



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0053587
(43) 공개일자 2022년04월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 C12N 5/0783 (2010.01) C07K 14/705 (2006.01)
 C07K 14/725 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
 C07K 16/30 (2006.01) C07K 16/40 (2006.01)
 C12N 15/62 (2006.01) C12N 15/85 (2006.01)
 C12N 5/0781 (2010.01)
- (52) CPC특허분류
 C12N 5/0636 (2013.01)
 C07K 14/70503 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7007569
- (22) 출원일자(국제) 2022년08월06일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년03월07일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/045228
- (87) 국제공개번호 WO 2021/030149
 국제공개일자 2021년02월18일
- (30) 우선권주장
 62/885,093 2019년08월09일 미국(US)
 63/005,670 2020년04월06일 미국(US)
- (71) 출원인
 에이투 바이오제라퓨틱스, 인크.
 미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로
 드 30301 스위트 210
- (72) 발명자
 캄, 칼 알렉산더
 미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로
 드 30301 스위트 210 에이투 바이오제라퓨틱스,
 인크. 내
 햄버거, 아그네스
 미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로
 드 30301 스위트 210 에이투 바이오제라퓨틱스,
 인크. 내
 슈, 한
 미국 91301 캘리포니아주 아고라 힐즈 아고라 로
 드 30301 스위트 210 에이투 바이오제라퓨틱스,
 인크. 내
- (74) 대리인
 양영준, 이상남

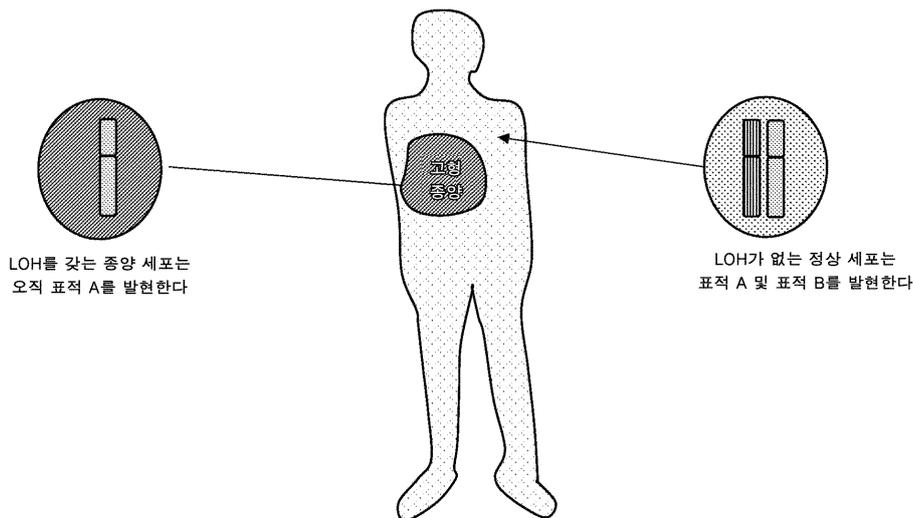
전체 청구항 수 : 총 102 항

(54) 발명의 명칭 이형접합성 소실에 반응성인 세포 표면 수용체

(57) 요약

본 개시내용은 이형접합성 소실에 의해 확인된 표적 세포에 전체적으로 설계되고 질환 또는 장애, 예를 들어 암을 치료하기 위해 사용되는 리간드 결합 도메인을 각각 갖는 2개의 조작된 수용체의 시스템에 관한 것이다. 본 개시내용은 2개의 조작된 수용체를 발현하는 면역 세포, 이를 제조하는 방법, 및 이를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 및 벡터를 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 14/7051 (2013.01)

C07K 16/2809 (2013.01)

C07K 16/2833 (2013.01)

C07K 16/2863 (2013.01)

C07K 16/30 (2013.01)

C12N 15/625 (2013.01)

C12N 15/85 (2013.01)

C12N 5/0635 (2013.01)

C12N 5/0646 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

면역 세포로서,

a. 제1 조작된 수용체이되, 제1 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 상기 세포외 영역은 제1 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 조작된 수용체; 및

b. 제2 조작된 수용체이되, 제2 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 제2 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 조작된 수용체를 포함하고,

상기 제1 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의해 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고,

상기 제2 리간드에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제하는, 면역 세포.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제2 리간드는 제2 리간드를 암호화하는 유전자의 이형접합성 소실로 인해 표적 세포에서 발현되지 않는, 면역 세포.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제2 리간드는 HLA 클래스 I 대립유전자 또는 부 조직접합 항원(MiHA: minor histocompatibility antigen)인, 면역 세포.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 제2 리간드는 Y 염색체 소실로 인해 표적 세포에서 발현되지 않는, 면역 세포.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 MiHA는 표 8 및 표 9에서의 MiHA의 군으로부터 선택되는, 면역 세포.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 MiHA는 HA-1인, 면역 세포.

청구항 7

제3항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 대립유전자는 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C를 포함하는, 면역 세포.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 대립유전자는 HLA-A*02 대립유전자인, 면역 세포.

청구항 9

제4항에 있어서, 상기 제2 리간드는 Y 염색체 유전자에 의해 암호화되는, 면역 세포.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드 및 제2 리간드는 동일하지 않는, 면역 세포.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 표적 세포에 의해 발현되는, 면역 세포.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 표적 세포 및 복수의 비표적 세포에 의해 발현되는, 면역 세포.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 복수의 비표적 세포는 제1 리간드 및 제2 리간드 둘 다를 발현하는, 면역 세포.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 리간드는 표적 세포에 의해 발현되지 않고, 복수의 비표적 세포에 의해 발현되는, 면역 세포.

청구항 15

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적 세포는 암 세포이고, 상기 비표적 세포는 비암성 세포인, 면역 세포.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 세포 부착 분자, 세포-세포 신호전달 분자, 세포의 도메인, 화학주성에 관여된 분자, 당단백질, G 단백질 커플링된 수용체, 막관통 단백질, 신경전달인자를 위한 수용체 및 전압 게이팅된 이온 채널, 또는 이의 펩타이드 항원으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 세포.

청구항 17

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 암 항원인, 면역 세포.

청구항 18

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 표 5에서의 항원의 군으로부터 선택되는, 면역 세포.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 표 5에서의 항체의 항원 결합 도메인으로부터 단리되거나 유래되는, 면역 세포.

청구항 20

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 트랜스페린 수용체(TFRC: transferrin receptor), 표피 성장 인자 수용체(EGFR: epidermal growth factor receptor), CEA 세포 부착 분자 5(CEA), CD19 분자(CD19: CD19 molecule), erb-b2 수용체 티로신 키나제 2(HER2) 및 메소텔린(MSLN), 또는 이의 펩타이드 항원으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 세포.

청구항 21

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 pan-HLA 리간드인, 면역 세포.

청구항 22

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 HLA-G의 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F를 포함하는, 면역 세포.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 조작된 수용체는 T 세포 수용체(TCR: T cell receptor) 또는 키메라 항원 수용체(CAR: chimeric antigen receptor)인, 면역 세포.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조각된 수용체는 T 세포 수용체(TCR) 또는 키메라 항원 수용체(CAR)인, 면역 세포.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 단일 사슬 Fv 항체 단편(ScFv: single chain Fv antibody fragment) 또는 β 사슬 가변 도메인(V β : β chain variable domain)을 포함하는, 면역 세포.

청구항 26

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 TCR α 사슬 가변 도메인 및 TCR β 사슬 가변 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 27

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 가변 중쇄(VH: variable heavy chain) 도메인 및 가변 경쇄(VL: variable light chain) 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 28

제25항에 있어서, 상기 제1 리간드는 EGFR 또는 이의 펩타이드 항원이고, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 102, 서열 번호 104, 서열 번호 106, 서열 번호 108, 서열 번호 110, 서열 번호 112, 서열 번호 114, 서열 번호 116, 서열 번호 118 또는 서열 번호 391의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 29

제25항에 있어서, 상기 제1 리간드는 MSLN 또는 이의 펩타이드 항원이고, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 86, 서열 번호 88, 서열 번호 90 또는 서열 번호 92의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 30

제25항에 있어서, 상기 제1 리간드는 CEA 또는 이의 펩타이드 항원이고, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 94, 서열 번호 96, 서열 번호 98, 서열 번호 100, 서열 번호 282, 서열 번호 284 또는 서열 번호 286, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 31

제25항에 있어서, 상기 제1 리간드는 CD19 또는 이의 펩타이드 항원이고, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 275 또는 서열 번호 277, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 32

제25항에 있어서, 상기 제1 리간드는 pan-HLA 리간드를 포함하고, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 167, 서열 번호 169, 서열 번호 171, 서열 번호 173, 서열 번호 175 또는 서열 번호 177의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 33

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 EGFR 또는 이의 펩타이드 항원을 포함하고, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 131 내지 서열 번호 166으로부터 선택된 CDR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 34

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드는 CEA 리간드 또는 이의 펩타이드 항원을 포함하

고, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 294 내지 서열 번호 302로부터 선택된 CDR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 리간드 결합 도메인은 ScFv 또는 V β 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 36

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 리간드 결합 도메인은 TCR α 사슬 가변 도메인 및 TCR β 사슬 가변 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 37

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 가변 중쇄(VH) 도메인 및 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 38

제36항에 있어서, 상기 제2 리간드는 HA-1을 포함하고, 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 199를 포함하는 TCR 알파 가변 도메인, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열, 및 서열 번호 200을 포함하는 TCR 베타 가변 도메인, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 39

제35항에 있어서, 상기 제2 리간드는 HLA-A*02 대립유전자를 포함하고, 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 53 내지 64 중 어느 하나, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 40

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 리간드는 HLA-A*02 대립유전자를 포함하고, 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 41 내지 서열 번호 52로부터 선택된 CDR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조작된 수용체는 적어도 하나의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM: immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif)를 포함하는, 면역 세포.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조작된 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 LILRB1 세포내 도메인은 서열 번호 76과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조작된 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열 번호 85와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조작된 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함하는, 면역 세포.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 LILRB1 힌지 도메인은 서열 번호 84, 서열 번호 77 또는 서열 번호 78과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 48

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조작된 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인, 또는 이들의 기능적 변이체를 포함하는, 면역 세포.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인은 서열 번호 80 또는 서열 번호 80과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 50

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조작된 수용체는 서열 번호 80을 포함하는 제1 폴리펩타이드 또는 TCR 알파 가변 도메인에 융합된 이것과 적어도 95%의 동일성을 갖는 서열, 및 서열 번호 80을 포함하는 제2 폴리펩타이드 또는 TCR 베타 가변 도메인에 융합된 이것과 적어도 95%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 수용체 및 제2 수용체는 약 1:10 내지 10:1의 제1 수용체 대 제2 수용체의 비로 면역 세포의 표면에서 발현되는, 면역 세포.

청구항 52

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 수용체 및 제2 수용체는 약 1:3 내지 3:1의 제1 수용체 대 제2 수용체의 비로 면역 세포의 표면에서 발현되는, 면역 세포.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 세포는 T 세포, B 세포 및 자연 살해(NK) 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 세포.

청구항 54

제1항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 세포는 비자연인, 면역 세포.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 세포는 단리된, 면역 세포.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 약제로서 사용하기 위한, 면역 세포.

청구항 57

제56항에 있어서, 상기 약제는 대상체에서의 암의 치료를 위한 것인, 면역 세포.

청구항 58

약제학적 조성물로서,

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항의 복수의 면역 세포를 포함하는 억제학적 조성물.

청구항 59

제58항에 있어서, 억제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 억제학적 조성물.

청구항 60

제58항 또는 제59항에 있어서, 치료학적 유효량의 면역 세포를 포함하는, 억제학적 조성물.

청구항 61

대상체에서 입양 세포 치료의 특이성을 증가시키는 방법으로서,

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항의 복수의 면역 세포 또는 제58항 내지 제60항 중 어느 한 항의 억제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 62

입양 세포 치료에 의해 암을 치료하는 방법으로서,

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항의 복수의 면역 세포 또는 제58항 내지 제60항 중 어느 한 항의 억제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 암의 세포는 제1 리간드를 발현하는, 방법.

청구항 64

제62항 또는 제63항에 있어서, 상기 암의 세포는 이형접합성 소실 또는 Y 염색체 소실로 인해 제2 리간드를 발현하지 않는, 방법.

청구항 65

제62항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 비표적 세포는 제1 리간드 및 제2 리간드 둘 다를 발현하는, 방법.

청구항 66

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항의 면역 세포를 제조하는 방법으로서,

a. 복수의 면역 세포를 제공하는 단계; 및

b. 상기 면역 세포를 막관통 영역 및 세포의 영역을 포함하는 제1 조작된 수용체를 암호화하는 벡터이되, 세포 외 영역은 제1 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는 벡터 및 막관통 영역 및 세포의 영역을 포함하는 제2 조작된 수용체를 암호화하는 벡터이되, 세포의 영역은 제2 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는 벡터에 의해 형질전환하는 단계를 포함하고;

상기 제1 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고,

상기 제2 리간드에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 리간드에 의한 면역 세포의 활성화를 억제하는, 방법.

청구항 67

키트로서,

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항의 면역 세포 또는 제58항 내지 제60항 중 어느 한 항의 억제학적 조성물을 포함하는 키트.

청구항 68

제67항에 있어서, 사용 설명서를 추가로 포함하는, 키트.

청구항 69

억제 수용체로서,

HA-1 부 조직접합 항원(MiHA)에 특이적으로 결합을 할 수 있는 세포의 리간드 결합 도메인 및 적어도 하나의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인을 포함하는 억제 수용체.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 세포의 리간드 결합 도메인은 VLRDDLLEA(서열 번호 266)의 HA-1(R) 펩타이드에 대한 것보다 VLHDDLLEA(서열 번호 191)의 HA-1(H) 펩타이드에 대한 더 높은 친화성을 갖는, 억제 수용체.

청구항 71

제69항에 있어서, 상기 억제 수용체는 VLHDDLLEA(서열 번호 191)의 HA-1(H) 펩타이드에 의해 활성화되고, VLRDDLLEA(서열 번호 266)의 HA-1(R) 펩타이드에 의해 활성화되지 않거나 더 적은 정도로 활성화되는, 억제 수용체.

청구항 72

제69항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 리간드 결합 도메인은 서열 번호 199를 포함하는 TCR 알파 가변 도메인, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열, 및 서열 번호 200을 포함하는 TCR 베타 가변 도메인, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 억제 수용체.

청구항 73

제69항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 리간드 결합 도메인은 서열 번호 199를 포함하는 TCR 알파 가변 도메인 및 서열 번호 200을 포함하는 TCR 베타 가변 도메인을 포함하는, 억제 수용체.

청구항 74

제69항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포내 도메인은 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 억제 수용체.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열 번호 76과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 억제 수용체.

청구항 76

제69항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는, 억제 수용체.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열 번호 85와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 억제 수용체.

청구항 78

제69항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 억제 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인, 또는 이들의 기능적 변이체를 포함하는, 억제 수용체.

청구항 79

제78항에 있어서, 상기 LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인은 서열 번호 80 또는 서열 번호 80과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 억제 수용체.

청구항 80

제79항에 있어서, 상기 억제 수용체는 서열 번호 80을 포함하는 제1 폴리펩타이드 또는 TCR 알파 가변 도메인에 융합된 이것과 적어도 95% 동일한 서열, 및 서열 번호 80을 포함하는 제2 폴리펩타이드 또는 TCR 베타 가변 도메인에 융합된 이것과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 억제 수용체.

청구항 81

제69항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 서열 번호 195 또는 이것과 적어도 95%의 동일성의 폴리펩타이드 및 서열 번호 197 또는 이것과 적어도 95%의 동일성의 폴리펩타이드를 포함하는, 억제 수용체.

청구항 82

면역 세포로서,

a. 제1 조작된 수용체이되, 제1 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 CD19 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 조작된 수용체; 및

b. 제2 조작된 수용체이되, 제2 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 HLA-A*02 대립유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 조작된 수용체를 포함하고,

상기 CD19 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의해 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고,

상기 HLA-A*02 대립유전자에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제하는, 면역 세포.

청구항 83

제82항에 있어서, 상기 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 53 내지 64 중 어느 하나, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 84

제82항에 있어서, 상기 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 41 내지 서열 번호 52로부터 선택된 CDR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 85

제82항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 275 또는 서열 번호 277, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 86

제82항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조작된 수용체는 LILRB1로부터 단리되거나 유래된 세포 내 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 87

면역 세포로서,

a. 제1 조작된 수용체이되, 제1 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 EGFR 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 조작된 수용체; 및

b. 제2 조작된 수용체이되, 제2 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 HLA-A*02 대립유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 조작된 수용체를 포함하고,

상기 EGFR 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의해 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고,

상기 HLA-A*02 대립유전자에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제하는, 면역 세포.

