcggcc agacctcca gctgaccttc 1380

 aaggactact ccgtgacct gcactggtac aagtgagcgg ccgctcgac 1430
 <210> 51
 <211> 1439
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> NK15_9
 <400> 51

 ggatccgaat tcgccgccac catggccctg cccgtgacag ctctgctgct gectctgccc 60
 ctgctgctgc atgccgctag acccctgttc aaccaggagg tgcagatccc cctgaccgaa 120
 agctactgcg gccctgccc caagaactgg atctgttaca agaacaactg ctatcagttc 180
 ttcgacgaga gcaagaactg gtacgagagc caggccagct gtatgagcca gaacgccagc 240
 ctgctgaaag tgtatagcaa ggaggaccag gacctgtga agctggtgaa gagctaccac 300

 tggatgggccc tgggtgacat ccccaccaac ggaagctggc agtgggagga cggcagcatc 360
 ctgagcccca acctgctgac catcatcgag atgcagaagg gcgactgccc cctgtatgcc 420

agcagcttca agggctacat cgagaactgt agcaccccca acacctacat ctgcatgcag 480
 aggaccgtgg gcggcgccgg cagcggcgga ggcggctccg gcggcgccgg cagcttattc 540
 aaccaagaag ttcaaatcc cttgaccgaa agttactgtg gcccatgtcc taaaaactgg 600
 atatgttaca aaaataactg ctaccaattt ttgatgaga gtaaaaactg gtatgagagc 660
 caggcttctt gtatgtctca aatgccagc ctctgaaag tatacagcaa agaggaccag 720

gatttactta aactggtgaa gtcatatcat tggatgggac tagtacacat tccaacaaat 780
 ggatcttggc agtgggaaga tggctccatt ctctcaccca acctactaac aataattgaa 840
 atgcagaagg gagactgtgc actctatgcc tcgagcttta aaggctatat agaaaactgt 900
 tcaactccaa atacgtacat ctgcatgcaa aggactgtga ccaccacccc tgctcccaga 960
 ccccctacac ctgccctac aatgccagc cagcccctga gcctgagacc tgaggcctgc 1020
 agacctgctg ctggaggcgc tgtgcacaca aggggcctcg acttcgctg cgacatctac 1080
 atctgggccc ctctggccgg cacatgtgga gtgctgctgc tgtccctggt gatcaccaag 1140

aggggcagga agaagctgct gtacatcttc aagcagccct tcatgaggcc cgtgcagacc 1200
 acccaggagg aggacggctg ctccctgcaga ttccccgagg aggaggaggg cggatgtgaa 1260
 ctggcgaggag gaggcagcgg cggcgccggc agcggcgccg gcggcagcat gcaggatgag 1320
 gacggctaca tgacctgaa cgtgcagagc aagaagagga gcagcgcca gaccagccag 1380
 ctgacctca aggactacag cgtgacctg cactggtaca agtgagcggc cgcgtcgac 1439

<210> 52

<211> 1329

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NK15_10

<400> 52

gccgccacaa tggccctgcc tgtgacagcc ctgctgctgc ctctggccct gctgctgcat 60

gctgccaggc ctctgttcaa ccaggagggtg cagatccctc tgaccgagag ctactgcggc 120
 ccctgcccc agaactggat ctgctacaag aacaactgct accagtctt cgacgagagc 180
 aagaactggt acgagagcca ggccagctgc atgtcccaga acgctagcct gctgaagggtg 240
 tatagcaagg aggaccagga cctgctgaag ctggtgaaga gctaccactg gatgggcctg 300
 gtgcacatcc ccaccaacgg ctctggcag tgggaggacg gcagcatcct gagccctaac 360
 ctgctgacca tcatcgagat gcagaaggga gactgcgccc tgtacgccag ctctttaag 420

ggctacatcg agaactgcag cacccccaac acctacatct gtatgcagag gaccgtggga 480

 ggcgcgcgca gcgcgcgcg cggcagcggc ggcggcgca gcttattcaa ccaagaagtt 540
 caaatccct tgaccgaaag ttactgtggc ccatgtecta aaaactggat atgttacaaa 600
 aataactgct accaattttt tgatgagagt aaaaactggt atgagagcca ggcttcttgt 660
 atgtctcaa atgccagct tctgaaagta tacagcaaag aggaccagga ttacttaaa 720
 ctggtgaagt catatcattg gatgggacta gtacacattc caacaatgg atcttggcag 780
 tgggaagatg gctccattct ctcaccaac ctactaaca taatgaaat gcagaagga 840
 gactgtgcac tctatgcctc gagctttaa ggctatatag aaaactgttc aactccaaat 900

 acgtacatct gcatgcaaag gactgtgacc accaccctg cccctagacc cctacacct 960
 gccctacca tcgccagcca gcctctgagc ctgagaccgc aggctgtag acctgctgcc 1020
 ggaggagccg tgcacacaag aggctggac ttgcctgcg acgtgagctt ctgcctggtg 1080
 atggtgctgc tgttcgctg ggacaccggc ctgtacttca gcgtgaagac caacatcagg 1140
 agcagacca gggactggaa ggaccacaaa ttcaagtga ggaaggacc ccaggacaag 1200
 aagaggggca ggaagaagct gctgtacatc ttcaagcagc cttcatgag gectgtgcag 1260
 accaccagg aggaggcgg ctgcagctgc aggttcctg aggaggaaga gggcgctgc 1320

 gagctgtga 1329
 <210> 53
 <211> 1239
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220><221> misc_feature
 <223> NK15_11
 <400> 53

 gccgccacca tggtctgcc cgtcaccgca ctgctgctgc ctctggctct gctgctgcac 60
 gccgcagcag cactgttcaa tcaggaagtc cagatceccc tgacagagtc ttactcggc 120
 ccatgtccca agaactggat ctgctacaag acaattgtt atcagttctt tgacgagagc 180
 aagaactggt atgagtccca ggcctcttgc atgagccaga atgcctctct gctgaaggtg 240
 tacagcaagg aggaccagga tctgctgaag ctggtgaagt cctatcactg gatgggcctg 300

 gfgcacatcc ctacaaacgg ctcttggcag tgggaggacg gctccatcct gtctccaaat 360
 ctgctgacca tcatcgagat gcagaagggc gattgcgccc tgtacgccag ctcttcaag 420
 ggctatatcg agaactgctc cacaccaat acctacatct gtatgcagag gaccgtgacc 480

acaaccctg caccacgcc ccctacacca gcacctacca tgcgaagcca gcctctgtcc 540
 ctgcgccag aggcatgtag accagcagca ggaggagcag tgcacacaag aggcctggac 600
 ttgcctgcg atgtgagctt ttgtctggtc atggtgctgc tgttcgccgt ggataccggc 660
 ctgtactttt ccgtgaagac aaatatcagg tctagcacc gcgactggaa ggatcacaag 720