청구항 88

제87항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 102, 서열 번호 104, 서열 번호 106, 서열 번호 108, 서열 번호 110, 서열 번호 112, 서열 번호 114, 서열 번호 116, 서열 번호 118 또는 서열 번호 391의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 89

제87항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 131 내지 서열 번호 166으로부터 선택된 CDR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 90

제87항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 53 내지 64 중 어느 하나, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 91

제87항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 41 내지 서열 번호 52로부터 선택된 CDR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 92

제87항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조작된 수용체는 LILRB1로부터 단리되거나 유래된 세포 내 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 93

면역 세포로서,

- a. 제1 조작된 수용체이되, 제1 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 메소텔린(MSLN) 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 조작된 수용체; 및
- b. 제2 조작된 수용체이되, 제2 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 HLA-A*02 대립유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 조작된 수용체를 포함하고,

상기 MSLN 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의해 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고,

상기 HLA-A*02 대립유전자에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제하는, 면역 세포.

청구항 94

제93항에 있어서, 상기 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 86, 서열 번호 88, 서열 번호 90 또는 서열 번호 92의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 95

제93항 또는 제94항에 있어서, 상기 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 53 내지 64 중 어느 하나, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포.

청구항 96

제93항 또는 제94항에 있어서, 상기 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 41 내지 서열 번호 52로부터 선택된 CDR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 97

제93항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 조각된 수용체는 LILRB1로부터 단리되거나 유래된 세포 내 도메인을 포함하는, 면역 세포.

청구항 98

약제학적 조성물로서,

제82항 내지 제97항 중 어느 한 항의 복수의 면역 세포를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 99

입양 세포 치료에 의해 암을 치료하는 방법으로서,

제82항 내지 제97항 중 어느 한 항의 복수의 면역 세포 또는 제98항의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 100

제99항에 있어서, 상기 암의 세포는 제1 리간드를 발현하는, 방법.

청구항 101

제99항 또는 제100항에 있어서, 상기 암의 세포는 이형접합성 소실 또는 Y 염색체 소실로 인해 제2 리간드를 발현하지 않는, 방법.

청구항 102

제99항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 비표적 세포는 제1 리간드 및 제2 리간드 둘 다를 발현하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2019년 8월 9일에 출원된 미국 가출원 제62/885,093호 및 2020년 4월 6일에 출원된 미국 가출원 제 63/005,670호의 우선권의 이익을 주장하고, 이들의 각각의 내용은 본원에 그 전체가 참고로 포함된다.

[0003] 서열 목록의 참고에 의한 포함

[0004] 본 출원은 전자 형식으로 서열 목록과 함께 제출된다. 서열 목록은 크기가 404 킬로바이트이고 2020년 8월 5일에 생성된 명칭이 A2BI-00903WO_SeqList.txt인 파일로서 제공된다. 서열 목록의 전자 형식의 정보는 그 전체가 참고로 포함된다.

배경 기술

[0005] 세포 치료는 다양한 질환, 특히 암의 치료에 강력한 도구이다. 종래의 입양 세포 치료에서, 면역 세포는 수용체와 표적 세포에 의해 발현된 리간드의 상호작용을 통해 세포 표적에 면역 세포의 활성을 지시하는 특이적 수용체, 예를 들어 키메라 항원 수용체(CAR: chimeric antigen receptor) 또는 T 세포 수용체(TCR: T Cell Receptor)를 발현하도록 조각된다. 적합한 표적 분자의 확인은 도전으로 남아 있다. 세포 치료에 의해 질환, 특히 암의 치료에서 유용한 조성물 및 방법에 대한 수요가 당해 분야에 있다.

발명의 내용

[0006] 본 개시내용은 일반적으로 이형접합성 소실을 나타내는 종양 세포에 조각된 면역 세포, 예를 들어 입양 세포 치료에 사용된 면역 세포를 표적화하도록 사용될 수 있는 이들 면역 세포에서 발현된 2개-수용체 시스템에 관한 것이다. 이 2개 수용체 시스템에서, 제1 수용체는 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하도록 작용하지만, 제2 수용체는 제1 수용체에 의한 활성화를 억제하도록 작용한다. 예를 들어, 억제 리간드를 암호화하는

유전자좌의 이형접합성 소실을 통한 제1 수용체 및 제2 수용체에 대한 리간드의 차등 발현은 제2 억제 리간드가 아니라 제1 활성화인자 리간드를 발현하는 표적 세포에 의한 면역 세포의 활성화를 매개한다.

- [0007] 본 개시내용은 (a) 제1 조작된 수용체이되, 제1 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포의 영역을 포함하고, 세포의 영역은 제1 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 조작된 수용체; 및 (b) 제2 조작된 수용체이되, 제2 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포의 영역을 포함하고, 세포의 영역은 제2 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포를 제공하고, 제1 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 수용체에 의해 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고, 제2 리간드에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제한다.
- [0008] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 제2 리간드를 암호화하는 유전자의 이형접합성 소실로 인해 표적 세포에서 발현되지 않는다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 HLA 클래스 I 대립유전자 또는 부조직접합 항원(MiHA: minor histocompatibility antigen)이다.
- [0009] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 MiHA이다. 일부 실시형태에서, MiHA는 표 8 및 표 9에서의 MiHA의 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, MiHA는 HA-1이다.
- [0010] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 HLA 클래스 I 대립유전자이다. 일부 실시형태에서, HLA 클래스 I 대립유전자는 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C를 포함한다. 일부 실시형태에서, HLA 클래스 I 대립유전자는 HLA-A*02 대립유전자이다.
- [0011] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 Y 염색체 소실로 인해 표적 세포에서 발현되지 않는다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 Y 염색체 유전자에 의해 암호화된다.
- [0012] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 리간드 및 제2 리간드는 동일하지 않다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 표적 세포에 의해 발현된다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 표적 세포 및 비표적 세포에 의해 발현된다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 표적 세포에 의해 발현되지 않고, 복수의 비표적 세포에 의해 발현된다. 일부 실시형태에서, 복수의 비표적 세포는 제1 리간드 및 제2 리간드 둘 다를 발현한다.
- [0013] 일부 실시형태에서, 표적 세포는 암 세포이고, 비표적 세포는 비암성 세포이다.
- [0014] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 세포 부착 분자, 세포-세포 신호전달 분자, 세포 외 도메인, 화학주성에 관여된 분자, 당단백질, G 단백질 커플링된 수용체, 막관통 단백질, 신경전달인자를 위한 수용체 및 전압 게이팅된 이온 채널로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 표 5에서의 항원의 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 트랜스페린 수용체(TFRC: transferrin receptor), 표피 성장 인자 수용체(EGFR: epidermal growth factor receptor), CEA 세포 부착 분자 5(CEA: CEA cell adhesion molecule 5), CD19 분자(CD19: CD19 molecule), erb-b2 수용체 티로신 키나제 2(HER2: erb-b2 receptor tyrosine kinase 2) 및 메소텔린(MSLN: mesothelin), 또는 이의 펩타이드 항원으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F 또는 HLA-G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 pan-HLA 리간드이다.
- [0015] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 HLA 클래스 I 대립유전자, 부 조직접합 항원(MiHA) 및 Y 염색체 유전자로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드의 발현은 이형접합성 소실로부터 표적 세포에서 소실된다. 일부 실시형태에서, MiHA는 HA-1이다. 일부 실시형태에서, HLA 클래스 I 대립유전자는 HLA-A*02 대립유전자이다.
- [0016] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체는 T 세포 수용체(TCR) 또는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 T 세포 수용체(TCR) 또는 키메라 항원 수용체(CAR)이다.
- [0017] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인은 단일 사슬 Fv 항체 단편(ScFv), β 사슬 가변 도메인($V\beta$), TCR α 사슬 가변 도메인 및 TCR β 사슬 가변 도메인, 또는 가변 중쇄(VH) 도메인 및 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드 결합 도메인은 ScFv, $V\beta$ 도메인, TCR α 사슬 가변 도메인 및 TCR β 사슬 가변 도메인, 또는 가변 중쇄(VH) 도메인 및 가변 경쇄(VL) 도메인을 포함한다.
- [0018] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 EGFR 또는 이의 펩타이드 항원이다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 102, 서열 번호 104, 서열 번호 106, 서열 번호 108, 서열 번호

110, 서열 번호 112, 서열 번호 114, 서열 번호 116, 서열 번호 118 또는 서열 번호 391의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 131 내지 서열 번호 166으로부터 선택된 CDR을 포함한다.

- [0019] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 MSLN 또는 이의 펩타이드 항원이다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 86, 서열 번호 88, 서열 번호 90 또는 서열 번호 92의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0020] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 CEA 또는 이의 펩타이드 항원이다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 94, 서열 번호 96, 서열 번호 98, 서열 번호 100, 서열 번호 282, 서열 번호 284 또는 서열 번호 286, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 294 내지 서열 번호 302로부터 선택된 CDR을 포함한다.
- [0021] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 CD19 또는 이의 펩타이드 항원이고, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 275 또는 서열 번호 277, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0022] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 pan-HLA 리간드이다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인은 서열 번호 167, 서열 번호 169, 서열 번호 171, 서열 번호 173, 서열 번호 175 또는 서열 번호 177의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0023] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 HA-1을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 199를 포함하는 TCR 알파 가변 도메인, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열, 및 서열 번호 200을 포함하는 TCR 베타 가변 도메인, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 199를 포함하는 TCR 알파 가변 도메인 및 서열 번호 200을 포함하는 TCR 베타 가변 도메인을 포함한다.
- [0024] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 HLA-A*02 대립유전자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 53 내지 64 중 어느 하나, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 41 내지 서열 번호 52로부터 선택된 CDR을 포함한다.
- [0025] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM: immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif)를 포함한다.
- [0026] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 세포내 도메인은 서열 번호 76과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열 번호 85와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 힌지 도메인은 서열 번호 84, 서열 번호 77 또는 서열 번호 78과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인, 또는 이들의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인은 서열 번호 80 또는 서열 번호 80과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 서열 번호 80을 포함하는 제1 폴리펩타이드 또는 TCR 알파 가변 도메인에 융합된 이것과 적어도 95%의 동일성을 갖는 서열, 및 서열 번호 80을 포함하는 제2 폴리펩타이드 또는 TCR 베타 가변 도메인에 융합된 이것과 적어도 95%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0027] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 약 1:10 내지 10:1의 제1 수용체 대 제2 수용체의 비로 면역 세포의 표면에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 약 1:3 내지 3:1의 제1 수용체 대 제2 수용체의 비로 면역 세포의 표면에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 약 1:1의 비로 면역 세포의 표면에서 발현된다.
- [0028] 본 개시내용의 면역 세포의 일부 실시형태에서, 면역 세포는 T 세포, B 세포 및 자연 살해(NK: Natural Killer) 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 면역 세포는 비자연이다. 일부 실시형태에서, 면역

세포는 단리된다.

- [0029] 본 개시내용은 약제로서 사용하기 위한 본 개시내용의 2개의 수용체 시스템을 발현하는 면역 세포를 제공한다. 일부 실시형태에서, 약제는 암의 치료에 사용하기 위한 것이다.
- [0030] 본 개시내용은 본 개시내용의 면역 세포를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 치료학적 유효량의 면역 세포를 포함한다.
- [0031] 본 개시내용은 본 개시내용의 복수의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 입양 세포 치료의 특이성을 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0032] 본 개시내용은 치료학적 유효량의 본 개시내용의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0033] 본 개시내용의 방법의 일부 실시형태에서, 대상체는 암을 갖는다. 일부 실시형태에서, 암의 세포는 제1 리간드를 발현한다. 일부 실시형태에서, 암의 세포는 이형접합성 소실 또는 Y 염색체 소실로 인해 제2 리간드를 발현하지 않는다.
- [0034] 본 개시내용은 (a) 복수의 면역 세포를 제공하는 단계; 및 (b) 면역 세포를 막관통 영역 및 세포의 영역을 포함하는 제1 조작된 수용체를 암호화하는 벡터이되, 세포의 영역은 제1 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는 벡터, 및 막관통 영역 및 세포의 영역을 포함하는 제2 조작된 수용체를 암호화하는 벡터이되, 세포의 영역은 제2 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는 벡터에 의해 형질전환하는 단계를 포함하는 본 개시내용의 면역 세포를 제조하는 방법을 제공하고; 제1 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고, 제2 리간드에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 리간드에 의해 면역 세포의 활성화를 억제한다.
- [0035] 본 개시내용은 본 개시내용의 면역 세포 또는 약제학적 조성물을 포함하는 키트를 제공한다.
- [0036] 본 개시내용은 HA-1 부 조직접합 항원(MiHA)에 특이적으로 결합을 할 수 있는 세포의 리간드 결합 도메인 및 적어도 하나의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인을 포함하는 억제 수용체를 제공한다.
- [0037] 본 개시내용의 억제 수용체의 일부 실시형태에서, 세포의 리간드 결합 도메인은 VLRDDLLEA(서열 번호 266)의 HA-1(R) 펩타이드에 대한 것보다 VLHDDLLEA(서열 번호 191)의 HA-1(H) 펩타이드에 대한 더 높은 친화성을 갖는다. 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 VLHDDLLEA(서열 번호 191)의 HA-1(H) 펩타이드에 의해 활성화되고, 활성화되지 않거나, 더 적은 정도로 VLRDDLLEA(서열 번호 266)의 HA-1(R) 펩타이드에 의해 활성화된다. 일부 실시형태에서, 세포의 리간드 결합 도메인은 서열 번호 199를 포함하는 TCR 알파 가변 도메인, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열, 및 서열 번호 200을 포함하는 TCR 베타 가변 도메인, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포의 리간드 결합 도메인은 서열 번호 199를 포함하는 TCR 알파 가변 도메인 및 서열 번호 200을 포함하는 TCR 베타 가변 도메인을 포함한다.
- [0038] 본 개시내용의 억제 수용체의 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열 번호 76과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열 번호 85와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인, 또는 이들의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 세포내 도메인 및 LILRB1 막관통 도메인은 서열 번호 80, 또는 서열 번호 80과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 서열 번호 80을 포함하는 제1 폴리펩타이드 또는 TCR 알파 가변 도메인에 융합된 이것과 적어도 95% 동일한 서열, 및 서열 번호 80을 포함하는 제2 폴리펩타이드 또는 TCR 베타 가변 도메인에 융합된 이것과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 서열 번호 195 또는 이것과 적어도 95%의 동일성에서의 폴리펩타이드 및 서열 번호 197 또는 이것과 적어도 95%의 동일성에서의 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0039] 본 개시내용은 (a) 제1 조작된 수용체이되, 제1 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포의 영역을 포함하고, 세포의 영역은 CD19 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 조작된 수용체;

및 (b) 제2 조작된 수용체이되, 제2 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 HLA-A*02 대립유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포를 제공하고, CD19 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의해 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고, HLA-A*02 대립유전자에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제한다.

[0040] 본 개시내용은 (a) 제1 조작된 수용체이되, 제1 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 EGFR 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 조작된 수용체; 및 (b) 제2 조작된 수용체이되, 제2 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 HLA-A*02 대립유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포를 제공하고, EGFR 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의해 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고, HLA-A*02 대립유전자에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제한다.

[0041] 본 개시내용은 (a) 제1 조작된 수용체이되, 제1 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 메소텔린(MSLN) 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제1 조작된 수용체; 및 (b) 제2 조작된 수용체이되, 제2 조작된 수용체는 막관통 영역 및 세포외 영역을 포함하고, 세포외 영역은 HLA-A*02 대립유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는, 제2 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포를 제공하고, MSLN 리간드에 대한 제1 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의해 면역 세포를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하고, HLA-A*02 대립유전자에 대한 제2 리간드 결합 도메인의 결합은 제1 수용체에 의한 면역 세포의 활성화를 억제한다.

도면의 간단한 설명

[0042] 본 발명의 특징 및 이점의 더 양호한 이해는 본 발명의 원칙이 사용된 예시적인 실시형태를 기재한 하기 상세한 설명 및 하기의 첨부된 도면을 참조하여 얻어질 것이다:

도 1은 정상 조직을 구성하는 이형접합성 세포의 배경에 대한 종양을 형성하는 반접합성 종양 세포를 예시하는 다이어그램이다. 반접합성 종양 세포는 오직 표적 A를 발현하고, 이형접합성 소실(LOH)로 인해 표적 B를 소실하지만, 정상 세포는 표적 A와 표적 B 둘 다를 발현한다. 표적 B에 의해 차단되고 표적 A에 의해 활성화된 종양 선택적 세포독성 치료제를 생성하기 위해 이 유전적 차이가 이용될 수 있는데, 이로써 종양을 선택적으로 사멸한다.

도 2a는 종양에서 LOH에 기초한 이중 표적화된 치료의 예시적인 구성을 보여주는 다이어그램이다. 이 예에서, 활성화인자 및 차단제 신호의 세포 기반 통합이 있다.