tttaagtggc ggaaggacc tcaagataag aagcggggca gaaagaagct gctgtatc 780
 ttcaagcage cttcatgcg gccctgacag acaaccagg aggaagacgg ctgctcatgt 840
 agatttctg aagaagaaga agggggctgt gaactgtgga ggaggaaaag gaaggagaaa 900
 cagagcgaga cctcccctaa ggagtctctg accatctacg aggacgtgaa ggacctgaag 960
 accaggagga accacagca ggaacagacc tttcctggcg gaggcagcac catctacagc 1020
 atgatccaga gccagagcag cgcccctacc agccaagagc ctgcctacac cctgtacagc 1080
 ctgatccagc ccagcaggaa aagcggctcc aggaagagga accacagccc cagcttcaac 1140

agcaccatct atgaggtgat cggcaagagc cagcccaagg cccagaacct tgccaggctg 1200
 tccaggaagg agctggagaa cttcgacgtg tacagctga 1239

<210> 54

<211> 1064

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NK15_12

<400> 54

ggatccgaat tcgccccac catggctctg cccgtcacc cactgctgct gcctctggct 60
 ctgctgctgc acgccgacg accactgttc aatcaggaag tccagatccc cctgacagag 120
 tcttactgcg gccatgtcc caagaactgg atctgctaca agaacaattg ttatcagttc 180
 tttgacgaga gcaagaactg gtatgagtcc caggcctctt gcatgagcca gaatgcctct 240

ctgctgaagg tgtacagcaa ggaggaccag gatctgctga agctgggtgaa gtcctatcac 300
 tggatgggcc tggtgacat ccctacaaac ggctcttggc agtgggagga cggctccatc 360
 ctgtctccaa atctgctgac catcatcgag atgcagaagg gcgattgcgc cctgtacgcc 420
 agctcctca agggctatat cgagaactgc tccacacca atacctacat ctgtatgcag 480
 aggacctga ccacaacccc tgcaccacgc ccccctacac cagcacctac catcgcaagc 540
 cagcctctgt ccttgcggcc agaggcatgt agaccagcag caggaggagc agtgcacaca 600
 agaggcctgg acttcgctg cgatgtgagc ttttgtctgg tcatggtgct gctgttcgcc 660

gtggataccg gcctgtactt ttccgtgaag acaaatatca ggtctagcac cgcgactgg 720
 aagatcaca agttaagtg gcggaaggac cctcaggata agaagcgggg cagaaagaag 780
 ctgctgtata tcttcaagca gcccttcatg cggcccgtgc agacaacca ggaggaagac 840
 ggctgctcat gtagatttcc tgaagaagaa gaagggggct gtgaactggg cggaggaggc 900
 agcggcggcg gcggcagcgg cggcggcggc agcatgcagg atgaggacgg ctacatgacc 960
 ctgaacgtgc agagcaagaa gaggagcagc gccagacca gccagctgac cttcaaggac 1020
 tacagcgtga ccctgactg gtacaagtga gcggccgct cgac 1064

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> FLAG tag

<400> 55

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> His tag

<400> 56

His His His His His His

1 5

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Myc tag

<400> 57

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

1

5

10

<210> 58

<211> 1499

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence for Variant 13

<400> 58

```

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg      60
ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct      120
aaaaactgga tatgttacia aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg      180
tatgagagcc aggccttctg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa      240
gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt      300

ccaacaaatg gatcttggca gtgggaagat ggtccattc tctcacccaa cetaactaaca      360
ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata      420
gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaa ggactgtgac cacgacgcca      480
gcgccgcgac caccaacacc ggcgccacc atcgctgcgc agcccctgtc cctgcgccca      540
gaggcgtgcc ggcagcggc gggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgctgt      600
gatattctaca tctggcgccc cttggccggg acttgtgggg tcttctcct gtcactggtt      660
atcacccfff actgcaaacg gggcagaaaag aaactcctgt atatattcaa acaaccattt      720

atgagaccag taaaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa      780
gaagaaggag gatgtgaact gtggaggagg aaaaggaagg agaaacagag cgagacctec      840
cctaaggagt tctgacat ctacaggac gtgaaggacc tgaagaccag gaggaaccac      900
gagcaggaac agaccttcc tggcggagc agcaccatct acagcatgat ccagagccag      960
agcagcgccc ctaccagcca agagectgcc tacacctgt acagcctgat ccageccagc     1020
aggaaaagcg gctccaggaa gaggaaccac agccccagct tcaacagcac catctatgag     1080
gtgatcggca agagccagc caagcccag aacctgcca ggctgtccag gaaggagctg     1140

gagaacttcg acgtgtacag cagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac     1200
cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat     1260
gttttggaca agagacgtgg ccgggacct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac     1320
cctcaggaag gcctgtacia tgaactgcag aaagataaga tggcggagc ctacagtgag     1380

```

attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aaggggcacg atggccttta ccagggtctc 1440

agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggcctgcc ccctcgcta 1499

<210> 59

<211> 499

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence for Variant 13

<400> 59

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

100 105 110

Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp

115 120 125

Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser

130 135 140

Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro

145 150 155 160

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu

165 170 175

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 180 185 190
 Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
 195 200 205
 Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
 210 215 220
 Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
 225 230 235 240
 Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
 245 250 255
 Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Trp Arg Arg Lys Arg
 260 265 270
 Lys Glu Lys Gln Ser Glu Thr Ser Pro Lys Glu Phe Leu Thr Ile Tyr
 275 280 285
 Glu Asp Val Lys Asp Leu Lys Thr Arg Arg Asn His Glu Gln Glu Gln
 290 295 300
 Thr Phe Pro Gly Gly Gly Ser Thr Ile Tyr Ser Met Ile Gln Ser Gln
 305 310 315 320
 Ser Ser Ala Pro Thr Ser Gln Glu Pro Ala Tyr Thr Leu Tyr Ser Leu
 325 330 335
 Ile Gln Pro Ser Arg Lys Ser Gly Ser Arg Lys Arg Asn His Ser Pro
 340 345 350
 Ser Phe Asn Ser Thr Ile Tyr Glu Val Ile Gly Lys Ser Gln Pro Lys
 355 360 365
 Ala Gln Asn Pro Ala Arg Leu Ser Arg Lys Glu Leu Glu Asn Phe Asp
 370 375 380
 Val Tyr Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 385 390 395 400
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 405 410 415
 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met

420 425 430
 Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu

435 440 445
 Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

450 455 460
 Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu

465 470 475 480
 Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu

485 490 495
 Pro Pro Arg

<210> 60

<211> 870

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence Variant 14

<400> 60

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120
 aaaaactgga tatgttaca aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180
 tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240
 gaggaccagg attacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300
 ccaacaaatg gatcttggca gtgggaagat ggctccattc tctacccaa cctactaaca 360

 ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420
 gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaa ggactgtgac cagcagcca 480
 gcgccgagc caccaacacc ggcccccacc atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgcca 540
 gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt 600
 gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt 660
 atcacccttt actgcaaagc gggcagaaag aaactcctgt atatattcaa acaaccattt 720
 atgagaccag tacaacttac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 780

gaagaaggag gatgtgaact gctgtgcgca cgcccacgcc gcagccccgc ccaagatggc 840
aaagtctaca tcaacatgcc aggcaggggc 870

<210> 61
<211> 290
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> Amino Acid Sequence Variant 14
<400> 61

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45
Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln
 50 55 60
Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys
65 70 75 80
Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly
 85 90 95

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

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175
Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His

gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt 660
 atcaccttt actgcaaacg gggcagaaag aaactcctgt atatattcaa acaaccattt 720

atgagaccag taaaaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 780
 gaagaaggag gatgtgaact gctgtgcgca cgcccacgcc gcagccccgc ccaagatggc 840
 aaagtctaca tcaacatgcc aggcaggggc tggaggagga aaaggaagga gaaacagagc 900
 gagacctccc ctaaggagtt cctgaccatc tacgaggacg tgaaggacct gaagaccagg 960
 aggaaccacg agcaggaaca gacctttcct ggcggaggca gcaccatcta cagcatgatc 1020
 cagagccaga gcagcgcgcc taccagccaa gacacctgct acacctgta cagcctgatc 1080
 cagcccagca ggaaaagcgg ctccaggaag aggaaccaca gccccagctt caacagcacc 1140

atctatgagg tgatcgcaa gagccagccc aaggcccaga acctgccag gctgtccagg 1200
 aaggagctgg agaacttcca cgtgtacagc 1230

<210> 63

<211> 410

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence Variant 15

<400> 63

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45

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

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys
 65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly
 85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

Ala Tyr Thr Leu Tyr Ser Leu Ile Gln Pro Ser Arg Lys Ser Gly Ser
 355 360 365
 Arg Lys Arg Asn His Ser Pro Ser Phe Asn Ser Thr Ile Tyr Glu Val
 370 375 380
 Ile Gly Lys Ser Gln Pro Lys Ala Gln Asn Pro Ala Arg Leu Ser Arg
 385 390 395 400
 Lys Glu Leu Glu Asn Phe Asp Val Tyr Ser
 405 410

<210> 64

<211> 1232

<212>

DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence Variant 16

<400> 64

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccgttattca accaagaagt tcaaatcccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120
 aaaaactgga tatgttacaa aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180
 tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240
 gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300
 ccaacaaatg gatcttggca gtgggaagat ggctccattc tctcacccaa cctactaaca 360

 ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420
 gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaa ggactgtgac cacgacgcca 480
 gcgccgcgac caccaacacc ggcgccacc atcgcgtcgc agcccctgic cctgcgcca 540
 gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca gtgcacacga gggggctgga cticgcctgt 600
 gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt 660
 atcaccttt actgcaaagc ggcagaaaag aaactcctgt atatattcaa acaaccattt 720
 atgagaccag taaaaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 780

 gaagaaggag gatgtgaact gtggaggagg aaaaggaagg agaaacagag cgagacctcc 840
 cctaaggagt tctgaccat ctacaggagc gtgaaggacc tgaagaccag gaggaaccac 900
 gagcaggaac agacctttcc tggcggagc agcaccatct acagcatgat ccagagccag 960
 agcagcgcgc ctaccagcca agagcctgcc tacacctgt acagcctgat ccagcccagc 1020

aggaaaagcg gctccaggaa gaggaaccac agccccagct tcaacagcac catctatgag 1080
 gtgatcgga agagccagcc caaggcccag aacctgcca ggctgtccag gaaggagctg 1140
 gagaacttcg acgtgtacag cctgtgca cgccccagcc gcagccccgc ccaagatggc 1200

aaagtctaca tcaacatgcc aggcaggggc tg 1232

<210> 65

<211> 410

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence Variant 16

<400> 65

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

100 105 110

Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp

115 120 125

Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser

130 135 140

Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro

145 150 155 160

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175
 Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 180 185 190
 Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
 195 200 205
 Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
 210 215 220
 Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
 225 230 235 240
 Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
 245 250 255
 Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Trp Arg Arg Lys Arg
 260 265 270
 Lys Glu Lys Gln Ser Glu Thr Ser Pro Lys Glu Phe Leu Thr Ile Tyr
 275 280 285
 Glu Asp Val Lys Asp Leu Lys Thr Arg Arg Asn His Glu Gln Glu Gln
 290 295 300
 Thr Phe Pro Gly Gly Gly Ser Thr Ile Tyr Ser Met Ile Gln Ser Gln
 305 310 315 320
 Ser Ser Ala Pro Thr Ser Gln Glu Pro Ala Tyr Thr Leu Tyr Ser Leu
 325 330 335
 Ile Gln Pro Ser Arg Lys Ser Gly Ser Arg Lys Arg Asn His Ser Pro
 340 345 350
 Ser Phe Asn Ser Thr Ile Tyr Glu Val Ile Gly Lys Ser Gln Pro Lys
 355 360 365
 Ala Gln Asn Pro Ala Arg Leu Ser Arg Lys Glu Leu Glu Asn Phe Asp
 370 375 380
 Val Tyr Ser Leu Cys Ala Arg Pro Arg Arg Ser Pro Ala Gln Asp Gly
 385 390 395 400
 Lys Val Tyr Ile Asn Met Pro Gly Arg Gly

405

410

<210> 66

<211> 1587

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence Variant 17

<400> 66

```

atggccctgc ccgtgacagc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca tgccgctaga      60
ccctgttca accaggaggt gcagatcccc ctgaccgaaa gctactgcgg ccctgcccc      120
aagaactgga tctgttacia gaacaactgc tatcagttct tcgacgagag caagaactgg      180
tacgagagcc aggccagctg tatgagccag aacgccagcc tgctgaaagt gtatagcaag      240
gaggaccagg acctgctgaa gctggtgaag agctaccact ggatgggcct ggtgcacatc      300
cccaccaacg gaagctggca gtgggaggac ggcagcatcc tgagcccaa cctgctgacc      360
atcatcgaga tgcagaaggg cgactgcgcc ctgtatgcca gcagcttcaa gggtacatc      420

gagaactgta gcaccccaa cacctacatc tgcattgaga ggaccgtggg cggcggcggc      480
agcggcggag gcggtccggc cggcggcggc agcttattca accaagaagt tcaaattccc      540
ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct aaaaactgga tatgttacia aaataactgc      600
taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa      660
aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa gaggaccagg atttacttaa actggtgaag      720
tcatatcatt ggatgggact agtacacatt ccaacaatg gatcttgca gtgggaagat      780
ggctccattc tctacccaa cctaactaaca ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca      840

ctctatgcct cgagctttaa aggctatata gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc      900
tgcatgcaaa ggactgtgac cagcagcca gcgcccgac caccaacacc ggcgccacc      960
atcgcgtcgc agccccctgc cctgcgcca gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca      1020
gtgcacacga gggggctgga cttcgctgtg gatatttaca tctggcgcc cttggccggg      1080
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcaccttt actgcaaagc gggcagaag      1140
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag taaaaactac tcaagaggaa      1200
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag      1260

ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag      1320
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg cggggaccct      1380