도 2b는 다양한 활성화인자 및 수용체 형식 및 조합을 보여주는 일련의 다이어그램이다.

도 3a는 TCR 형식의 본 개시내용의 예시적인 이중 수용체 작제물을 보여주는 한 쌍의 다이어그램이다. 이 예에서, 활성화인자 및 억제제(차단제) LBD는 각각 TCR의 CD3 감마 아단위에 별개로 융합된다.

도 3b는 CAR 형식의 본 개시내용의 예시적인 이중 수용체 작제물을 보여주는 다이어그램 및 표이다. 억제제 CAR의 예시적인 ITIM 및 억제제 도메인은 표에서 오른쪽에 기재되어 있다.

도 4a는 GTEx 데이터베이스로부터 인간 조직에서의 트랜스페린 수용체(TFRC)의 RNA-Seq 발현 프로파일을 보여주는 선도이다. 트랜스페린 수용체(TFRC)는 표적 A(활성인자)에 대한 후보이다. RNA 수준에서의 TFRC의 발현은 편재하고 비교적 고르다. TFRC는 필수 유전자이다: 기능 소실 동형접합성 돌연변이는 마우스에서 배아 치사이다.

도 4b는 HLA-A 및 HLA-B의 RNA-Seq 발현 프로파일을 보여주는 선도이다.

도 5a 내지 도 5h는 LIR-1 차단제가 모듈식이고 큰 EC50 이동을 매개한다는 것을 보여준다.

도 5a는 차단제 작제물을 평가하기 위한 T2-저카트 실험의 도식을 보여준다.

도 5b는 NY-ESO-1 차단제 펩타이드가 로딩될 때 MAGE-A3 CAR 활성화인자(MP1-CAR)의 EC50에 대한 다양한 NY-ESO-1 scFv LBD 차단제 모듈(PD-1, CTLA-4, LIR-1)의 효과를 보여준다. 오차 막대는 \pm SD(n=2)를 나타낸다.

도 5c는 상응하는 펩타이드가 로딩될 때 MAGE-A3 CAR 활성화인자 (MP1-CAR)의 EC50에 대한 다양한 scFv LBD(ESO, MP1 LBD 1, MP1 LBD 2, HPV E6 LBD 1, HPV E6 LBD 2, HPV E7)를 갖는 LIR-1 차단제 모듈의 효과를 보여준다.

오차 막대는 \pm SD(n=2)를 나타낸다.

도 5d는 NY-ESO-1 차단제 펩타이드가 로딩될 때 상이한 MAGE-A3 CAR 활성화인자(MP1-CAR 또는 MP2-CAR)의 EC50에 대한 NY-ESO-1 scFv LBD를 갖는 LIR-1 차단제 모듈의 효과를 보여준다. 오차 막대는 \pm SD(n=2)를 나타낸다.

도 5e는 NY-ESO-1 차단제 펩타이드가 로딩될 때 상이한 TCR 활성화인자(MP1-TCR, MP2-TCR, HPV E6-TCR)의 EC50에 대한 NY-ESO-1 scFv LBD를 갖는 LIR-1 차단제 모듈의 효과를 보여준다. 오차 막대는 \pm SD (n=2)를 나타낸다. 3개의 상이한 TCR 활성화인자는 ESO scFv, LIR-1 힌지, LIR-1 TM 및 LIR-1 ICD를 갖는 NY-ESO-LIR-1에 의해 차단된다.

도 5f는 MAGE-A3 CAR 및 TCR 활성화인자(MP1-CAR, MP1-TCR)의 EC50에 대한 NY-ESO-1 Fcr LBD를 갖는 LIR-1 차단제 모듈의 효과를 보여준다. 오차 막대는 \pm SD (n=2)를 나타낸다. 제3 세대 CAR 활성화인자 또는 정기적 TCR 활성화인자 둘 다는 TCRa ECD, LIR-1 TM, LIR-1 ICD 및 TCRb ECD, LIR-1 TM 및 LIR-1 ICD를 갖는 NY-ESO-1 Fcr-LIR-1에 의해 차단될 수 있다.

도 5g는 활성화인자(HPV E7) 및 차단제(NY-ESO-1) 항원의 다양한 비를 나타내는 비드와 동시배양된 HPV E7-CAR 또는 HPV E7-CAR 및 A2-LIR-1에 의해 형질주입된 저카트 세포가 트랜스가 아니라 시스에서의 차단을 나타낸다는 것을 보여준다.

도 5h는 A2-LIR-1 차단제 모듈이 다양한 활성화인자 대 차단제 비에서 CD19-CAR 활성화인자를 차단한다는 것을 보여준다. E:T 비: 효과기: 표적 비.

도 6a, 도 6c 내지 도 6e는 LIR-1 차단제를 발현하는 1차 T 세포가 pMHC 및 비-pMHC 개념 증명 표적에 의해 종양 세포를 선택적으로 사멸한다는 것을 보여준다.

도 6a는 HPV E7-TCR 활성화인자 및 ESO-LIR-1 차단제에 의해 형질도입된 1차 T 세포가 1차 T 세포 사멸 검정에서 EC50을 약 100배 이동시킨다는 것을 보여준다. 오차 막대는 \pm SD(n=2)를 나타낸다.

도 6b는 HLA-A*02-LIR-1이 저카트 세포에서 다양한 활성화인자:차단제 DNA 비로 NY-ESO-1 CAR 활성화인자를 차단한다는 것을 보여준다.

도 6c는 CD19 CAR 활성화인자 및 HLA-A*02 차단제에 의해 형질도입된 1차 T 세포가 시험관내 세포독성 검정에서 "종양" 세포를 "정상" 세포와 구별하고, 3:1의 E:T에서 혼합 표적 세포 검정에서 "종양" 세포의 선택적 사멸을 나타낸다는 것을 보여준다. A2-LIR-1 : HLA-A2*02 LBD를 갖는 LIR-1 기반 수용체

도 6d 내지 도 6e는 CD19 CAR 활성화인자 및 HLA-A*02 차단제에 의해 형질도입된 1차 T 세포가 3:1의 E:T에서 시험관내 세포독성 검정에서 3 회차의 항원 노출(AB-A-AB 및 A-AB-A) 후 가역적 봉쇄(도 6d) 및 활성화(도 6e)를 나타낸다는 것을 보여준다. 1차 T 세포 세포독성 검정은 3개의 HLA-A*02-음성 공여자에 의해 재현되었다.

도 7a 내지 도 7e는 변형된 CAR-T 세포(즉, 활성화인자 및 차단제 수용체 둘 다를 발현하는 CAR-T 세포)가 이종이식 모델에서 종양을 선택적으로 사멸한다는 것을 보여준다.

도 7a는 CD19 CAR 활성화인자 및 HLA-A*02 차단제에 의해 형질도입된 1차 T 세포가 10일에 걸쳐 CD3/28 자극에 의해 약 20배 확장을 나타낸다는 것을 보여준다.

도 7b는 생체내 연구 설계의 도식을 보여준다: HLA-A*02 NSG 마우스는 "종양 세포"(A2-음성 라지 세포(Rajice11)) 또는 "정상 세포"(A2-양성 라지 세포)가 동시에 투여되고, 라지 이종이식편이 평균 약 70 mm³일 때 1차 T 세포(인간, HLA-A*02-음성 공여자)가 꼬리 정맥으로 주사된다.

도 7c 내지 도 7e는 캘리퍼 측정에 의한 종양 크기의 판독정보(도 7c), 유세포분석법에 의한 인간 혈액 T 세포 수(도 7d) 및 생존율(도 7e)을 보여준다. 오차 막대는 평균의 표준 오차(s.e.m.)이다. UTD: 비형질도입됨.

도 8은 활성화 EC50의 펩타이드-로딩 이동이 통상적으로 약 10x 미만이라는 것을 보여준다. 활성화 MAGE-A3 CAR(MP2 CAR)에 대한 차단제 펩타이드 로딩(NY-ESO-1, MAGE-A3, HPV E6 및 HPV E7의 50 μ M 각각)의 효과가 도시되어 있다.

도 9는 LIR-1 차단제 모듈이 리간드 의존적이라는 것을 보여준다. 다양한 농도의 NY-ESO-1 차단제 펩타이드가 로딩될 때 활성화 MAGE-A3 CAR(MP1-CAR)의 EC50에 대한 NY-ESO-1-LIR-1 차단제의 효과가 도시되어 있다.

도 10은 ICD가 없는 또는 돌연변이된 비기능적 ICD를 갖는 차단제가 활성화를 차단하지 않는다는 것을

보여준다. 10 μ M의 NY-ESO-1 차단제 펩타이드가 로딩될 때 MAGE-A3 CAR 활성인자(MP2-CAR)의 EC50에 대한 ICD를 함유하지 않는 변형된 LIR-1 차단제 모듈(청색) 또는 NY-ESO-1 scFv LBD를 갖는 돌연변이된 ICD(자주색)의 효과가 도시되어 있다.

도 11은 HLA-A*02+ (A2+) 라지 세포에서 CD19가 저카트 활성화를 활성화하고 A2-LIR-1이 이를 차단한다는 것을 보여준다. CD19 또는 CD19와 A2-LIR-1에 의해 형질주입된 저카트 세포를 다양한 세포 비율에서 WT (A2-) 라지 세포 또는 A2+ 라지 세포와 동시배양하였다.

도 12는 종양 성장에 대한 마우스 혈액에서의 hCD3+ T 세포의 상관관계를 보여주는 4개의 패널이다. A2- 및 A2+ 라지 세포에 의한 T 세포 주사 후 10일 및 17일에 종양 용적과 비교된 hCD3+ T 세포의 그래프가 도시되어 있다.

도 13은 EGFR CAR 활성인자 및 HLA-A*02 LIR-1 차단제를 발현하는 저카트 세포가 EGFR+/HLA-A*02+ HeLa 표적 세포가 아니라 EGFR+/HLA-A*02- HeLa 표적 세포에 의해 활성화된다는 것을 보여준다.

도 14a는 HLA-A*02에 의해 형질도입된 HeLa 세포 및 HCT116 세포에 대한 HLA-A*02의 발현을 보여준다. HeLa 및 HCT116 세포를 항-HLA-A2 항체 BB7.2로 표지하고, FAC를 분류하였다. 녹색: 비표지된 HeLa; 오렌지색: 비표지된 HCT116; 청색: BB7.2로 표지된 야생형 HCT116; 적색: HLA-A*02에 의해 형질도입되고 BB7.2에 의해 표지된 HeLa 세포.

도 14b는 HeLa 세포 및 HCT116 세포에 대한 EGFR의 발현을 보여준다. HeLa 및 HCT116 세포를 항-EGFR 항체로 표지하고, FAC를 분류하였다. 녹색: 비표지된 HeLa; 오렌지색: 비표지된 HCT116; 청색: 항-EGFR로 표지된 야생형 HCT116; 적색: HLA-A*02에 의해 형질도입되고 항-EGFR에 의해 표지된 HeLa 세포.

도 15a는 EGFR CAR을 발현하는 저카트 세포 및 HCT116 표적 세포의 EGFR CAR 활성화를 보여준다.

도 15b는 저카트 세포의 EGFR CAR 활성화가 HLA-A*02 LIR-1 억제 수용체에 의해 차단될 수 있다는 것을 보여준다. 저카트 세포가 EGFR 및 HLA-A*02를 발현하는 HCT116 표적 세포에 의해 제시될 때 저카트 세포에 의한 EGFR CAR 및 HLA-A*02 LIR-1 억제 수용체의 동시발현은 대략 1.8x의 CAR E_{MAX}의 이동으로 이어진다.

도 16a는 활성인자 대 차단제 항원의 최적 비를 결정하기 위한 비드 기반 검정에서의 활성인자 항원의 적정을 보여준다.

도 16b는 활성인자 대 차단제 항원의 최적 비를 결정하기 위한 비드 기반 검정에서의 활성인자 항원의 일정한 양의 존재 하에서의 차단제 (억제) 항원의 적정을 보여준다.

도 17은 NY-ESO-1 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체가 표적 세포로서의 고품 종양 세포주 A375를 사용하여 MP1 MAGE-A3 TCR에 의한 저카트 세포 활성화의 활성화를 억제할 수 있다는 것을 보여주는 다이어그램(왼쪽) 및 선도(오른쪽)이다.

도 18은 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체가 표적 세포로서의 B 세포 백혈병 계통 NALM6을 사용하여 CD19 ScFv CAR에 의한 저카트 세포 활성화의 활성화를 억제할 수 있다는 것을 보여주는 다이어그램(왼쪽) 및 선도(오른쪽)이다.

도 19는 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체가 용량 의존적 방식으로 NY-ESO-1 ScFv CAR 활성인자에 의해 저카트 세포의 활성화를 억제할 수 있다는 것을 보여주는 다이어그램(왼쪽) 및 선도(오른쪽)이다.

도 20은 pan HLA(pan 클래스 I) ScFv CAR이 T2 표적 세포 및 루시퍼라제 검정을 사용하여 저카트 세포에서 분석될 때 조정 가능할 강도로 HLA-A*02 LIR-1 차단제의 발현에 의해 차단된다는 것을 보여준다.

도 21a는 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체가 무세포 비드 기반 검정에서 시스로 저카트 세포의 활성화를 억제할 수 있다는 것을 보여준다.

도 21b는 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체가 표적 세포로서의 백혈병 세포주 K562를 사용하여 MSLN ScFv CAR에 의해 저카트 세포의 활성화를 억제할 수 있다는 것을 보여준다.

도 22는 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체가 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체 및 표적 세포로서의 HLA-A*02+ HeLa 및 SiHa 세포를 사용하여 MSLN ScFv CAR에 의해 IFN γ 의 배수 유도에 의해 측정된 것처럼 저카트 세포의 활성화를 억제할 수 있다는 것을 보여주는 다이어그램(왼쪽) 및 차트(오른쪽)이다.

도 23은 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체가 HLA-A*02- SiHa 세포가 아니라 HLA-A*02+ SiHa 세포를

사용하여 MSLN CAR 활성화자에 의한 사멸을 억제한다는 것을 보여준다.

도 24는 비드 기반 검정을 사용한 EGFR ScFv CAR을 발현하는 저카트 세포의 활성화가 활성화자 및 억제제 항원이 트랜스로 비드에 존재할 때가 아니라 활성화자 및 억제제 항원이 시스로 비드에 존재할 때 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체에 의해 차단될 수 있다는 것을 보여준다.

도 25a는 EGFR ScFv CAR에 의한 저카트 세포의 활성화가 HLA-A*02(SiHa WT)를 발현하지 않는 SiHa 세포에 의해서가 아니라 HLA-A*02(SiHa A02)를 발현하는 SiHa 표적 세포를 사용하여 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체에 의해 차단될 수 있다는 것을 보여준다.

도 25b는 EGFR ScFv CAR에 의한 저카트 세포의 활성화가 HLA-A*02(HeLa WT)를 발현하지 않는 HeLa 세포에 의해서가 아니라 HLA-A*02(HeLa A02)를 발현하는 HeLa 표적 세포를 사용하여 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체에 의해 차단될 수 있다는 것을 보여준다.

도 26은 LIR-1 억제 도메인에 융합된 추가 ScFv가 용량 의존적 방식으로 항시적 CAR 활성화자를 억제한다는 것을 보여준다. 저카트-NFAT 루시퍼라제 리포터 세포는 높은 긴장성 신호전달을 나타내는 활성화 CAR 작제물 및 다양한 pMHC를 인식하는 억제 작제물에 의해 형질주입되었다. NFAT-루시퍼라제의 활성화에 대한 효과는 형질주입된 저카트 세포를 다양한 양의 억제 펩타이드가 로딩된 T2 세포와 동시배양하여 측정되었다.

도 27은 MiHA-b 대리자 ScFv 리간드 결합 도메인(KRAS G12V ScFv-차단제)을 포함하는 억제 수용체가 T2 표적 세포를 사용하여 MiHA-a 대리자(KRAS G12D TCR, C-891)를 표적화하는 활성화자 TCR에 의해 저카트 효과기 세포 활성화를 억제한다는 것을 보여주는 다이어그램(왼쪽) 및 선도(오른쪽)이다.

도 28은 LIR-1 힌지, TM 및 ICD에 융합된 MiHA-b 대리자 ScFv 리간드 결합 도메인(KRAS G12D ScFv-차단제)을 포함하는 억제 수용체가 T2 표적 세포를 사용하여 MiHA-a 대리자(KRAS G12V TCR, C-913)를 표적화하는 TCR에 의해 저카트 효과기 세포 활성화를 억제한다는 것을 보여주는 다이어그램(왼쪽) 및 선도(오른쪽)이다.

도 29는 LIR1 TM 및 ICD에 융합된 MiHA-b 대리자 FcR 결합 도메인(KRAS G12V FcR-차단제)을 포함하는 억제 수용체가 T2 표적 세포를 사용하여 MiHA-a 대리자(KRAS G12D TCR)를 표적화하는 TCR에 의해 저카트 효과기 세포 활성화를 억제한다는 것을 보여주는 다이어그램(왼쪽) 및 선도(오른쪽)이다.

도 30은 LIR-1 TM 및 ICD에 융합된 MiHA-b 대리자 FcR 결합 도메인(KRAS G12D FcR-차단제)을 포함하는 억제 수용체가 T2 표적 세포를 사용하여 MiHA-a 대리자(KRAS G12V TCR)를 표적화하는 TCR에 의해 저카트 효과기 세포 활성화를 억제한다는 것을 보여주는 다이어그램(왼쪽) 및 선도(오른쪽)이다.

도 31a는 하나의 돌연변이체 KRAS 펩타이드[KRAS G12D] 및 LIR-1 힌지에 결합하는 MiHA-b ScFv 리간드 결합 도메인, 막관통 도메인 및 다른 돌연변이체 KRAS 펩타이드(KRAS G12V)에 결합하는 세포내 도메인(ICD)을 포함하는 억제 수용체를 사용한 MiHA-a TCR에 의한 저카트 세포 활성화의 억제를 보여주는 선도이다. 흑색: C-891 활성화자; 청색: C-891 활성화자, C-1761 억제제; 적색: C-891 활성화자, C-2371 및 C2369 억제제.

도 31b는 MiHA-b FcR 리간드 결합 도메인 및 LIR-1 막관통 도메인 및 세포내 도메인(ICD)을 함유하는 억제 수용체를 사용한 MiHA-a TCR에 의한 저카트 세포 활성화의 억제를 보여주는 선도이다. 흑색: C-913 활성화자; 청색: C-913 활성화자, C-1761 억제제; 적색: C-913 활성화자, C2365 및 C2367 억제제.

도 32는 마우스 MiHA-Y TCR이 저카트 효과기 세포를 활성화할 수 있다는 것을 보여주는 선도이다.

도 33a는 HA-1 FcR이 HA-1(H) 펩타이드의 존재 하에 NY-ESO-1 TCR을 특이적으로 차단할 수 있다는 것을 보여주는 선도 및 표이다.

도 33b는 비특이적인 대립유전자 변이체 HA-1(R) 펩타이드의 존재 하에 HA-1 FcR에 의한 NY-ESO-1 TCR의 차단이 본질적으로 없다는 것을 보여주는 선도 및 표이다.

도 34a는 HA-1 FcR이 HA-1(H) 차단제 펩타이드의 존재 하에 KRAS TCR을 특이적으로 차단할 수 있다는 것을 보여주는 선도 및 표이다.

도 34b는 비특이적인 대립유전자 변이체 HA-1(R) 펩타이드의 존재 하에 HA-1 FcR에 의한 KRAS TCR의 차단이 본질적으로 없다는 것을 보여주는 선도 및 표이다.

도 35는 유세포분석법에 의해 T2 세포에서 HA-1(R), HA-1(H) 및 NY-ESO-1 펩타이드의 펩타이드 로딩을 비교하는 선도이다.

도 36a는 MAGE-A3 MP1 ScFv CAR 및 NY-ESO-1 ScFv LIR1 차단제를 사용한 활성화 용량 반응을 보여주는 선도 및 표이다.

도 36b는 MAGE-A3 MP1 ScFv CAR 및 NY-ESO-1 ScFv LIR1 차단제를 사용한 억제 용량 반응을 보여주는 선도 및 표이다.

도 36c는 각각의 곡선에 사용된 일정한 활성인자 MAGE 펩타이드 농도로 정규화되고 x축에 작도된 도 36b로부터의 x-값 차단제 NY-ESO-1 펩타이드 농도를 보여주는 선도이다. B: NY-ESO-1 LIR1 차단제, A: MAGE-A3 펩타이드 2 ScFv CAR.

도 37은 HLA-A*02 ScFv LIR1 억제제가 상이한 EGFR ScFv CAR 활성인자와 사용될 때 상이한 정도의 차단이 관찰된다는 것을 보여주는 일련의 선도 및 표이다.

도 38a는 상이한 EGFR ScFv CAR 및 HLA-A*02 ScFv LIR1 억제제를 발현하는 T 세포와 EGFR 활성인자 단독(표적 A), 억제제 표적 단독(표적 B) 또는 활성인자와 억제제 표적(표적 AB)을 발현하는 HeLa 세포의 항온처리 후 T 세포에 의한 EGFR ScFv CAR 활성인자 수용체의 발현을 보여주는 일련의 형광 활성 세포 분류(FACS) 선도이다.

도 38b는 표적 세포에 대한 노출 전 및 활성인자 리간드 단독(표적 A)을 발현하는 표적 세포 또는 활성인자와 차단제 리간드 둘 다(표적 AB)를 발현하는 표적 세포와의 120시간 동시배양 후 활성인자 수용체 발현의 정량화를 보여주는 선도이다.

도 39a는 동일한 세포에 EGFR(표적 A), HLA-A*02(표적 B), EGFR과 HLA-A*02의 조합(표적 AB)을 발현하는 HeLa 세포의 집단, 상이한 세포에 표적 A와 표적 AB를 발현하는 HeLa 세포의 혼합 집단, 또는 상이한 세포에 표적 B와 표적 AB를 발현하는 HeLa 세포의 혼합 집단과의 동시배양 후 EGFR ScFv CAR(CT-482) 활성인자 및 HLA-A*02 ScFv LIR1 억제제(C1765)를 발현하는 T 세포에 대한 활성인자 수용체의 세포 표면 발현을 보여주는 선도이다.

도 39b는 동일한 세포에 EGFR(표적 A), HLA-A*02(표적 B), EGFR과 HLA-A*02의 조합(표적 AB)을 발현하는 HeLa 세포의 집단, 상이한 세포에 표적 A와 표적 AB를 발현하는 HeLa 세포의 혼합 집단, 또는 상이한 세포에 표적 B와 표적 AB를 발현하는 HeLa 세포의 혼합 집단과의 동시배양 후 EGFR ScFv CAR(CT-482) 활성인자 및 HLA-A*02 ScFv LIR1 억제제(C1765)를 발현하는 T 세포에 대한 억제제 수용체의 세포 표면 발현을 보여주는 선도이다.

도 40은 T 세포에 의한 활성인자 수용체의 발현 소실이 가역적인지를 결정하기 위한 실험의 다이어그램이다.

도 41a는 활성인자 표면 발현 소실이 가역적이고 T 세포 세포독성에 상응한다는 것을 보여주는 일련의 선도이다. 상부에서: T 세포에 의한 표적 HeLa 세포의 퍼센트 사멸이 도시되어 있다. 하부에서: FACS에 의해 분석된 것과 같은 활성인자 및 억제제 수용체 발현.

도 41b는 활성인자 표면 발현 소실이 가역적이고 T 세포 세포독성에 상응한다는 것을 보여주는 일련의 선도이다. 상부에서: T 세포에 의한 표적 HeLa 세포의 퍼센트 사멸이 도시되어 있다. 하부에서: FACS에 의해 분석된 것과 같은 활성인자 및 억제제 수용체 발현.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 본 발명자들은 적합한 마커를 확인하고 세포 치료에 의한 질환, 특히 암의 치료에서 세포 선택도를 달성하는 문제에 대한 해결책을 개발하였다. 본 발명의 일차 목적은 이형접합성 소실에 기초하여 세포를 표적화하는 것이다(도 1). 활성 신호 및 억제 신호가 세포 수준에서 통합된 2개의 수용체 시스템을 사용하여(도 2a, 도 2b, 도 3a 및 도 3b), 비종양 세포가 아니라 종양 세포의 선택적 표적화가 달성된다. 표적 세포에서 부재하거나 소실되지 만 정상 세포에 존재하는 표면 단백질의 발현의 차이는 이로써 표적화된 항-종양 세포 치료로 전환된다. 이 차이는 세포 치료에 의해 표적화를 개선하고, 입양 세포 치료에 사용된 효과기 세포의 세포독성 효과로부터 정상 세포를 보호한다.

[0044] 본원에 개시된 이 접근법은 일부 실시형태에서 활성인자 리간드에 대한 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1의 것 및 억제제 리간드에 대한 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2의 것인 2개의 조작된 수용체를 사용하고, 이는 "AND NOT" Boolean 로직을 사용하여 표적 세포에서 선택적으로 활성화된다(도 2a, 도 2b, 도 3a 및 도 3b). 정상 세포는 활성인자 리간드 및 억제제 리간드 둘 다를 발현하지만, 제1 수용체를 통한 효과기 세포의 활성화는 억제제 리간드에 대한 억제제 LBD를 포함하는 제2 수용체의 결합에 의해 차단되고, 이것은 보호 효과를 발휘하고, 제1의, 활성인자 수용체의 활성을 지배한다. 이와 반대로, 활성인자 리간드를 발현하지만 억제제 리간드를 발현하지 않는 표적 세포에서, 활성인자 LBD에 의한 활성인자 리간드의 결합은 세포를 활성화한다. 본 개시내용

의 이중 활성인자/억제제 수용체 전략의 이점은 강력하지만 특이적 종양-표적화된 입양 세포 치료를 생성하는 활성인자 및 억제제 조합을 조정하는 능력을 포함한다. 추가로, 이 접근법은 신체에서 가변 효과기 대 표적 세포 비(E:T 비), 및 입양 세포 치료에 의해 종양 세포를 표적화할 때 보인 잠재적으로 매우 과량의 정상 세포 대 종양 세포(예를 들어, 10^{13} 개의 정상 세포 대 10^9 개의 종양 세포)의 도전을 극복할 수 있다. 훨씬 추가로, 본 발명자들은 큰 가능한 환자 조합을 다루는 활성인자 및 억제제를 확인하였고, 이는 이것이 상업적으로 실행 가능한 접근법이 되게 한다.

[0045] 특이적 세포 유형에 대한 입양 세포 치료의 특이성은 제1 수용체 및 제2 수용체의 상이한 활성, 및 제1 리간드 및 제2 리간드의 차등 발현을 통해 달성될 수 있다. 제1 수용체에 대한 제1 리간드의 결합은 활성화 신호를 제공하지만, 제2 수용체에 대한 제2 리간드의 결합은 제1 리간드의 존재 하에서도 효과기 세포의 활성화를 방지하거나 감소시킨다. 제1 리간드는 예를 들어 입양 세포 치료에 의해 표적화된 세포, 및 입양 세포 치료에 대한 표적 세포가 아닌 건강한 세포(비표적 세포) 둘 다에서 제2 리간드보다 더 광범위하게 발현될 수 있다. 이와 반대로, 제2 리간드는 비표적 세포에서 발현되고, 표적 세포에서 발현되지 않는다. 비표적 세포가 아니고 오직 표적 세포는 제2 리간드가 아니라 제1 리간드를 발현하고, 이로써 이들 세포의 존재 하에 본 개시내용의 이중 수용체를 포함하는 효과기 세포를 활성화한다.

[0046] 본 개시내용은 2개의 조작된 수용체의 사용을 통해 이형접합성 소실에 기초한 표적화 세포(예를 들어, 종양 세포)로부터의 조성물 및 방법을 제공한다. 1개의 억제제 및 1개의 활성인자인 2개의 조작된 수용체는 상이한 리간드를 인식하는 상이한 리간드 결합 도메인을 각각 포함한다. 제1 리간드 및 제2 리간드의 발현의 차이는 제1의, 활성인자 리간드가 오직 존재할 때 2개의 수용체를 발현하는 효과기 세포를 선택적으로 활성화하도록 사용된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인 및 제2 리간드 결합 도메인은 상이한 수용체 분자; 즉 단일 유전 작제물, 융합 단백질 또는 단백질 복합체의 일부가 아닌 별개의 수용체에 있다. 일부 실시형태에서, 각각 이의 동족 리간드에 결합할 때 수용체 중 하나는 세포를 활성화하고, 다른 수용체는 세포를 억제한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드 결합 도메인을 포함하는 수용체는 신호전달을 지배하여서, 표적 세포가 표적 둘 다를 발현하면, 그 결과는 효과기 세포의 억제이다. 억제 표적이 세포로부터 부재할 때에만, 제1의, 활성인자 리간드가 제1의, 활성인자 리간드 결합 도메인을 포함하는 수용체를 통해 효과기 세포의 활성화를 유도한다.

[0047] 임의의 광범위하게 발현된 세포 표면 분자, 예를 들어 세포 부착 분자, 세포-세포 신호전달 분자, 세포의 도메인, 화학주성에 관여된 분자, 당단백질, G 단백질 커플링된 수용체, 막관통, 신경전달인자를 위한 수용체 또는 전압 게이팅된 이온 채널, 또는 임의의 이들의 펩타이드 항원은 제1 리간드로서 사용될 수 있다. 추가의 예로서, 제1 리간드는 트랜스페린 수용체(TFRC)일 수 있다. 표적 세포의 표면에서 발현되지 않은 임의의 세포 표면 분자는 제2 리간드로서 사용될 수 있다. 암을 치료하기 위해 조작된 수용체가 입양 세포 치료에서 사용되고 표적 세포가 암 세포인 이들 실시형태에서, 제2 리간드는 암 세포에서 제2 리간드의 이형접합성 소실에 기초하여 선택될 수 있다. 예를 들어, 이형접합성 소실로 이어지는 돌연변이로 인해 암 세포에서 발현이 흔히 소실되는 예시적인 유전자는 HLA 클래스 I 대립유전자, 부 조직접합 항원(MiHA) 및 Y 염색체 유전자를 포함한다.

[0048] 본 개시내용은 추가로 본원에 기재된 조작된 수용체를 암호화하는 벡터 및 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

[0049] 본 개시내용은 추가로 본원에 기재된 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포 집단을 제조하는 방법, 및 이를 사용하여 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

[0050] **정의**

[0051] 본 개시내용을 더 자세히 기술하기 전에, 이는 본원에 사용되는 소정의 용어의 정의를 제공하도록 이의 이해에 도움일 수 있다.

[0052] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 당업자에 의해 흔히 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 특정 실시형태의 실행 또는 교시에서 사용될 수 있지만, 조성물, 방법 및 재료의 바람직한 실시형태가 본원에 기재된다. 본 개시내용의 목적을 위해, 하기 용어가 하기 정의되어 있다. 추가 정의는 본 개시내용에 걸쳐 기재되어 있다.

[0053] 관사 "a", "an" 및 "the"는 관사의 문법적 목적어의 하나 또는 하나 초과(즉, 적어도 하나 또는 하나 이상)를 지칭하도록 본원에 사용된다. 예에 의해, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 이상의 요소를 의미한다.