```

gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1440
 aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg cgggaggggc 1500
 aaggggcacg atggccttta ccaggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1560
 cttcacatgc aggcctgcc ccctcgc 1587

<210> 67

<211> 529

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence Variant 17

<400> 67

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30
 Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45
 Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln
 50 55 60
 Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys
 65 70 75 80
 Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly
 85 90 95
 Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser
 100 105 110
 Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp
 115 120 125
 Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser
 130 135 140
 Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly Gly Gly
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Phe Asn Gln Glu

Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln

420 425 430

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu

435 440 445

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly

450 455 460

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln

465 470 475 480

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu

485 490 495

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

500 505 510

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

515 520 525

Arg

<210> 68

<211> 405

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence for alternative NKG2D codon-optimized extracellular domain

<400> 68

ctgttcaacc aggaggtgca gateccccctg accgaaagct actgcggccc ctgcccacag 60

aactggatct gttacaagaa caactgctat cagttcttcg acgagagcaa gaactggtac 120

gagagccagg ccagctgtat gagccagaac gccagcctgc tgaaagtgta tagcaaggag 180

gaccaggacc tgetgaagct ggtgaagagc taccactgga tgggectggt gcacatcccc 240

accaacggaa gctggcagtg ggaggacggc agcatcctga gcccacact gctgaccatc 300

atcgagatgc agaagggcga ctgcgcctg tatgccagca gttcaaggg ctacatcgag 360

aactgtagca cccccaacac ctacatctgc atgcagagga cctgtg 405

<210> 69

<210> 71
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE
 <223> Amino Acid Sequence Variant 18 (NK39)

<400> 71
 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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30
 Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45
 Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln
 50 55 60

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

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

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

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
 260 265 270
 Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
 275 280 285
 Cys Glu Leu
 290

<210> 72

<211> 1323

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NK39_1

<400> 72

atggccctgc ccgtgacagc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca tgccgctaga 60
 ccctgttca accaggaggt gcagatcccc ctgaccgaaa gctactgagg ccctgcccc 120

 aagaactgga tctgttaca gaacaactgc tatcagtctc tcgacgagag caagaactgg 180
 tacgagagcc aggccagctg tatgagccag aacgccagcc tgctgaaagt gtatagcaag 240
 gaggaccagg acctgctgaa gctggtgaag agctaccact ggatgggcct ggtgcacatc 300
 cccaccaacg gaagctggca gtgggaggac ggcagcatcc tgagcccaa cctgctgacc 360
 atcatcgaga tgcagaaggg cgactgcgcc ctgtatgcca gcagcttcaa gggctacatc 420
 gagaactgta gcaccccaa cacctacatc tgcattgaga ggaccgtggg cggcggcggc 480
 agcggcggag gcggtccgg cggcggcggc agcttattca accaagaagt tcaaattccc 540

 ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct aaaaactgga tatgttaca aaataactgc 600
 taccaatfff ttgatgagag taaaactgg tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa 660

aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa gaggaccagg atttacttaa actgggtgaag 720
 tcatafcatt ggatgggact agtacacatt ccaacaatg gatcttggca gtgggaagat 780
 ggctccattc tctcacccaa cctactaaca ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca 840
 ctctatgcct cgagctttaa aggctatata gaaaactgtt caactccaaa tacgtacatc 900
 tgcattgcaaa ggactgtgac caccaccct gctcccagac ccctacacc tgcccctaca 960

atgccagcc agcccctgag cctgagacct gaggcctgca gacctgctgc tggaggcgt 1020
 gtgcacacaa ggggcctcga cttgcctgc gaccccaaac tctgctacct gctggatgga 1080
 atcctcttca tctatggtgt catttctact gccttgttcc tgaagacaaa tatcaggtct 1140
 agcaccgcg actggaagga tcacaagttt aagtggcgga aggacctca ggataagaag 1200
 cggggcagaa agaagctgt gtatatcttc aagcagcct tcatgcgcc cgtgcagaca 1260
 acccaggagg aagacggctg ctcatgtaga tttcctgaag aagaagaagg gggctgtgaa 1320
 ctg 1323

<210> 73

<211> 441

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_1

<400> 73

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

Lys Leu Cys Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile
 355 360 365

Leu Thr Ala Leu Phe Leu Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp
 370 375 380

Trp Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys Lys
 385 390 395 400

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
 405 410 415

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 420 425 430

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 435 440

<210> 74

<211> 1032

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NK39_2

<400> 74

atggccctgc ccgtgacagc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca tgccgctaga 60
 cccttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120
 aaaaactgga tatgttacaa aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180
 tatgagagcc aggccttctg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240

 gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300
 ccaacaaatg gatcttggca gtggaagat ggtccattc tctcaccaa cetaactaaca 360
 ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420
 gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcattgaaa ggactgtgac caccaccct 480
 gctcccagac ccctacacc tgcccctaca atcgccagcc agcccctgag cctgagacct 540
 gaggcctgca gacctgctgc tggaggcgct gtgcacacaa ggggcctcga cttcgctgctg 600
 gaccccaaac tctgctacct gctggatgga atcctcttca tctatggtgt cattctcact 660

 gccttgttcc tgaagacaaa tatcaggtct agcaccgcg actggaagga tcacaagttt 720

aagtggcgga aggacctca ggataagaag cggggcagaa agaagctgct gtatatcttc 780
 aagcagccct tcatgcgcc cgtgcagaca acccaggagg aagacggctg ctcattgata 840
 tttcctgaag aagaagaagg gggctgtgaa ctgggcggag gaggcagcgg cggcggcggc 900
 agcggcggcg gcggcagcat gcaggatgag gacggctaca tgacctgaa cgtgcagagc 960
 aagaagagga gcagcgcca gaccagccag ctgacctca aggactacag cgtgacctg 1020
 cactgtaca ag 1032

<210> 75

<211> 344

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_2

<400> 75

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

100 105 110

Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp

115 120 125

Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser

130 135 140

Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro

145 150 155 160
 Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 180 185 190

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Pro Lys Leu Cys Tyr Leu Leu
 195 200 205

Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala Leu Phe Leu
 210 215 220

Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp Lys Asp His Lys Phe
 225 230 235 240

Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
 245 250 255

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
 260 265 270

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
 275 280 285

Cys Glu Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 290 295 300

Gly Ser Met Gln Asp Glu Asp Gly Tyr Met Thr Leu Asn Val Gln Ser
 305 310 315 320

Lys Lys Arg Ser Ser Ala Gln Thr Ser Gln Leu Thr Phe Lys Asp Tyr
 325 330 335

Ser Val Thr Leu His Trp Tyr Lys
 340

<210> 76

<211> 1416

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NK39_3

<400> 76

atggccctgc ccgtgacagc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca tgccgctaga 60

ccctgttca accaggaggt gcagatcccc ctgaccgaaa gctactgcgg ccctgcccc 120

aagaactgga tctgttaca gaacaactgc taccagtctc tcgacgagag caagaactgg 180

tacgagagcc aggccagctg tatgagccag aacccagcc tgctgaaagt gtatagcaag 240

gaggaccagg acctgctgaa gctggtgaag agctaccact ggatgggcct ggtgcacatc 300

cccaccaacg gaagctggca gtgggaggac ggcagcatcc tgagcccaaa cctgctgacc 360

atcatcgaga tgcagaaggg cgactgcgcc ctgtatgcca gcagcttcaa gggtacatc 420

gagaactgta gcaccccaaa cacctacatc tgcattgcaga ggaccgtggg cggcggcggc 480

agcggcggag gcgctccgg cggcggcggc agcttattca accaagaagt tcaaattccc 540

ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct aaaaactgga tatgttaca aaataactgc 600

taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg tatgagagcc aggtctcttg tatgtctcaa 660

aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa gaggaccagg atttacttaa actggtgaag 720

tcatatcatt ggatgggact agtacacatt ccaacaaatg gatcttgca gtgggaagat 780

ggctccatte tctacccaa cctaactaaca ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca 840

ctctatgcct cgagctttaa aggctatata gaaaactgtt caactccaaa tacgtacatc 900

tgcatgcaaa ggactgtgac caccaccct gctcccagac ccctacacc tgcccctaca 960

atgccagcc agcccctgag cctgagacct gaggcctgca gacctgctgc tggaggcgct 1020

gtgcacacaa gggcctcga cttgcctgc gaccccaac tctgctacct gctggatgga 1080

atcctcttca tctatggtgt cattctcact gccttgttcc tgctttactg caagcggggc 1140

agaaagaagc tgctgtatat cttcaagcag cccttcatgc ggcccgtgca gacaaccag 1200

gaggaagacg gctgctcatg tagatttctt gaagaagaag aagggggctg tgaactgggc 1260

ggaggaggca gcggcggcgg cggcagcggc ggcggcggca gcatgcagga tgaggacggc 1320

tacatgacc tgaacgtgca gagcaagaag aggagcagcg cccagaccag ccagctgacc 1380

ttcaaggact acagcgtgac cctgcaactgg tacaag 1416

<210> 77

<211> 472

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_3

<400> 77

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45
 Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln
 50 55 60
 Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys
 65 70 75 80
 Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly
 85 90 95

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

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

Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys
 225 230 235 240
 Ser Tyr His Trp Met Gly Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NK39_4

<400> 78

atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60
 ccactgttca atcaggaagt ccagatcccc ctgacagagt cttactgcgg cccatgtccc 120
 aagaactgga tctgctacaa gaacaattgt tatcagttct ttgacgagag caagaactgg 180
 tatgagtccc aggcctcttg catgagccag aatgcctctc tgctgaaggt gtacagcaag 240
 gaggaccagg atctgctgaa gctggtgaag tcctatcact ggatgggcct ggtgcacatc 300
 cctacaaacg gctcttgcca gtgggaggac ggctccatcc tgtctcaaaa tctgctgacc 360

atcatcgaga tgcagaaggg cgattgcgcc ctgtacgcca gctccttcaa gggctatatac 420
 gagaactgct ccacaccaa tacctacatc tgtatgcaga ggaccgtgac cacaaccctt 480
 gcaccacgcc ccctacacc agcacctacc atcgcaagcc agcctctgtc cctgcggcca 540
 gaggcatgta gaccagcagc aggaggagca gtgcacacaa gaggcctgga cttcgctctgc 600
 gatcccaaac tctgctacct gctggatgga atcctcttca tctatggtgt cattctcact 660
 gccttgttcc tgctttactg caagcggggc agaaagaagc tgctgtatat cttcaagcag 720
 cccttcatgc ggcccgtgca gacaaccacg gaggaagacg gctgctcatg tagatttctt 780

gaagaagaag aagggggctg tgaactg 807

<210> 79

<211> 269

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_4

<400> 79

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30
 Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35

40

45

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

<210> 80

<211> 1143

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NK39_5

<400> 80

atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60

ccactgttca atcaggaagt ccagatcccc ctgacagagt cttactgcgg cccatgtccc 120

aagaactgga tctgctacaa gaacaattgt taccagtctt ttgacgagag caagaactgg 180

tatgagtccc aggccctctg catgagccag aatgcctctc tgctgaaggt gtacagcaag 240

gaggaccagg atctgctgaa gctggtgaag tcctatcact ggatgggcct ggtgcacatc 300

cctacaaacg gctcttgcca gtgggaggac ggctccatcc tgtctccaaa tctgctgacc 360

atcatcgaga tgcagaaggg cgattgcgcc ctgtaccca gctccttcaa ggctatatc 420

gagaactgct ccacacccaa tacctacatc tgtatgcaga ggaccgtgac cacaaccct 480

gcaccacgcc ccctacacc agcacctacc atcgaagcc agcctctgtc cctgcggcca 540

gaggcatgta gaccagcagc aggaggagca gtgcacacaa gaggcctgga cttcgcctgc 600

gateccaaac tctgctacct gctggatgga atcctcttca tctatggtgt cattctcact 660

gccttgttcc tgctttactg caagcggggc agaaagaagc tgctgtatat cttcaagcag 720

cccttcatgc ggcccgtgca gacaaccag gaggaagacg gctgctcatg tagatttct 780

gaagaagaag aagggggctg tgaactgaga gtgaagtca gcaggagcgc agacgcccc 840

gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat aacgagctca atctaggacg aagagaggag 900

tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg 960

aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac 1020

agtgagattg ggatgaaagg cgagcggcgg aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag 1080

ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac gacgccttc acatgcaggc cetgcccct 1140

cgc 1143

<210> 81

<211> 381

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_5

<400>

81

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

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

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

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

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
 260 265 270
 Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
 275 280 285
 Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
 290 295 300
 Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 305 310 315 320

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
 325 330 335
 Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
 340 345 350
 Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
 355 360 365
 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 370 375 380