- [0054] 대안(예를 들어, "또는")의 사용은 대안의 하나, 둘 다, 또는 임의의 이들의 조합을 의미하도록 이해되어야 한다.
- [0055] "및/또는"이라는 용어는 대안의 하나 또는 둘 다를 의미하도록 이해되어야 한다.
- [0056] 본 명세서에 걸쳐, 문맥이 달리 요하지 않는 한, "포함한다", "포함한" 및 "포함하는"의 단어는 임의의 다른 단계 또는 요소 또는 단계 또는 요소의 그룹의 배타가 아니라 기술된 단계 또는 요소 또는 단계 또는 요소의 그룹의 포함을 암시한다고 이해될 것이다. "이루어지는"에 의해 "이루어지는"의 구절에 어떤 것이 뒤따르든지 간에 이에 제한 없이 포함하는 것이 의도된다. 이와 같이, "이루어지는"의 구절은 열거된 요소가 필요하거나 의무적이고, 다른 요소가 존재하지 않을 수 있다는 것을 나타낸다. "본질적으로 이루어지는"에 의해 열거된 요소에 대해 본 개시내용에 기재된 활성 또는 작용을 방해하지 않고 이에 기여하는 다른 요소에 제한 없이 그 구절 후에 열거된 임의의 요소를 포함하는 것이 의도된다. 이와 같이, "본질적으로 이루어지는"의 구절은 열거된 요소가 필요하거나 의무적이지만, 열거된 요소의 활성 또는 작용에 중요하게 영향을 미치는 다른 요소가 존재하지 않을 수 있다는 것을 나타낸다.
- [0057] "일 실시형태", "하나의 실시형태", "특정 실시형태", "관련 실시형태", "소정의 실시형태", "추가 실시형태" 또는 "추가 실시형태" 또는 이들의 조합에 대해 본 명세서에 걸친 언급은 그 실시형태와 연결되어 기재된 특정한 특징, 구조 또는 특성이 적어도 하나의 실시형태에 포함된다는 것을 의미한다. 이와 같이, 본 명세서에 걸쳐 다양한 위치에서 상기 구절의 출현은 반드시 모두 동일한 실시형태를 지칭하지는 않는다. 더욱이, 하나 이상의 실시형태에서 특정한 특징, 구조 또는 특성은 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다. 일 실시형태에서 특징의 긍정 인용이 특정 실시형태에서 특징을 배제하기 위한 기준으로서 작용한다고 또한 이해된다.
- [0058] 본원에 사용된 것과 같이, "약" 또는 "대략"이라는 용어는 기준 분량, 수준, 값, 수, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이와 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1%만큼 많이 변하는 분량, 수준, 값, 수, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이를 지칭한다. 일 실시형태에서, "약" 또는 "대략"이라는 용어는 기준 분량, 수준, 값, 수, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이 주위의 분량, 수준, 값, 수, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이 $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 9\%$, $\pm 8\%$, $\pm 7\%$, $\pm 6\%$, $\pm 5\%$, $\pm 4\%$, $\pm 3\%$, $\pm 2\%$ 또는 $\pm 1\%$ 의 범위를 지칭한다.
- [0059] 본원에 사용된 것과 같이, "단리된"이라는 용어는 자연적 상태에서 재료가 보통 수반하는 성분이 실질적으로 또는 본질적으로 없는 재료를 의미한다. 특정 실시형태에서, "얻은" 또는 "유래된"이라는 용어는 단리된과 동의어로 사용된다.
- [0060] "대상체", "환자" 및 "개체"라는 용어는 척추동물, 바람직하게는 포유류, 더 바람직하게는 인간을 지칭하도록 본원에 상호교환 가능하게 사용된다. 생체내 얻거나 시험관내 배양된 생물학적 집합체의 조직, 세포 및 이의 자손이 또한 포함된다. 본원에 사용된 것과 같이 "대상체", "환자" 또는 "개체"는 본원에 고려된 벡터, 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있는 통증을 나타내는 임의의 동물을 포함한다. 적합한 대상체(예를 들어, 환자)는 실험실 동물(예컨대, 마우스, 래트, 토끼 또는 기니아 피그), 농장 동물 및 가축 동물 또는 애원동물(예컨대, 고양이 또는 개)을 포함한다. 비인간 영장류 및 바람직하게는 인간 환자가 포함된다.
- [0061] 본원에 사용된 것과 같이 "치료" 또는 "치료하는"은 임의의 유리하거나 바람직한 효과를 포함하고, 심지어 최소 증상 개선을 포함할 수 있다. "치료"는 반드시 질환 또는 병태, 또는 이의 연관된 증상의 완전한 소거 또는 치유를 나타내지는 않는다.
- [0062] 본원에 사용된 것과 같이, "예방한다" 및 "예방된", "예방하는" 등과 같은 유사한 단어는 질환의 증상의 가능성을 예방하거나 억제하거나 감소시키기 위한 접근법을 나타낸다. 이것은 또한 질환 또는 병태의 발병 또는 재발을 지연시키는 것 또는 질환의 증상의 발생 또는 재발을 지연시키는 것을 지칭한다. 본원에 사용된 것과 같이, "예방" 및 유사한 단어는 또한 발병 또는 재발 전에 질환의 강도, 효과, 증상 및/또는 부담을 감소시키는 것을 포함한다.
- [0063] 본원에 사용된 것과 같이, "양"이라는 용어는 임상 결과를 포함하는 유리하거나 원하는 예방 효과 또는 치료 효과를 달성하기 위한 바이러스의 "효과적인 양" 또는 "유효량"을 지칭한다.
- [0064] "예방학적 유효량"은 원하는 예방 결과를 달성하기에 효과적인 바이러스의 양을 지칭한다. 반드시는 아니지만 통상적으로, 질환의 단계 전에 또는 이의 더 이른 단계에서 예방 용량이 대상체에 사용되므로, 예방학적 유효량은 치료학적 유효량보다 적다.

- [0065] 바이러스 또는 세포의 "치료학적 유효량"은 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중 및 개체에서 원하는 반응을 일으키는 바이러스 또는 세포의 능력과 같은 인자에 따라 변할 수 있다. 치료학적 유효량은 또한 치료학적으로 유리한 효과가 바이러스 또는 세포의 임의의 독성 또는 해로운 효과를 증가하는 것이다. "치료학적 유효량"이라는 용어는 대상체(예를 들어, 환자)를 "치료"하기에 효과적인 양을 포함한다.
- [0066] 생리학적 반응, 예를 들어 전기생리학적 활성 또는 세포 활성의 "증가된" 또는 "향상된" 양은 통상적으로 "통계학적으로 유의미한" 양이고, 비치료된 세포에서 활성의 수준의 1.1배, 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배 또는 이것 초과(예를 들어, 500배, 1000배)(1 초과, 예를 들어 1.5, 1.6, 1.7, 1.8 등 및 이들 사이의 모든 정수 및 소수점을 포함)인 증가를 포함할 수 있다.
- [0067] 생리학적 반응, 예를 들어 전기생리학적 활성 또는 세포 활성의 "감소" 또는 "감소된" 양은 통상적으로 "통계학적으로 유의미한" 양이고, 비치료된 세포에서 활성의 수준의 1.1배, 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배 또는 이것 초과(예를 들어, 500배, 1000배)(1 초과, 예를 들어 1.5, 1.6, 1.7, 1.8 등 및 이들 사이의 모든 정수 및 소수점을 포함)인 감소를 포함할 수 있다.
- [0068] "유지한다" 또는 "보존한다" 또는 "유지" 또는 "무변화" 또는 "실질적인 무변화" 또는 "실질적인 무감소"에 의해 일반적으로 비히클, 또는 대조군 분자/조성물 중 어느 하나에 의해 야기된 반응에 필적하는 생리학적 반응을 지칭한다. 필적하는 반응은 기준 반응과 유의미하게 상이하지 않거나 측정 가능하게 상이하지 않은 것이다.
- [0069] 일반적으로, "서열 동일성" 또는 "서열 상동성"은 각각 2개의 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열의 정확한 뉴클레오타이드-대-뉴클레오타이드 또는 아미노산-대-아미노산 관련성을 지칭한다. 통상적으로, 서열 동일성을 결정하기 위한 기법은 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열을 결정하는 것 및/또는 이로써 암호화된 아미노산 서열을 결정하는 것, 및 이 서열을 제2 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열과 비교하는 것을 포함한다. 2개 이상의 서열(폴리뉴클레오타이드 또는 아미노산)은 이의 "퍼센트 동일성"을 결정함으로써 비교될 수 있다. 2개의 서열의 퍼센트 동일성은, 핵산 서열 또는 아미노산 서열이든, 2개의 정렬된 서열 사이의 정확한 일치 수를 더 짧은 서열의 길이에 의해 나누고 100을 곱한 것이다. 예를 들어, National Institutes of Health로부터 입수 가능한 버전 2.2.9를 포함하는 어드밴스드 BLAST 컴퓨터 프로그램을 사용하여 서열 정보를 비교함으로써 퍼센트 동일성이 또한 결정될 수 있다. BLAST 프로그램은 Altschul, 등, J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990); Karlin And Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877 (1993); 및 Altschul 등, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)에 기재된 것처럼 Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268 (1990)의 정렬 방법에 기초한다. 간단히, BLAST 프로그램은 2개의 서열 중 더 짧은 것에서의 기호의 총 수에 의해 나눈 동일한 정렬된 기호(일반적으로 뉴클레오타이드 또는 아미노산)의 수로서 동일성을 정의한다. 프로그램은 비교되는 단백질의 전체 길이에 걸쳐 퍼센트 동일성을 결정하도록 사용될 수 있다. 디폴트 매개변수는 blastp 프로그램에서, 예를 들어 이에 의해 짧은 쿼리 서열과의 검색을 최적화하도록 제공된다. 프로그램은 또한 Wootton and Federhen, Computers and Chemistry 17:149-163 (1993)의 SEG 프로그램에 의해 결정된 것과 같이 쿼리 서열의 분절을 밝히기 위해 SEG 필터의 사용을 허용한다. 원하는 정도의 서열 동일성이 범위는 대략 80% 내지 100% 및 이들 사이의 정수 값이다. 통상적으로, 개시된 서열과 청구된 서열 사이의 퍼센트 동일성은 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 98%이다.
- [0070] "외인성"이라는 용어는 유기체의 밖으로부터 기원한 핵산, 단백질 또는 펩타이드, 소분자 화합물 및 기타를 포함하는 임의의 분자를 지칭하도록 본원에 사용된다. 이와 반대로, "내인성"이라는 용어는 유기체 안에서 기원한 임의의 분자(즉, 유기체에 의해 자연적으로 생성됨)를 지칭한다.
- [0071] "MOI"라는 용어는 물질(예를 들어, 바이러스 입자) 대 감염 표적(예를 들어, 세포)의 비인 감염 다중도를 지칭하도록 본원에 사용된다.
- [0072] 본원에 언급된 모든 공보 및 특허는, 각각의 개별 공보 또는 특허 출원이 참조로 포함된 것으로 구체적으로 및 개별적으로 표시되는 것처럼 본원에 그 전체가 참조로 포함된다. 상충의 경우에, 임의의 정의를 포함하는 본 출원이 규제할 것이다. 그러나, 본원에 인용된 임의의 참고문헌, 논문, 공보, 특허, 특허 공보 및 특허 출원의 언급은 이들이 세계에서 어떠한 나라에서 유효한 선행 기술을 구성하거나 혼한 일반 지식의 일부를 형성한다는 것인 승인, 또는 제시의 임의의 형태로 취해지지 않고 취해지지 않아야 한다.
- [0073] 본 설명에서, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는, 달리 표시되지 않는 한, 인용된 범위 내의 임의의 정수의 값 및 적절할 때 이의 분수(예컨대, 정수의 10/1 및 100/1)를 포함한다고 이해되어야 한다. "약"이라는 용어는, 수 또는 숫자에 바로 선행할 때, 수 또는 숫자 범위의 플러스 또는 마이너스 10%라는

것을 의미한다.

- [0074] 본원에 사용된 것과 같이, "표적 세포"는 입양 세포 치료에 의해 표적화된 세포를 지칭한다. 예를 들어, 표적 세포는 입양 세포 치료의 이식된 T 세포에 의해 사멸될 수 있는 암 세포일 수 있다. 본 개시내용의 표적 세포는 본원에 기재된 것과 같은 활성인자 리간드를 발현하고, 억제제 리간드를 발현하지 않는다.
- [0075] **활성인자**
- [0076] 본 개시내용은 제1 리간드, 활성인자, 및 제1 활성인자 리간드에 결합하는 제1 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 조작된 수용체를 제공한다.
- [0077] 본 개시내용은 세포의 영역을 포함하는 제1 조작된 수용체를 포함하고, 세포의 영역은, 수용체를 발현하는 효과기 세포의 활성화를 촉진하는, 수용체를 활성화하거나 이의 활성화를 촉진하는 제1 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 리간드 결합 도메인을 포함한다. 본 개시내용은 제2 리간드에 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 조작된 수용체를 추가로 제공하고, 제2 리간드 결합 도메인에 의한 제2 리간드의 결합은 제1 리간드에 결합된 제1 수용체의 존재 하에서도 효과기 세포의 활성화를 억제하거나 감소시킨다.
- [0078] 본원에 사용된 것과 같이, "활성인자" 또는 "활성인자 리간드"는 CAR 또는 TCR과 같은 본 개시내용의 조작된 수용체의 제1의, 활성인자 리간드 결합 도메인(LBD)에 결합하여서, 조작된 수용체를 발현하는 T 세포의 활성화를 매개하는 제1 리간드를 지칭한다. 활성인자는 표적 세포, 예를 들어 암 세포에 의해 발현되고, 또한 바로 표적 세포보다 더 광범위하게 발현될 수 있다. 예를 들어, 활성인자는 정상인 비표적 세포의 일부 유형 또는 모든 유형에서 발현될 수 있다.
- [0079] 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 본원에 개시된 임의의 활성인자 표적으로부터의 펩타이드 리간드이다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 주요 조직적합성(MHC) 클래스 I 복합체(펩타이드 MHC 또는 pMHC), 예를 들어 인간 백혈구 항원 A*02 대립유전자(HLA-A*02)를 포함하는 MHC 복합체와 복합체화된 펩타이드 항원이다.
- [0080] 임의의 인간 백혈구 항원(HLA) HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F 및 HLA-G를 포함하는 pMHC와 복합체화된 펩타이드 항원을 포함하는 표적 세포-특이적 제1 활성인자 리간드는 본 개시내용의 범위 내에서 고안된다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드는 HLA-A를 포함하는 pMHC를 포함한다. HLA-A 수용체는 중 α 사슬 및 더 작은 β 사슬을 포함하는 이종이합체이다. α 사슬은 HLA-A의 변이체에 의해 암호화되지만, β 사슬(β2-미크로글로불린)은 비변이체이다. 수천개의 HLA-A 유전자 변이체가 있고, 이들 모두는 본 개시내용의 범위 내에 해당한다. 일부 실시형태에서, MHC-I은 인간 백혈구 항원 A*02 대립유전자(HLA-A*02)를 포함한다.
- [0081] 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-B를 포함하는 pMHC를 포함한다. HLA-B 유전자의 수백개의 버전(대립유전자)이 공지되어 있고, 이들의 각각은 특정 수(예컨대, HLA-B*27)가 주어진다.
- [0082] 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-C를 포함하는 pMHC를 포함한다. HLA-C는 HLA 클래스 I 중쇄 과달로그에 속한다. 이 클래스 I 분자는 중쇄 및 경쇄(베타-2 마이크로글로불린)로 이루어진 이종이합체이다. 백 개 초과의 HLA-C 대립유전자가 당해 분야에 공지되어 있다.
- [0083] 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-A를 포함하는 pMHC를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-B를 포함하는 pMHC를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-C를 포함하는 pMHC를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-E를 포함하는 pMHC를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-F를 포함하는 pMHC를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-G를 포함하는 pMHC를 포함한다.
- [0084] 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-B를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 활성인자 리간드는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F 또는 HLA-G를 포함한다.
- [0085] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 결합 도메인은 ScFv 도메인을 포함한다.
- [0086] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 결합 도메인은 Vβ 단독 리간드 결합 도메인을 포함한다.
- [0087] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 결합 도메인은 T 세포 수용체(TCR)로부터 단리되거나 유래된 항원 결합 도메인을 포함한다. 예를 들어, 제1의, 활성인자 리간드 결합 도메인은 TCR α 및 β 사슬 가변 도메인을

포함한다.

- [0088] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 동일하지 않다.
- [0089] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드는 표적 세포에 의해 발현되고, 비표적 세포(즉, 입양 세포 치료에 의해 표적화되지 않은 정상 세포)에 의해 발현되지 않는다. 일부 실시형태에서, 표적 세포는 암 세포이고, 비표적 세포는 비암성 세포이다.
- [0090] 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 표적 세포에서 높은 세포 표면 발현을 갖는다. 이 높은 세포 표면 발현은 큰 활성화 신호를 전달하는 능력을 부여한다. 세포 표면 발현을 측정하는 방법은 당업자에게 공지될 것이고, 활성인자 리간드에 대한 적절한 항체를 사용한 면역조직화학, 이어서 현미경검사 또는 형광 활성 세포 분류(FACS: fluorescence activated cell sorting)를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0091] 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 필수 세포 기능을 갖는 유전자에 의해 암호화된다. 필수 세포 기능은 세포가 살게 하는 데 필요한 기능이고, 단백질 및 지질 합성, 세포 분열, 복제, 호흡, 대사, 이온 수송 및 조직에 대한 구조 지지체의 제공을 포함한다. 필수 세포 기능을 갖는 유전자에 의해 암호화된 활성인자 리간드의 선택은 암 세포에서의 이수성으로 인한 활성인자 리간드의 소실을 방지하고, 활성인자 리간드를 암호화하는 유전자가 암의 진화 동안 돌연변이유발을 덜 겪게 한다. 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 반수체기능부전인 유전자에 의해 암호화되고, 즉 활성인자 리간드를 암호화하는 유전자의 카피의 소실은 세포에 의해 관용되지 않고, 세포사 또는 불리한 돌연변이체 표현형으로 이어진다.
- [0092] 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 모든 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 표적 세포는 암 세포이다.
- [0093] 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 복수의 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 표적 세포는 암 세포이다. 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 99.9%의 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 적어도 95%의 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 적어도 99%의 표적 세포에 존재한다.
- [0094] 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 모든 세포에 존재한다(유비쿼터스 활성인자 리간드). 예를 들어, 제2 억제제 리간드가 또한 표적 세포를 제외한 모든 세포에서 발현되면 활성인자 리간드는 모든 세포에서 발현될 수 있다.
- [0095] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드는 복수의 표적 세포 및 복수의 비표적 세포에 의해 발현된다. 일부 실시형태에서, 복수의 비표적 세포는 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의 억제제 리간드 둘 다를 발현한다.
- [0096] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 제1 리간드 대 제2 리간드의 약 1:100 내지 약 100:1의 비로 복수의 비표적 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 제1 리간드 대 제2 리간드의 약 1:50 대 약 50:1의 비로 복수의 비표적 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 제1 리간드 대 제2 리간드의 약 1:25 대 약 25:1의 비로 복수의 비표적 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 제1 리간드 대 제2 리간드의 약 1:10 내지 약 10:1의 비로 복수의 비표적 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 제1 리간드 대 제2 리간드의 약 1:5 대 약 5:1의 비로 복수의 비표적 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 제1 리간드 대 제2 리간드의 약 1:3 대 약 3:1의 비로 복수의 비표적 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 제1 리간드 대 제2 리간드의 약 1:2 대 약 2:1의 비로 복수의 비표적 표적 세포에 존재한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 및 제2의, 억제제 리간드는 약 1:1의 비로 복수의 비표적 표적 세포에 존재한다.
- [0097] 제1의, 활성인자 리간드는 제1 리간드 결합 도메인(때때로 본원에서 활성인자 LBD라 칭함)에 의해 인식된다.
- [0098] 예시적인 활성인자 리간드는 세포 부착 분자, 세포-세포 신호전달 분자, 세포외 도메인, 화학주성에 관련된 분자, 당단백질, G 단백질 커플링된 수용체, 막관통 단백질, 신경전달인자에 대한 수용체 및 전압 게이팅된 이온 채널로 이루어진 군으로부터 선택된 리간드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드는 트랜스페린 수용체(TFRC) 또는 이의 펩타이드 항원이다. 인간 트랜스페린 수용체는 NCBI 기록 AAA61153.1호에 기재되어 있고, 이의 내용은 본원에 참고로 포함된다. 일부 실시형태에서, TFRC는

```

1 MMDQARSAFS NLFGGPELSY TRFSLARQVD GDNSHVEMKL AVDEEENADN NTKANVTKPK
61 RCSGSICYGT IAVIVFFLLIG FMIGYLG YCK GVEPKTECER LAGTESPVRE EPGEDFFAAR
121 RLYWDDLKRR LSEKLDSTDF TSTIKLLNEN SYVPREAGSQ KDENLALYVE NQFREFKLSK
181 VWRDQHFVKI QVKDSAQNSV IIVDKNGRELV YLVENPGGYV AYSKAATVTG KLVHANFGTK
241 KDFEDLYTPV NGSIVIVRAG KITFAEKVAN AESLNAIGVL IYMDQTKFPI VNAELSF FGH
301 AHLGTGDPYT PGFPSFNHTQ FPPSRSSGLP NIFVQTISRA AAEKLFGNME GDCPSDWKTD
361 STCRMVTSSE KNVKLTVSNV LKEIKILNIF GVIKGFVEPD HYVVVGAQRD AWGPGAAKSG
421 VGTALLLKL A QMFSDMVLKD GFQPSRSIIF ASWSAGDFGS VGATEWLEGY LSSLHLKAFT
481 YINLDKAVLG TSNFKVSASP LLYTLIEKTM QNVKHPVTGQ FLYQDSN WAS KVEKLTLDNA
541 AFPFLAYSGI PAVSFCFCED TDYPYLGTTM DTYKELIERI PELNKVARAA AEVAGQFVIK
601 LTHDVELNLD YERYNSQLLS FVRDLNQYRA DIKEMGLSLQ WLYSARGDFF RATSRLTDF
661 GNAEKTDRE V MKKLNDRVME VEYHFLSPYV SPKESFFRHV FWGSGSHTLP ALLENLKL RK
721 QNNGAFNETL FRNQLALATW TIQGAANALS GDVWDIDNEF (서열 번호 18)

```

[0099]

[0100]

의 서열에 의해 암호화된다.

[0101]

일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 중앙 특이적 항원(TSA)이다. 일부 실시형태에서, 중앙 특이적 항원은 메소텔린(MSLN: mesothelin), CEA 세포 부착 분자 5(CEACAM5 또는 CEA), 표피 성장 인자 수용체(EGFR: epidermal growth factor receptor) 또는 이의 펩타이드 항원이다. 일부 실시형태에서, TSA는 MSLN, CEA, EGFR, 델타 유사 정규 노치 리간드 4(DLL4: delta like canonical Notch ligand 4), 뮤신 16, 세포 표면 연관(CA125로도 공지된 MUC 16), 강글리오사이드 GD2(GD2), 수용체 티로신 키나제 유사 고아 수용체 1(ROR1: receptor tyrosine kinase like orphan receptor 1), erb-b2 수용체 티로신 키나제 2(HER2/NEU) 또는 이의 펩타이드 항원이다. TSA를 표적화하는 예시적인 마우스 및 인간화된 ScFv 항원 결합 도메인은 하기 표 1에 기재되어 있다:

표 1

중양 특이적 항원(TSA)을 표적화하는 예시적인 ScFv 항원 결합 도메인

MSLN 결합 도메인	
<p><u>C-002357 MSLN_(M5):</u></p> <p>QVQLVQSGAEVEKFGASVKVSCASGYTFDYMHVWRQAPGQGLEWGMWIFNPSGGTNYAQKFQGRVTMTRDT STSTAYMELSRLSDDTAVYYCASGWDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMTQSP RVTITCRASQSIIRYLSWYQQKPKAPKLLIYTASILQNGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCLQT YTPDFGPGTKVEIK (서열 번호 86)</p>	<p>C-002357 MSLN_(M5) DNA 서열: 서열 번호 87</p>
<p><u>C-002358 MSLN_(M14):</u></p> <p>QVQLVQSGAEVRAPGASVKISCKASGFTFRGYIHWVWRQAPGQGLEWGMWIFNPSGGSRAYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMESSLRSDDTAMYYCARTASCGDCYLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMTQSP TLASVGDRTVITCRASENVNWLAWYQQKPKAPKLLIYKSSSLASGVPVSRFSGSGSAEFTLTISLQPD DFATYYCQYQSYPLTFGGGKVEIK (서열 번호 88)</p>	<p>C-002358 MSLN_(M14) DNA 서열: 서열 번호 89</p>
<p><u>C-002359 MSLN_(S5H):</u></p> <p>QVQLVQSGAEVKKFGASVKVSCASGYSTGYTMNWRQAPGQRLWMLITPYNGASSYQKFRGRVTITRDT SASTAYMELSSLSRSEDVAVYYCARGGYDGRGFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMTQSP SLSASVGDRTVITCSASSSVYMHYQQKPKAPKRLIYDTSKLSAGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYY CQWWSGYPLTFGGGKLEIK (서열 번호 90)</p>	<p>C-002359 MSLN_(S5H) DNA 서열: 서열 번호 91</p>
<p><u>C-002360 MSLN_(S5M):</u></p> <p>QVQLQQSGPELEKFGASVKISCKASGYSTGYTMNWKQSHGKLEWIGLITPYNGASSYQKFRGKATLTVDK SASTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMTQSP AIMSASPGEKVTITCSASSSVYMHYQQKSGTSPKRWIYDTSKLSAGVPSRFSGSGSGNSYSLTISSEAE DDATYYCQWWSGYPLTFGAGTKLEIK (서열 번호 92)</p>	<p>C-002360 MSLN_(S5M) DNA 서열: 서열 번호 93</p>
CEACAM5 결합 도메인	
<p><u>C-002361 CEACAM5_(MFE23M):</u></p> <p>QVQLQSGAELVRSGLTSVKLSCTASGFNIKDSYMHVWRQAPGQGLEWIGWIDPENGDEYAPKFQKATFTTDT SSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCNEGTPGPFYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGENVTQSP AIMSASPGEKVTITCSASSSVYMHWFQKPGTSPKRWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAE DAATYYCQQRSSYPLTFGAGTKLEIK (서열 번호 94)</p>	<p>C-002361 CEACAM5_(MFE23 M) DNA 서열: 서열 번호 95</p>
<p><u>C-002362 CEACAM5_(MFE23H):</u></p> <p>QVQLVQSGAEVKKFGASVKVSCASGFNIKDSYMHVWRQAPGQGLEWGMWIDPENGDEYAPKFQGRVTMTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNEGTPGPFYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGIIVLTQSP ATLSLSPGERATLSCSASSSVYMHYQQKPLAPRLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQRSSYPLTFGGGKLEIK (서열 번호 96)</p>	<p>C-002362 CEACAM5_(MFE23 H) DNA 서열: 서열 번호 97</p>

[0102]

<p>C-002363 CEACAM5_(E8):</p> <p>EVQLAESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKSNFLFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSSSELTQDPAVSVL GQTVRITCQGDSLRSSYASWYRQRPGQAPLVLIYGNKRRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYWN SSYAWLPYVWFGGKTLTVLG (서열 번호 98)</p>	<p>C-002363 CEACAM5_(E8) DNA 서열: 서열 번호 99</p>
<p>C-002364 CEACAM5_(SM3E):</p> <p>QVQLEQSGAGVVKPGASVKLSCKASGFNIKDSYMHWRQGPQGLEWIGWIDPENGDTYAPKFGKATFTTDT SANTAYLGLSSLRPEDTAVYYCNEGTPTGPIYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSENVLTQSPSSM SVSVGDRVNIACSSSSVPMHWLQKPKGKPKLLIYLTSLASGVPSPRFSGSGSDYSLTISVQPEDAATY YCQQRSSYPLTFGGGKLEIK (서열 번호 100)</p>	<p>C-002364 CEACAM5_(SM3E) DNA 서열: 서열 번호 101</p>
<p>CT618 CEA ScFv:</p> <p>QVQLVQSGSELKPKGASVKVSKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWIMGWINTKTGEATYVEEFKGRFVSLDT SVSTAYLQISLKAEDTAVYYCARWDFAYIYEAMDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSS LSASVGDRTVITCKASQNVGNVAWYQQKPKGAPKLLIYSASYRYSQVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFA TYCHQYYTYPLTFGGGKLEIK (서열 번호 282)</p>	<p>CT618 CEA ScFv DNA 서열: 서열 번호 283</p>
<p>CT619 CEA ScFv:</p> <p>QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWIMGWINTKTGEATYVEEFKGRVFTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYIYEAMDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSS LSASVGDRTVITCKASAAGTYVAWYQQKPKGAPKLLIYSASYRKRQVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFA TYCHQYYTYPLTFGGGKLEIK (서열 번호 284)</p>	<p>CT619 CEA ScFv DNA 서열: 서열 번호 285</p>
<p>CT620 CEA ScFv:</p> <p>QVQLVQSGSELKPKGASVKVSKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWIMGWINTKTGEATYVEEFKGRFVSLDT SVSTAYLQISLKAEDTAVYYCARWDFAHYFQTMIDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSS LSASVGDRTVITCKASAAGTYVAWYQQKPKGAPKLLIYSASYRKRQVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFA TYCHQYYTYPLTFGGGKLEIK (서열 번호 286)</p>	<p>CT620 CEA ScFv DNA 서열: 서열 번호 287</p>
<p><u>EGFR 결합 도메인</u></p>	
<p>CT-478 EGFR (VH-VL ScFv 형식):</p> <p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAWIWDDGSYKYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARDGITMVRGVMDKIDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGAIQLTQ SPSSLSASVGDRTVITCRASQDISSALVWYQQKPKGAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSESGDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNYSYPLTFGGGKVEIK (서열 번호 102)</p>	<p>CT-478 EGFR DNA 서열: 서열 번호 103</p>

[0103]

<p>CT-479 EGFR (VL-VH ScFv 형식):</p> <p>AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDISSALVWYQQKPKGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFRSGSESGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQFNYSYPLTFGGGKVEIKGGGGSGGGSGGGGGGGVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAA SGTFTSTYGMHWRQAPGKGLEWVAIWDGGSYKYVDSVKGGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DGITMVRGVMKDYFDYWGQGTLLTVSS (서열 번호 104)</p>	<p>CT-479 EGFR DNA 서열: 서열 번호 105</p>
<p>CT-480 EGFR (VH-VL ScFv 형식):</p> <p>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTEYPIHWVKQAPGKGFKWMGMITYDIGKPTYAEFPKGRFAFSLET SASTAYLQINNLKNEDTATYFCVDRDRYDSLFDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGGGGVDMVTQTPLSLPV SLGDQASISCRSSQSLVHNSGNTYLHWYKPKGQSPKLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED LGVYFCSQSTHVPWFVGGGKLEIK (서열 번호 106)</p>	<p>CT-480 EGFR DNA 서열: 서열 번호 107</p>
<p>CT-481 EGFR (VL-VH ScFv 형식):</p> <p>DVVMVTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHNSGNTYLHWYKPKGQSPKLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGT DFTLKI SRVEAEDLGVYFCSQSTHVPWFVGGGKLEIKGGGGSGGGSGGGGGGGQIQLVQSGPELKKPGETVK ISCKASGYTFTEYPIHWVKQAPGKGFKWMGMITYDIGKPTYAEFPKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTAT YFCVDRDRYDSLFDYWGQGTLLTVSS (서열 번호 108)</p>	<p>CT-481 EGFR DNA 서열: 서열 번호 109</p>
<p>CT-482 EGFR (VH-VL ScFv 형식):</p> <p>EMQLVESGGGFVKPGGSLKLSAASGFAFSHYDMSWVRQTPKQRLWVAYIASGGDITYADTVKGRFTISRDN AQNTLYLQMSLKSSEDAMFYCSRSSYGNNGDALDFWQGTSTVTVSSGGGGSGGGSGGGGGGGVDMVTQTPLS LPVSLGDQASISCRSSQSLVHNSGNTYLHWYKPKGQSPKLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYFCSQSTHVPWFVGGGKLEIK (서열 번호 110)</p>	<p>CT-482 EGFR DNA 서열: 서열 번호 111</p>
<p>CT-483 EGFR (VL-VH ScFv 형식):</p> <p>DVVMVTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHNSGNTYLHWYKPKGQSPKLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGT DFTLKI SRVEAEDLGVYFCSQSTHVPWFVGGGKLEIKGGGGSGGGSGGGGGGGEMQLVESGGGFVKPGGSLK SCAASGFAFSHYDMSWVRQTPKQRLWVAYIASGGDITYADTVKGRFTISRDNQNTLYLQMSLKSSEDAMF YCSRSSYGNNGDALDFWQGTSTVTVSS (서열 번호 112)</p>	<p>CT-483 EGFR DNA 서열: 서열 번호 113</p>
<p>CT-486 EGFR (VH-VL ScFv 형식):</p> <p>QVQLKQSGPGLVQPQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLVIVSGGNTDINTPFTSRLSINKDNS KSQVFFKMNLSQNDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSAGGGSGGGSGGGGGGGILLTQSFVILS VSPGERVFSFCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSRFSGGSGGTDFTLSINSVESEDIADY YCQQNNWPTTFGAGTKLELK (서열 번호 114)</p>	<p>CT-486 EGFR DNA 서열: 서열 번호 115</p>
<p>CT-487 EGFR (VH-VL ScFv 형식):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYFTFSHWVWRQAPGQGLEWIGEFNPSNGRTNYNEKFKSKATMTVDT STNTAYMELSSLRSEDATVYYCASRDYDGRYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGGGGDIQMTQSPSS LSASVGDRTITCSASSSVTYMYQQKPKGKAPKLLIYDTSNLAGVPSRFRSGSGSGTDTFTISSLQPEDIAT YYCQQWSSHIFTGQGTKEIK (서열 번호 116)</p>	<p>CT-487 EGFR DNA 서열: 서열 번호 117</p>

[0104]

<p>CT-488 EGFR (VH-VL ScFv 형식):</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSSVSGDYVWTVIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPKSRITISIDTSKTQFSLKLSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGGQTMVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGRDRTITTCQASQDINSYLNWYQQKPKGAPKLLIYDASNLETGVPVSRFSGSGSGTDFFTITSSLPEDIATYFCQHFHDLPLAFGGGKVEIK (서열 번호 118)</p>	<p>CT-488 EGFR DNA 서열: 서열 번호 119</p>
<p>CT-489 EGFR ScFv:</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSSVSGDYVWSVIRQPPGKGLEWIGHIYYSGSTDPNPKSRVTVMSVDTSKNQFSLKLVNVTAAATAVYYCARVSIKGGVTFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGIIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAIGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCHQVGSITPLTFGGGKAEIK (서열 번호 391)</p>	<p>ND</p>
<p>CD19 결합 도메인</p>	
<p>C-2096 CD19 ScFv:</p> <p>DIQMTQTSSLSASLGRDRTISCRASQDISKYLWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSSQLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLVGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNKSKSQVFLKMNLSLQTDITAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSTVTVSS (서열 번호 275)</p>	<p>C-2096 CD19 ScFv DNA 서열: 서열 번호 276</p>
<p>C-2815 CD19 ScFv:</p> <p>DIQMTQTSSLSASLGRDRTISCRASQDISKYLWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSSQLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLVGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNKSKSQVFLKMNLSLQTDITAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSTVTVSS (서열 번호 277)</p>	<p>C-2815 CD19 ScFv DNA 서열: 서열 번호 278</p>

[0105]

[0106]

일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 MSLN 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성인자 리간드 결합 도메인은 MSLN 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, MSLN 리간드 결합 도메인은 ScFv 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, MSLN 리간드 결합 도메인은 서열 번호 86, 서열 번호 88, 서열 번호 90 또는 서열 번호 92의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MSLN 리간드 결합 도메인은 서열 번호 86, 서열 번호 88, 서열 번호 90 또는 서열 번호 92와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MSLN 리간드 결합 도메인은 서열 번호 87, 서열 번호 89, 서열 번호 91 또는 서열 번호 93을 포함하는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, MSLN 리간드 결합 도메인은 서열 번호 87, 서열 번호 89, 서열 번호 91 또는 서열 번호 93의 서열과 적어도 80%의 동일성, 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된다.