<210>

82

<211> 965

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NK39_6

<400> 82

atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60
 ccactgttca atcaggaagt ccagatcccc ctgacagagt cttactgcgg cccatgtccc 120
 aagaactgga tctgctacaa gaacaattgt tatcagttct ttgacgagag caagaactgg 180
 tatgagtccc aggcctcttg catgagccag aatgcctctc tgctgaaggt gtacagcaag 240
 gaggaccagg atctgctgaa gctggtgaag tcctatcact ggatgggcct ggtgcacatc 300
 cctacaaacg gctcttgga gtgggaggac ggctccatcc tgtctccaaa tctgctgacc 360

 atcatcgaga tgcagaaggg cgattgcgcc ctgtacgcca gtccttcaa gggctatatic 420
 gagaactgct ccacacccaa tacctacatc tgtatgcaga ggaccgtgac cacaaccctt 480
 gcaccacgcc ccctacacc agcacctacc atcgcaagcc agcctctgtc cctgcggcca 540

gaggcatgta gaccagcagc aggaggagca gtgcacacaa gaggcctgga cttcgctgc 600
 gatcccaaac tctgctacct gctggatgga atcctcttca tctatggtgt cattctcact 660
 gccttgttcc tgccttactg caagcggggc agaaagaagc tgctgtatat cttcaagcag 720
 cccttcatgc ggcccgtgca gacaaccag gaggaagacg gctgctcatg tagatttcct 780

gaagaagaag aagggggctg tgaactgggc ggaggaggca gcggcggcgg cggcagcggc 840
 ggcgcgcgca gcatgcagga tgaggacggc tacatgaccc tgaacgtgca gagcaagaag 900
 aggagcagcg cccagaccag ccagctgacc ttcaaggact acagcgtgac cctgcactgg 960
 taaa 965

<210> 83

<211> 322

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_6

<400> 83

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

100 105 110

Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp

115 120 125

Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser

<400> 84

atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60
 ccactgttca atcaggaagt ccagatcccc ctgacagagt cttactgcgg cccatgtccc 120
 aagaactgga tctgctacaa gaacaattgt tatcagttct ttgacgagag caagaactgg 180
 tatgagtccc aggcctcttg catgagccag aatgcctctc tgctgaaggt gtacagcaag 240
 gaggaccagg atctgctgaa gctggtgaag tcctatcact ggatgggcct ggtgcacatc 300
 cctacaaacg gctcttggca gtgggaggac ggctccatcc tgtctccaaa tctgctgacc 360
 atcatcgaga tgcagaaggg cgattgcgcc ctgtacgcca gctccttcaa gggctatatac 420

gagaactgct ccacacccaa tacctacatc tgtatgcaga ggaccgtgac cacaaccctt 480
 gcaccacgcc ccctacacc agcacctacc atcgaagcc agcctctgtc cctgcggcca 540
 gaggcattgta gaccagcagc aggaggagca gtgcacacaa gaggcctgga cttcgctctg 600
 gatcccaaac tctgctacct gctggatgga atcctcttca tctatggtgt cattctcact 660
 gccttgttcc tgctttactg caagcggggc agaaagaagc tgctgtatat cttcaagcag 720
 cccttcatgc ggcccgtgca gacaaccag gaggaagacg gctgctcatg tagatttctt 780
 gaagaagaag aagggggctg tgaactgggc ggaggaggca gcggcggcgg cggcagcggc 840

ggcggcggca gcaagacaaa taccaggtct agcaccgcg actggaagga tcacaagttt 900
 aagtggcggga aggaccctca ggataag 927

<210> 85

<211> 309

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_7

<400> 85

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30

 Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45
 Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln
 50 55 60

305

<210> 86

<211> 933

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NK39_8

<400> 86

atggccctgc ccgtgacagc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca tgccgctaga 60

cccttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120

aaaaactgga tatgttacaa aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180

tatgagagcc aggccttctg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240

gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300

ccaacaaatg gatcttggca gtgggaagat ggctccattc tctcaccaa cctactaaca 360

ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420

gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcatgcaaa ggactgtgac caccaccct 480

gctcccagac cccttacacc tgcccctaca atcgccagcc agcccctgag cctgagacct 540

gaggcctgca gacctgctgc tggaggcgct gtgcacacaa ggggcctcga cttcgctgc 600

gaccccaaac tctgctacct gctggatgga atcctcttca tctatggtgt cattctcact 660

gccttgttcc tgctttactg caagcggggc agaaagaagc tgctgtatat cttcaagcag 720

cccttcatgc ggcccgtgca gacaaccag gaggaagacg gctgctcatg tagatttcct 780

gaagaagaag aagggggctg tgaactgca ctgaagatcc aagtgcgaaa ggcagctata 840

accagctatg agaaatcaga tgggtgtttac acgggcctga gcaccaggaa ccaggagact 900

tacgagactc tgaagcatga gaaaccacca cag 933

<210> 87

<211> 311

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_8

<400> 87

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

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

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

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

 245 250 255

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Leu Lys
 260 265 270
 Ile Gln Val Arg Lys Ala Ala Ile Thr Ser Tyr Glu Lys Ser Asp Gly
 275 280 285
 Val Tyr Thr Gly Leu Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu Thr Leu
 290 295 300
 Lys His Glu Lys Pro Pro Gln
 305 310

<210> 88

<211> 1605

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NK39_9

<400> 88

atgagaattt cgaaccaca tttgagaagt atttccatcc agtgctactt gtgtttactt 60
 ctaaaccagtc attttctaac tgaagctggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 120
 gcagggcttc ctaaacaga agccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 180
 gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 240
 ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 300

 gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 360
 tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagtggaa 420
 gaaaaaaaaa tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 480
 acgtccggcg gaggaggcag cggcggcggc ggcagcggcg gcggcggcag cttattcaac 540
 caagaagttc aaattccctt gaccgaaagt tactgtggcc catgtcctaa aaactggata 600
 tgttacaaaa ataactgcta ccaatTTTT gatgagagta aaaactggta tgagagccag 660
 gcttcttgta tgtctcaaaa tgccagcctt ctgaaagtat acagcaaaga ggaccaggat 720

 ttacttaaac tggatgaagtc atatcattgg atgggactag tacacattcc aacaaatgga 780
 tcttggcagt ggggaagatgg ctccattctc tcaccaacc tactaacaat aattgaaatg 840
 cagaaggagg actgtgcact ctatgcctcg agctttaaag gctatataga aaactgttca 900
 actccaaata cgtacatctg catgcaaagg actgtgacca cgacgccagc gccgcgacca 960
 ccaacaccgg cgcccacat cgcgtcgcag ccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg 1020

ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg ggctggact tgcctgtga tatctacatc 1080
 tggcgcct tggccgggac ttgtgggtc cttctcctgt cactggttat caccctttac 1140

tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gagaccagta 1200
 caaactactc aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 1260
 tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag 1320
 aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt ttggacaag 1380
 agacgtggcc gggaccctga gatgggggga aagccgagaa ggaagaacc tcaggaagc 1440
 ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa 1500
 ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat gcctttacc aggttctcag tacagccacc 1560

aaggacacct acgacgcct tcacatgcag gcctgcccc ctcgc 1605

<210> 89

<211> 535

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NK39_9

<400> 89

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

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 115 120 125
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 130 135 140
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 145 150 155 160
 Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 165 170 175
 Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Cys
 180 185 190
 Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn Cys Tyr Gln
 195 200 205
 Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala Ser Cys Met
 210 215 220
 Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu Asp Gln Asp
 225 230 235 240
 Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu Val His Ile
 245 250 255
 Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile Leu Ser Pro
 260 265 270
 Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys Ala Leu Tyr
 275 280 285
 Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr Pro Asn Thr
 290 295 300
 Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
 305 310 315 320
 Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
 325 330 335
 Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
 340 345 350
 Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys

355 360 365
 Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
 370 375 380
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 385 390 395 400
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 405 410 415
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp

420 425 430
 Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 435 440 445
 Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 450 455 460
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 465 470 475 480
 Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu

485 490 495
 Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 500 505 510
 Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 515 520 525
 Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 530 535

<210> 90

<211> 1122

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NKG2D-Ox40-CD3z

<400> 90

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120

aaaaactgga tatgttacia aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180
 tatgagagcc aggcftcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240
 gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatafcatt ggatgggact agtacacatt 300
 ccaacaaatg gatcttggca gtgggaagat ggtccattc tctcacccaa cctactaaca 360
 ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctftaa aggctatata 420

gaaaactgft caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaaa ggactgtgac cacgacgcca 480
 gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca 540
 gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca gtgcacacga gggggctgga ctctgcctgt 600
 gatattaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tcttctctct gtcactggtt 660
 atcacctftt actgccggag ggaccagagg ctgcccccg atgccacaa gcccctggg 720
 ggaggcagtt tccggacccc catccaagag gagcaggccg acgcccactc cacctggcc 780
 aagatcagag tgaagttcag caggagcgcga gacgccccg cgtaccagca ggcccagaac 840

cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtftt ggacaagaga 900
 cgtggccggg acctgagat ggggggaaaag ccgagaagga agaacctca ggaaggcctg 960
 tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1020
 gagcgcggga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1080
 gacacctag acgcccftca catgcaggcc ctgcccctc gc 1122

<210> 91

<211> 341

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NKG2D-OX40-CD3z

<400> 91

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
 305 310 315 320

Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
 325 330 335

Ala Leu Pro Pro Arg
 340

<210> 92

<211> 1143

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NKG2D-CD28 - CD3z

<400> 92

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccgttattca accaagaagt tcaaatccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120
 aaaaactgga tatgttacaa aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180

tatgagagcc aggettcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240
 gaggaccagg attacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300
 ccaacaaatg gatcttgga gtgggaagat ggctccattc tctcaccaa cctactaaca 360
 ataattgaaa tgcagaagg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420
 gaaaactgtt caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaa ggactgtgac cagcagcca 480
 gcgccgcgac caccaacacc ggcccccacc atcgctcgc agcccctgtc cctgcgcca 540
 gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgctgt 600

gatttttggg tgctggtggt ggttgggga gtcttgctt gctatagctt gctagtaaca 660
 gtggccttta ttatctctg ggtgaggagt aagaggagca ggctcctgca cagtgactac 720
 atgaacatga ctccccgcg ccccgggccc acccgcaagc attaccagcc ctatgcccc 780
 ccacgcgact tgcagccta tgcctccaga gtgaagtca gcaggagcgc agacgcccc 840
 gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat aacgagctca atctaggagc aagagaggag 900
 tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg gaccctgaga tgggggaaa gccgagaagg 960
 aagaacctc aggaaggcct gtacaatgaa ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac 1020

agtgagattg ggatgaaagg cgagcggcgg aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag 1080

ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac gacgcccttc acatgcaggc cctgccccct 1140
 cgc 1143
 <210> 93
 <211> 381
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE
 <223> Amino Acid Sequence NKG2D-CD28 - CD3z
 <400> 93
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30
 Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45
 Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln
 50 55 60
 Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys
 65 70 75 80
 Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly
 85 90 95
 Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser
 100 105 110
 Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp
 115 120 125
 Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser
 130 135 140
 Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro
 145 150 155 160
 Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175
 Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His

180 185 190
 Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val

195 200 205
 Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile

210 215 220
 Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr

225 230 235 240
 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln

245 250 255
 Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys

260 265 270
 Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln

275 280 285
 Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

290 295 300
 Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

305 310 315 320
 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

325 330 335
 Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly

340 345 350
 Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

355 360 365
 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

370 375 380

<210> 94

<211> 1269

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NKG2D - CD28 - 41BB - CD3z

<400> 94

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120

aaaaactgga tatgttaca aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180

tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa aatgccagcc tctgaaagt atacagcaaa 240

gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatafcatt ggatgggact agtacacatt 300

ccaacaaatg gatcttgga gtgggaagat ggctccattc tctcacccaa cctactaaca 360

ataattgaaa tgcagaagg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420

gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcattgaaa ggactgtgac cagcagcca 480

gcgcccgac caccaacacc ggcccccacc atcgctcgc agcccctgtc cctgcgcca 540

gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgctgt 600

gatttttggg tgctgggtgt ggttgggtga gtctggctt gctatagctt gctagtaaca 660

gtggccttta ttatttctg ggtgaggagt aagaggagca ggctcctgca cagtgactac 720

atgaacatga ctccccgcg ccccgggccc acccgcaagc attaccagcc ctatgcccc 780

ccacgcgact tgcagccta tcgctccaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 840

aaacaacat ttatgagacc agtacaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 900

tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 960

gccccgcgt accagcagg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1020

gaggagtacg atgttttga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1080

agaaggaaga accctcagga aggctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1140

gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggagg gcaaggggca cgatggcctt 1200

taccagggtc tcagtacag caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1260

ccccctgc 1269

<210> 95

<211> 423

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NKG2D - CD28 - 41BB - CD3z

<400> 95

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30
 Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45

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

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

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

 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln
 245 250 255
 Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly

260 265 270
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val

275 280 285
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 290 295 300

Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 305 310 315 320

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 325 330 335

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 340 345 350

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 355 360 365

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 370 375 380

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 385 390 395 400

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 405 410 415

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 420

<210> 96

<211> 1038

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NKG2D(short hinge) - 41BB - CD3z

<400> 96

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccgttattca accaagaagt tcaaatccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120
 aaaaactgga tatgttaca aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180
 tatgagagcc aggccttctg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240

gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300
 ccaacaaatg gatcttggca gtgggaagat ggctccattc tctcaccaa cctactaaca 360

ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420
 gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaaa ggactgtgga gtccaaatat 480
 ggtcccccat gcccatcatg cccaatctac atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg 540
 gtctttctcc tgcactggt tateccctt tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcctg 600
 tataatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 660
 agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagttaa gttcagcagg 720
 agcgcagacg cccccgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 780

ggacgaagag aggagtacga tgttttgac aagagacgtg gccgggacc tgagatgggg 840
 ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaactgca gaaagataag 900
 atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caagggcac 960
 gatggccttt accaggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1020
 caggccctgc ccctcgc 1038

<210> 97
 <211> 346
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MISC_FEATURE
 <223> Amino Acid Sequence NKG2D(short hinge) - 41BB - CD3z

<400> 97

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

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys
 65 70 75 80

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NKG2D (SH)-CD28 - CD3z

<400> 99

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr

 20 25 30

Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

 35 40 45

Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln

 50 55 60

Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys

65 70 75 80

Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly

 85 90 95

Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser

 100 105 110

Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp

 115 120 125

Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser

 130 135 140

Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Glu Ser Lys Tyr

145 150 155 160

Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly

 165 170 175

Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile

 180 185 190

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met

 195 200 205

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro

 210 215 220

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe
 225 230 235 240
 Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 245 250 255
 Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 260 265 270
 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 275 280 285

Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 290 295 300
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 305 310 315 320
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 325 330 335
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 340 345

<210> 100

<

211> 1023

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NKG2D (SH) - OX40 - CD3z

<400> 100

atggccttac cagtgaccgc cttgtcctcg ccgctggcct tgctgctcca cggccagg 60
 ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120
 aaaaactgga tatgttaca aaataactgc taccaatttt ttgatgagag taaaaactgg 180
 tatgagagcc agccttcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240
 gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300

 ccaacaaatg gatcttgcca gtggaagat ggctccattc tctcaccaa cctactaaca 360
 ataattgaaa tgcagaagg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420
 gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaa ggactgtgga gtccaaatat 480
 ggtccccc atgccatcatg cccaatctac atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg 540

gtccttctcc tgcactggt taccacctt tactgccgga gggaccagag gctgcccc 600
gatgcccaca agccccctgg gggaggcagt ttccggacct ccatccaaga ggagcaggcc 660
gacgcccact ccacctggc caagatcaga gtgaagtca gcaggagcgc agacgcccc 720

gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat aacgagctca atctaggacg aagagaggag 780
tagcatgttt tggacaagag acgtggccgg gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg 840
aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac 900
agtgagattg ggatgaaagg cgagcggccg aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag 960
ggtctcagta cagccacca gacacacctac gacgccttc acatgcaggc cctgccccct 1020
cgc 1023

<210> 101
<211> 346
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NKG2D (SH) - OX40 - CD3z

<400> 101

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

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

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

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

305 310 315 320
 Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 325 330 335
 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 340 345

<210> 102
 <211> 1125
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence NKG2D-CD3TM -CD28 - CD3z

<400> 102

```

atggccttac cagtgaccgc cttgtcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg      60
ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct      120

aaaaactgga tatgttaca aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg      180
tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa      240
gaggaccagg attacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt      300
ccaacaaatg gatcttgga gtgggaagat ggctccattc tctcaccaa cctactaaca      360
ataattgaaa tgcagaagg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata      420
gaaaactgtt caactccaaa tacgtacatc tgcattgaaa ggactgtgac cacgacgcca      480
gcgccgcgac caccaacacc ggcgccacc atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgcca      540

gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgctgt      600
gatcccaaac tctgctacct gctggatgga atcctcttca tctatggtgt catttctact      660
gccttgttcc tgaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc      720
cgccccgggc ccaccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgca cttcgcagcc      780
tatcgctcca gattgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgctacca gcagggccag      840
aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt ttggacaag      900
agacgtggcc gggaccctga gatgggggga aagccgagaa ggaagaacct tcaggaaggc      960

ctgtacaatg aactgcagaa agataaatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa      1020
ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat ggcctttacc aggttctcag tacagccacc      1080
aaggacacct acgacgcct tcacatgcag gcctgcccc ctcgc      1125

```

<210> 103

<211> 375

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence NKG2D-CD3TM -CD28 - CD3z

<400> 103

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

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

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

 Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala Leu Phe Leu
 210 215 220
 Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 225 230 235 240
 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 245 250 255

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 260 265 270

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 275 280 285

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 290 295 300

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 305 310 315 320

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 325 330 335

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 340 345 350

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 355 360 365

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 370 375

<210> 104

<211> 36

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> DNA Sequence IgG 4 hinge

<400> 104

gagtccaaat atggtccccc atgcccata tgccca

36

<210> 105

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence CD28 Transmembrane domain

<400> 105

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

1 5 10 15
 Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

20 25

<210> 106

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence CD28 IC domain

<400> 106

Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

1 5 10 15

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

20 25 30

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35

<210> 107

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Amino Acid Sequence OX40 IC Domain

<400> 107

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly

1 5 10 15

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser

20 25 30

Thr Leu Ala Lys Ile

35

<210> 108

<211> 1140

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<223> NKG2D-P-frag/CD8a/4-1BB/CD3z

<400> 108

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120

aaaaactgga tatgttacia aaataactgc taccaatfff ttgatgagag taaaaactgg 180

tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240

gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300

ccaacaaatg gatcttgca gtgggaagat ggctccattc tctcacccaa cctactaaca 360

ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420

gaaaactggt caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaa ggactgtgac cagcagcca 480

gcgccgcgac caccaacacc ggcgccacc atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgcca 540

gaggcgtgcc ggcagcggc ggggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt 600

gatatttaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tctttctcct gtcactggtt 660

atcaccttt actgcaaacg ggcagaaaag aaactcctgt atatattcaa acaaccattt 720

atgagaccag taaaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 780

gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac 840

cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 900

gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 960

cctcaggaag gcctgtacia tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag 1020

attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aaggggcagc atggccttta ccagggtctc 1080

agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggcctgcc cctcgcctaa 1140

<210> 109

<211> 374

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> NKG2D-V2-OX40-CD3z

<400> 109

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 Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
 20 25 30
 Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn
 35 40 45
 Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln
 50 55 60
 Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys
 65 70 75 80
 Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly
 85 90 95
 Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser
 100 105 110
 Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp
 115 120 125
 Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser
 130 135 140
 Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Thr Thr Thr Pro
 145 150 155 160
 Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175
 Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 180 185 190
 Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
 195 200 205
 Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
 210 215 220
 Cys Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly
 225 230 235 240
 Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His
 245 250 255
 Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

260 265 270
 Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

275 280 285
 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

290 295 300
 Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
 305 310 315 320

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
 325 330 335
 Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr

340 345 350
 Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met

355 360 365
 Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 370