[0107]

일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 CEA 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성인자 리간드 결합 도메인은 CEA 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA 리간드 결합 도메인은 ScFv 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA 리간드 결합 도메인은 서열 번호 94, 서열 번호 96, 서열 번호 98, 서열 번호 100, 서열 번호 282, 서열 번호 284 또는 서열 번호 286의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA 리간드 결합 도메인은 서열 번호 94, 서열 번호 96, 서열 번호 98, 서열 번호 100, 서열 번호 282, 서열 번호 284 또는 서열 번호 286과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA 리간드 결합 도메인은 서열 번호 95, 서열 번호 97, 서열 번호 99, 서열 번호 101, 서열 번호 283, 서열 번호 285 또는 서열 번호 287을 포함하는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, CEA 리간드 결합 도메인은 서열 번호 95, 서열 번호 97, 서열 번호 99, 서열 번호 101, 서열 번호 283, 서열 번호 285 또는 서열 번호 287의 서열과 적어도 80%의 동일성, 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된다.

[0108]

일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 CEA 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성인자 리간드 결합 도메인은 CEA 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA 리간드 결합 도메인은 EFGMN(서열 번호 294)의 CDR-H1, WINTKTGEATYVEEFKG(서열 번호 295)의 CDR-H2, WDFAYYVEAMDY(서열 번호 296) 또는 WDFAHYFQTM DY(서열 번호 297)의 CDR-H3, KASQNVGTNVA(서열 번호 298) 또는 KASAAVGTYYVA(서열 번호 299)의 CDR-L1, SASYRYS(서열 번호 300) 또는 SASYRKR(서열 번호 301)의 CDR-L2 및 HQYYTYPLFT(서열 번호 302)의 CDR-L3 또는 이것과 적어도 85% 또는 적어도 95%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA ScFv는 EFGMN(서열 번호 294)의 CDR-H1, WINTKTGEATYVEEFKG(서열 번호 295)의 CDR-H2, WDFAYYVEAMDY(서열 번호 296) 또는 WDFAHYFQTM DY(서열

번호 297)의 CDR-H3, KASQNVGTNVA(서열 번호 298) 또는 KASAAVGTYYVA(서열 번호 299)의 CDR-L1, SASYRYS(서열 번호 300) 또는 SASYRKR(서열 번호 301)의 CDR-L2 및 HQYYTYPLFT(서열 번호 302)의 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA 결합 도메인은 EFGMN(서열 번호 294)의 CDR-H1, WINTKTGEATYVEEFKG(서열 번호 295)의 CDR-H2, WDFAYYVEAMDY(서열 번호 296)의 CDR-H3, KASQNVGTNVA(서열 번호 298)의 CDR-L1, SASYRYS(서열 번호 300)의 CDR-L2 및 HQYYTYPLFT(서열 번호 302)의 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA ScFv는 EFGMN(서열 번호 294)의 CDR-H1, WINTKTGEATYVEEFKG(서열 번호 295)의 CDR-H2, WDFAYYVEAMDY(서열 번호 296)의 CDR-H3, KASAAVGTYYVA(서열 번호 299)의 CDR-L1, SASYRKR의 CDR-L2 및 HQYYTYPLFT(서열 번호 302)의 CDR-L3을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA 결합 도메인은 EFGMN(서열 번호 294)의 CDR-H1, WINTKTGEATYVEEFKG(서열 번호 295)의 CDR-H2, WDFAHYFQTM DY(서열 번호 297)의 CDR-H3, KASAAVGTYYVA(서열 번호 299)의 CDR-L1, SASYRKR의 CDR-L2 및 HQYYTYPLFT(서열 번호 302)의 CDR-L3을 포함한다.

[0109] 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 CEA 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성인자 수용체는 CEA CAR이다. 일부 실시형태에서, CEA CAR은 서열 번호 288, 서열 번호 290 또는 서열 번호 292와 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CEA CAR은 서열 번호 288, 서열 번호 290 또는 서열 번호 292를 포함하거나 이들로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CEA CAR은 서열 번호 289, 서열 번호 291 또는 서열 번호 293을 포함하거나 이들로 본질적으로 이루어진 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, CEA CAR은 서열 번호 289, 서열 번호 291 또는 서열 번호 293과 적어도 80%의 동일성, 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된다.

[0110] 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 EGFR 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성인자 리간드 결합 도메인은 EGFR 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 ScFv 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 102, 서열 번호 104, 서열 번호 106, 서열 번호 108, 서열 번호 110, 서열 번호 112, 서열 번호 114, 서열 번호 116, 서열 번호 118 또는 서열 번호 391의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 102, 서열 번호 104, 서열 번호 106, 서열 번호 108, 서열 번호 110, 서열 번호 112, 서열 번호 114, 서열 번호 116, 서열 번호 118 또는 서열 번호 391과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 103, 서열 번호 104, 서열 번호 107, 서열 번호 109, 서열 번호 111, 서열 번호 113, 서열 번호 115, 서열 번호 117 또는 서열 번호 119를 포함하는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 103, 서열 번호 104, 서열 번호 107, 서열 번호 109, 서열 번호 111, 서열 번호 113, 서열 번호 115, 서열 번호 117 또는 서열 번호 119의 서열과 적어도 80%의 동일성, 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된다.

[0111] 일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 EGFR 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성인자 리간드 결합 도메인은 EGFR 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 결합 도메인은 표 2에 개시된 균으로부터 선택된 VH 및/또는 VL 도메인, 또는 이것과 적어도 90%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 120, 서열 번호 122, 서열 번호 124, 서열 번호 126, 서열 번호 128 및 서열 번호 130으로 이루어진 균으로부터 선택된 VH 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 120, 서열 번호 122, 서열 번호 124, 서열 번호 126, 서열 번호 128 및 서열 번호 130 또는 이들과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열로 이루어진 균으로부터 선택된 VH를 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 121, 서열 번호 123, 서열 번호 125, 서열 번호 127, 서열 번호 129 및 서열 번호 131로 이루어진 균으로부터 선택된 VL 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 121, 서열 번호 123, 서열 번호 125, 서열 번호 127, 서열 번호 129 및 서열 번호 131 또는 이들과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열로 이루어진 균으로부터 선택된 VH를 포함한다.

표 2

EGFR 가변 중(VH) 도메인 및 가변 경(VL) 도메인

EGFR VH	EGFR VL
<p><u>CT478, CT479:</u></p> <p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEW VAVIWDGDSYKYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGITMVRGMKDYFDYWGQGLVTVSS (서열 번호 120)</p>	<p><u>CT478, CT479:</u></p> <p>AIQLTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDISSALVWYQQKPGK APKLLIYDASSLESVPSRFSGSESGTDFTLTISSLQPEDFA TYCQQFNQSYPLTFGGGKVEIK (서열 번호 121)</p>
<p><u>CT480, CT481:</u></p> <p>QIQLVQSGPELKKFGETVKISCKASGYTFTEYPIHWVKQAPGKGFKW MGMIYTDIGKPTYAEFFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATY FCVRDRYDSLFDYWGQGLVTVSS (서열 번호 122)</p>	<p><u>CT480, CT481:</u></p> <p>DVVMQTQPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSGNTYLHWYL QKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYFCSQSTHVPWFVGGGKLEIK (서열 번호 123)</p>
<p><u>CT482, CT483:</u></p> <p>EMQLVESGGGVFKPGGSLKLSAASGFAFSDYMSWVRQTPKQRLW VAYIASGGDITYYADTVKGRFTISRDNQNTLYLQMSLSKSEDTAMF YCSRSSYGNNGDALDFWQGTSTVTVSS (서열 번호 124)</p>	<p><u>CT482, CT483:</u></p> <p>DVVMQTQPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSGNTYLHWYL QKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYFCSQSTHVPWFVGGGKLEIK (서열 번호 125)</p>
<p><u>CT486:</u></p> <p>QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEW LGVIVSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKQVFFKMNLSQSDTAIYY CARALTYDYEFAYWGQGLVTVSA (서열 번호 126)</p>	<p><u>CT486:</u></p> <p>DILLTQSPVILSVSPGERVVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNG SPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLISINSEVEDIA DYCQQNNWPTTFGAGTKLELK (서열 번호 127)</p>
<p><u>CT487:</u></p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSHMHWVRQAPGQGLEW IGEFNPNNGRNTNYNEKFKSKATMTVDSTNTAYMELSSLRSEDTAVY YCASRDYDYDGRYFDYWGQGLVTVSS (서열 번호 128)</p>	<p><u>CT487:</u></p> <p>DIQMTQSPSSLASVGDRTVITCSASSVTYMYWYQQKPGKA PKLLIYDTSNLAGVPSRFSGSGSGTDYFTISSLQPEDIA TYCQQWSSHIFTFGGKVEIK (서열 번호 129)</p>
<p><u>CT488:</u></p> <p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGDYWTWIRQSPGKGL EWIGHIYYSGNTNYPNLSKRLTISIDTSKTFSLKLSVTAADTAI YYCVRDRVTGAFDIWGQGMVTVSS (서열 번호 130)</p>	<p><u>CT488:</u></p> <p>DIQMTQSPSSLASVGDRTVITCQASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFISSLQPEDIA TYCQHFHDLPLAFGGGKVEIK (서열 번호 131)</p>

[0112]

[0113]

일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 EGFR 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성인자 리간드 결합 도메인은 EGFR 리간드 결합 도메인이다. 일부 실시형태에서, EGFR 결합 도메인은 표 3에 개시된 CDR의 군으로부터 선택된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 표 3에 개시된 CDR과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 131 내지 서열 번호 166으로부터 선택된 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 132 내지 서열 번호 137로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 CDR 1(CDR H1)을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 138 내지 서열 번호 143으로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 CDR 2(CDR H2)를 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 144 내지 서열 번호 149로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 CDR 3(CDR H3)을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 150 내지 서열 번호 155로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 CDR 1(CDR L1)을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 156 내지 서열 번호 160으로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 CDR 2(CDR L2)를 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번호 161 내지 서열 번호 166으로 이루어진 군으로부터 선택된 경쇄 CDR 3(CDR L3)을 포함한다. 일부 실시형태에서, EGFR 리간드 결합 도메인은 서열 번

호 132 내지 서열 번호 137로부터 선택된 CDR H1, 서열 번호 138 내지 서열 번호 143으로부터 선택된 CDR H2, 서열 번호 144 내지 서열 번호 149로부터 선택된 CDR H3, 서열 번호 150 내지 서열 번호 155로부터 선택된 CDR L1, 서열 번호 156 내지 서열 번호 160으로부터 선택된 CDR L2 및 서열 번호 156 내지 서열 번호 160으로부터 선택된 CDR L3을 포함한다.

표 3

EGFR 항원 결합 도메인 CDR.

CDR H1	CDR H2	CDR H3	CDR L1	CDR L2	CDR L3
TYGMH (서열 번호 132)	VIWDDGSYKYYGD SVKG (서열 번호 138)	DGITMVRGVMKDY FDY (서열 번호 144)	RASQDISSALV (서열 번호 150)	DASSLES (서열 번호 156)	QQFNSYPLT (서열 번호 161)
EYPIH (서열 번호 133)	MIYTDIGKPTYAE EFKG (서열 번호 139)	DRYDSLFDY (서열 번호 145)	RSSQSLVHSNGNT YLH (서열 번호 151)	KVSNRFS (서열 번호 157)	SQSTHVPWT (서열 번호 162)
HYDMS (서열 번호 134)	YIASGGDITYYAD TVKG (서열 번호 140)	SSYGNGDALDF (서열 번호 146)	RSSQSLVHSNGNT YLH (서열 번호 152)	KVSNRFS (서열 번호 157)	SQSTHVLV (서열 번호 163)
NYGVH (서열 번호 135)	VIWGGNTDYNTP FTS (서열 번호 141)	ALTYDYEFAY (서열 번호 147)	RASQSIGTNIH (서열 번호 153)	YASESIS (서열 번호 158)	QQNNWPTT (서열 번호 164)
SHWMH (서열 번호 136)	EFNPSNGRTNYNE KFKS (서열 번호 142)	RDYDYGGRYFDY (서열 번호 148)	SASSSVTYMY (서열 번호 154)	DTSNLAS (서열 번호 159)	QWSSSHIFT (서열 번호 165)
SGDYIWT (서열 번호 137)	HIYYSGNTNYNPS LKS (서열 번호 143)	DRVTGAFDI (서열 번호 149)	QASQDISNYLN (서열 번호 155)	DASNLET (서열 번호 160)	QHFDHLPLA (서열 번호 166)

[0114]

[0115]

일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 pan-HLA 리간드이고, 활성인자 결합 도메인은 pan-HLA 결합 도메인, 즉 HLA A, HLA B 및 HLA C 유전자좌의 산물 중에서 공유된 항원 결정인자에 결합하고 이를 인식하는 결합 도메인이다. 당해 분야에 공지되거나 본원에 개시된 다양한 단일 가변 도메인은 실시형태에 사용하기에 적합하다. 이러한 scFv는 예를 들어 제한 없이 하기 마우스 및 인간화된 pan-HLA scFv 항체를 포함한다. 예시적인 pan-HLA 리간드는 HLA 클래스 I 알파3 및 알파2 도메인과 반응하는 구성적 에피토프를 인식하는 W6/32이다.

표 4

W6/32로부터 유래된 pan-HLA ScFv 결합 도메인

단백질 서열	폴리뉴클레오타이드 서열
C-002170 W632 scFv (마우스): QVQLKQSGPGLVQPQSLSLTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGKLEWLGVIWGGSTDYNAAFISRLSIRK DNSKSNQVFFKMNSLQADDTAIYYCARTFTTSTSAWFAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGSSIVMT QTPKFLLVASGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPICLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTDFFTI STVQAEDLAVYFCQDYSSPPWTFGGGKLEIR (서열 번호 167)	C-002170 W632 scFv (마우스) 서열 번호 168
C-002171 W632.1 scFv (인간화됨): QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWIRQPPGKLEWIGVIWGGSTDYNAAFISRVTISV DTSKNQFSLKLSVTAADTAAYYCARTFTTSTSAWFAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMT QSPSSLASVSGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQPKLLIYYASNRYTGVPDRFSGSGGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCQDYSSPPWTFGGGKVEIK (서열 번호 169)	C-002171 W632.1 scFv (인간화됨) 서열 번호 170
C-002172 W632.2 scFv (인간화됨): EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFSLTSYGVHWIRQPPGKLEWVSVIWSGGSTDYNAAFISRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAAYYCARTFTTSTSAWFAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMT QSPSSLASVSGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQPKLLIYYASNRYTGVPDRFSGSGGTDFTLTIS SLQPEDIAVYYCQDYSSPPWTFGGGKVEIK (서열 번호 171)	C-002172 W632.2 scFv (인간화됨) 서열 번호 172
C-002173 W632.3 scFv (인간화됨): QVQLQESGPGLVKPSSEITLSTCTVSGFSLTSYGVHWIRQPPGKLEWIGVIWGGSTDYNAAFISRVTISR DTSKNQFSLKLSVTAADTAAYYCARTFTTSTSAWFAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMT QSPSSLASVSGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQPKLLIYYASNRYTGVPDRFSGSGGTDFTLTIS RVEAEDVGVYYCQDYSSPPWTFGGGKVEIK (서열 번호 173)	C-002173 W632.3 scFv (인간화됨) 서열 번호 174
C-002174 W632.5 scFv (인간화됨): QVQLVESGGGVVQPGRSLRSLCAVSGFSLTSYGMHWIRQPPGKLEWVAVIWSGGSTDYNAAFISRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAAYYCAKFTTSTSAWFAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGDIQMT QSPSSLASVSGDRVTITCKASQSVSNDLAWYQQKPGQAPRLLIYYASNRYTGVPDRFSGSGGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQDYSSPPWTFGGGKVEIK (서열 번호 175)	C-002174 W632.5 scFv (인간화됨) 서열 번호 176
C-002175 W632.6 scFv (인간화됨): QVQLVESGGGVVQPGRSLRSLCAVSGFSLTSYGMHWIRQPPGKLEWVAVIWSGGSTDYNAAFISRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAAYYCARTFTTSTSAWFAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMT QSPSSLASVSGDRVTITCKASQSVSNDLAWYQQKPGQPKLLIYYASNRYTGVPDRFSGSGGTDFTLTIS SLQPEDIAVYYCQDYSSPPWTFGGGKVEIK (서열 번호 177)	C-002175 W632.6 scFv (인간화됨) 서열 번호 178

[0116]

[0117]

일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 pan-HLA 리간드이고, 활성인자 리간드 결합 도메인은 pan-HLA 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, pan-HLA 리간드 결합 도메인은 ScFv 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, pan-HLA 리간드 결합 도메인은 서열 번호 167, 서열 번호 169, 서열 번호 171, 서열 번호 173, 서열 번호 175 또는 서열 번호 177의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, pan-HLA 리간드 결합 도메인은 서열 번호 167, 서열 번호 169, 서열 번호 171, 서열 번호 173, 서열 번호 175 또는 서열 번호 177과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, pan-HLA 리간드 결합 도메인은 서열 번호 168, 서열 번호 170, 서열 번호 172, 서열 번호 174, 서열 번호 176 또는 서열 번호 178을 포함하는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, pan-HLA 리간드 결합 도메인은 서열 번호 168, 서열 번호 170, 서열 번호 172, 서열 번호 174, 서열 번호 176 또는 서열 번호 178의 서열과 적어도 80%의 동일성, 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된다.

[0118]

일부 실시형태에서, 활성인자 리간드는 CD19 분자(CD19) 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성인자 리간드 결합

도메인은 CD19 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD19 리간드 결합 도메인은 ScFv 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD19 리간드 결합 도메인은 서열 번호 275 또는 서열 번호 277과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD-19 리간드 결합 도메인은 서열 번호 275 또는 서열 번호 277의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD19 리간드 결합 도메인은 서열 번호 276 또는 서열 번호 278을 포함하는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, CD19 리간드 결합 도메인은 서열 번호 276 또는 서열 번호 278의 서열과 적어도 80%의 동일성, 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된다.

[0119]

일부 실시형태에서, 활성화자 리간드는 CD19 분자(CD19) 또는 이의 펩타이드 항원이고, 활성화자 수용체는 CAR이다. 일부 실시형태에서, CD19 CAR은 서열 번호 279 또는 서열 번호 281과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD19 CAR은 서열 번호 279 또는 서열 번호 281을 포함하거나 이들로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD19 CAR은 서열 번호 280 또는 서열 번호 390의 서열과 적어도 80%의 동일성, 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, CD19 CAR은 서열 번호 280 또는 서열 번호 390을 포함하거나 이들로 본질적으로 이루어진 서열에 의해 암호화된다. 제1 수용체에 대한 제1의, 활성화자 리간드 결합 도메인이 비제한적인 예로서 분야 인정된 T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체 및 항체 결합 도메인을 포함하는 당해 분야에 공지된 임의의 원천으로부터 단리되거나 유래될 수 있다는 것이 당업자에 의해 이해될 것이다. 예를 들어, 제1 리간드 결합 도메인은 표 5에 개시된 임의의 항체로부터 유래되고, 표 5에 기재된 항원으로부터 선택된 제1 리간드에 결합할 수 있다. 따라서, 기재된 2개의 수용체 시스템을 포함하는 면역 세포는 표 5에 기재된 임의의 질환 또는 장애를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 본원에 기재된 임의의 암을 치료하기 위한 적절한 제1의, 활성화자 수용체 리간드 결합 도메인의 선택은 당업자에게 자명할 것이다.

표 5

예시적인 항체

항원	항체	예시적인 질환 및 장애
TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 9 (4-1BB, CD137)	우렐루맙, 우토밀루맙	암, 미만성 거대 B-세포 림프종
5'-뉴클레오타다제	올레클루맙	폐장암 및 결장직암
세포영양막 당단백질 (5T4)	납투모맙	비소세포 폐 암종, 신장 세포 암종
액티빈 수용체 유사 키나제 1	아스크리나루맙	암
알파-태아단백질	타카투주맙	암
안지오프이에틴 2	네스바쿠맙, 바누시주맙	암
TNF 슈퍼패밀리 구성원 13b (BAFF)	벨리루맙, 타발루맙, 티블리주맙	암 및 자가면역 장애
TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 17 (BCMA)	벨란타맙	다발성 골수종
류신 16, 세포 표면 연관된 (CA-125)	이그보맙, 오레고보맙, 소퍼투주맙	난소암
C-C 모티프 케모카인 수용체 4 (CCR4)	모가플리주맙	성체 T 세포 백혈병/림프종
인터루킨 3 수용체 아단위 알파 (CD123)	탈라코투주맙	백혈병
TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 4 (CD134)	타블리맙, 본레플리주맙	암
세포독성 T 림프구 연관 단백질 4 (CD152)	이필리루맙	흑색종
CD19 분자 (CD19)	두보트록시맙, 블리나투모맙, 콜록시맙, 레닌투주맙, 이네빌리주맙, 론카스톡시맙, 타플리투모맙	암
막 스페닝 4-도메인 A1 (CD20)	이브리투모맙, 오비누투주맙, 오키라투주맙, 오크렐리주맙, 오파투무맙, 리톡시맙, 토시투모맙, 벨투주맙	암, 다발성 경화증, 자가면역 장애

[0120]

CD200 분자 (CD200)	사말리주맵	암
CD22 분자 (CD22)	벡투모맵, 에프라투주맵, 이노투주맵, 목세투모맵, 피나투주맵	암
IgE 수용체 II 의 Fc 단편 (CD23, IgE 수용체)	고밀리시맵, 부밀리시맵	만성 림프구성 백혈병
인터류킨 2 수용체 아단위 알파 (CD25)	카미단투맵, 바실리시맵, 이노리모맵, 다클리주맵	백혈병 및 림프종
CD27 분자 (CD27)	바블리투맵	고형 종양 및 혈액학적 악성종양
CD276 분자 (CD276)	에노블리투주맵, 움부르타맵	암
TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 8 (CD30, TNFRSF8)	브렌독시맵, 이라투무맵	호지킨 림프종
CD33 분자 (CD33)	겜투주맵, 린투주맵, 바다스톡시맵	급성 골수성 백혈병
CD37 분자 (CD37)	릴로토맵, 오틀레투주맵, 테블로맵	암
CD38 분자 (CD38)	다라투무맵, 이사톡시맵	다발성 골수종
CD44 분자 v6 (CD44 v6)	비바투주맵	편평 세포 암종
인테그린 아단위 알파 V (CD51)	아비투주맵, 인테투무맵	암
신경 세포 부착 분자 1 (CD56)	로보투주맵	암
CD6 분자 (CD6)	이톨리주맵	건선
CD70 분자 (CD70)	쿠사투주맵, 보르세투주맵	암
CD74 분자 (CD74)	밀라투주맵	혈액학적 악성종양
CD79B 분자 (CD79B)	폴라투주맵, 일라다투주맵	혈액학적 암
CD80 분자 (CD80)	갈릭시맵	B 세포 림프종
CEA 세포 부착 분자 5 (CEA)	알투모맵, 아트시투노맵, 라베투주맵, 시비사타맵	암, 결장직장암
클라우딘 18 이소폼 2	졸베톡시맵	위암

[0121]

콜로니 자극 인자 1 (CSF1)	라크노투주맙	암
콜로니 자극 인자 1 수용체(CSF1R)	카비말리주맙, 에락투주맙	암
콜로니 자극 인자 2 (CSF2)	김실루맙, 렌길루맙, 오닐리맙, 마브릴리루맙	백혈병
세포독성 T 림프구 연관 단백질 4 (CTLA-4)	트레멜리루맙	비소세포 폐암, 두경부암, 요로상피암
CXCR4 (CD184)	울로쿠플루맙	혈액학적 악성종양
수지상 세포 연관 렉틴 2	테포디타맙	암
델타 유사 정규 노치 리간드 3 (DLL3)	로발피투주맙	소세포 폐암
델타 유사 정규 노치 리간드 4 (DLL4)	델시주맙	암
TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 10b (DR5)	드로지투맙	암
EGF 유사 도메인 멀티트 7 (EGFL7)	파르사투주맙	암
표피 성장 인자 수용체(EGFR)	세특시맙, 데파톡시주맙, 푸톡시맙, 일가투주맙, 라프리톡시맙, 마투주맙, 네시투무맙, 니모투주맙, 파니투무맙, 갈루투무맙, 모도톡시맙, 아미반타맙, 트무조톡시맙, 로사톡시주맙	암
상피 세포 부착 분자 (EpcAM)	아데카투무맙, 시타투주맙, 에드레콜로맙, 오포르투주맙, 솔리트맙, 투코투주맙, 카투막소맙	암
EPH 수용체 A3 (EPHA3)	이파보투주맙	다형성 신경교아종
erb-b2 수용체 티로신 키나제 3 (ERBB3, HER3)	돌리고투주맙, 엘겔투맙, 퓌레투주맙, 파트리투맙, 세리반투맙, 제노쿠투주맙	암
섬유아세포 성장 인자 수용체(FGFR2)	아프루투맙, 베마리투주맙	암
프리즐드 수용체	반티크투맙	암

[0122]

GD2 강글리오사이드	디뉴룩시맙	신경아세포종
GD3 강글리오사이드	에크로렉시맙	악성 흑색종
GD3 강글리오사이드	미투모맙	소세포 폐 암종
글리피칸 3	코드리투주맙	암
당단백질 nmb (GPNMB)	글렘바투무맙	흑색종, 유방암
표피 성장 인자 수용체 (HER1)	자룩시맙	암
erb-b2 수용체 티로신 키나제 2 (HER2)	에르투막소맙, 마르게룩시맙, 티미구투주맙, 강코타맙, 페르투주맙, 트라스투주맙	암, 유방암
간세포 성장 인자 (HGF)	피클라투주맙, 릴로투무맙	암
MET 프로토-종양유전자, 수용체 티로신 키나제 (HGFR)	렐리소투주맙, 에미베투주맙	암
IGF-1 수용체 (CD221)	시수투무맙, 달로투주맙, 피기투무맙, 가니투맙, 로바투무맙, 테르포투무맙	암
인터류킨 3 수용체	플로테투주맙	혈액학적 악성종양
인터류킨 1 알파 (IL1A)	베트네키맙	결장직장암
인터류킨 2 (IL2)	세르구투주맙	암
인테그린 $\alpha 5\beta 1$	볼록식시맙	고형 종양
인테그린 $\alpha v\beta 3$	에타라시주맙	흑색종, 전립선암, 난소암
림프구 활성화 3 (LAG3)	렐라틀리맙	흑색종
C-C 모터프 케모카인 리간드 2 (MCP-1)	갈루맙	암
메소텔린	아마룩시맙	암
뮤신 1	클리바투주맙, 가티포투주맙, 팜투모맙, 칸투주맙, 판코맙	암
NGNA 강글리오사이드	라코투모맙	비소세포 폐암

[0123]

노치 1	브론티크투주맵	암
노치 수용체	타렉스투맵	암
뉴로펩틴 1 (NRP1)	베센쿠맵	암
예정 세포사 1 (PD-1)	캄렐리주맵, 세트렐리맵, 니블루맵, 펠브롤리주맵, 피딜리주맵, 세미플리맵, 스파르탈리주맵	암
CD274 분자 (PD-L1)	아테졸리주맵, 아벨루맵, 더발루맵	암
수용체 티로신 키나제 유사 고아 수용체 1 (ROR1)	섬투주맵	백혈병
테나신 C	테나투모맵	암
전환 성장 인자 베타 1 (TGF-β)	프레솔리무맵	암
VEGF-A	브롤루시주맵, 베바시주맵, 라니비주맵, 바리사쿠맵, 프라시맵	암
VEGFR-1	이크루루맵	암
VEGFR2	알라시주맵, 라무시루맵	암

[0124]

[0125] **억제제**

[0126] 본 개시내용은 제2 리간드, 억제제, 및 억제제 리간드에 결합하는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 조작된 수용체를 제공한다.

[0127] 본 개시내용은 세포의 영역을 포함하는 제2 조작된 수용체를 제공하고, 세포의 영역은 제1 수용체 및 제2 수용체를 발현하는 효과기 세포의 활성화를 억제하는 제2 리간드에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 리간드 결합 도메인을 포함하고, 효과기 세포는 제1 조작된 수용체에 대한 제1 리간드의 결합에 의해 활성화된다.

[0128] 본원에 사용된 것과 같이 "차단제"라고 때때로 칭하는 "억제제" 또는 "억제제 리간드"는 본 개시내용의 조작된 수용체의 제2의, 리간드 결합 도메인(억제제 LBD)에 결합하지만, 조작된 수용체를 발현하는 면역 세포의 활성화를 억제하는 제2 리간드를 지칭한다. 억제제는 표적 세포에 의해 발현되지 않는다. 억제제 리간드는 활성인자 리간드를 발현하는 정상인 비표적 세포를 포함하는 복수의 정상인 비표적 세포에서 또한 발현되어서 임상 세포 치료의 세포독성 효과로부터 이 세포를 보호한다. 이론에 의해 구속되고자 바라지 않으면서, 억제제 리간드는 다양한 기전을 통해 효과기 세포의 활성화를 차단할 수 있다. 예를 들어, 억제제 LBD에 대한 억제제 리간드의 결합은 억제제의 부재 하에 본원에 기재된 조작된 수용체를 발현하는 면역 세포의 활성화로 이어지는 활성인자 LBD에 대한 활성인자 리간드의 결합 시 발생하는 신호의 전송을 차단할 수 있다.

[0129] 대안적으로 또는 게다가, 제2 조작된 수용체에 대한 억제제 리간드의 결합은 본원에 기재된 2개의 수용체 시스템을 포함하는 면역 세포의 표면으로부터 제1의, 활성인자 수용체의 세포 표면 발현의 소실을 야기할 수 있다. 이론에 의해 구속되고자 바라지 않으면서, 정상 세포에 대한 활성인자 및 억제제 리간드의 면역 세포 관여가 억제제 수용체가 면역 세포 표면으로부터 근처의 활성인자 수용체 분자를 제거하게 하도록 야기한다고 생각된다. 이 과정은 면역 세포를 국소로 탈감작시켜서, 이의 활성화 한계치를 가역적으로 상승시킨다. 표적 세포에서 오직 활성인자 리간드를 관여시키는 면역 세포는 제2의, 억제 수용체로부터의 신호에 의해 방해받지 않는 국소 활성화 신호를 야기한다. 이 국소 활성화는 세포독성 과립의 방출이 표적 세포 선택적 세포사로 이어질 때까지 증가한다. 그러나, 표면 수용체 발현 수준의 조절은 차단제 수용체가 제1 활성인자 수용체에 의해 면역 세포의 활성화를 억제하는 유일한 기전이 아닐 수 있다. 이론에 의해 구속되고자 바라지 않으면서, 비제한적인 예로서 활성인자와 차단제 수용체 신호전달 경로 사이의 혼선을 포함하는 다른 기전이 작동할 수 있다.

[0130] 일부 실시형태에서, 제2 리간드는 표적 세포에 의해 발현되지 않고, 비표적 세포에 의해 발현된다. 일부 실시형태에서, 표적 세포는 암 세포이고, 비표적 세포는 비암성 세포이다.

[0131] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드 결합 도메인은 ScFv 도메인을 포함한다.

- [0132] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드 결합 도메인은 V β 단독 리간드 결합 도메인을 포함한다.
- [0133] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드 결합 도메인은 T 세포 수용체(TCR)로부터 단리되거나 유래된 항원 결합 도메인을 포함한다. 예를 들어, 제2의, 억제제 리간드 결합 도메인은 TCR α 및 β 사슬 가변 도메인을 포함한다.
- [0134] 억제제 표적
- [0135] 일부 실시형태에서, 억제제 리간드는 조직에 걸친 높은 균질한 표면 발현을 갖는 유전자 또는 이의 펩타이드 항원을 포함한다. 이론에 의해 구속되고자 바라지 않으면서, 조직에 걸친 높은 균질한 표면 발현은 억제제 리간드가 큰 고른 억제 신호를 전달하게 한다. 대안적으로 또는 게다가, 활성화인자 및 억제제 표적의 발현은 상관될 수 있고, 즉 2개는 비표적 세포에서 유사한 수준으로 발현된다.
- [0136] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 펩타이드 리간드이다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 주요 조직적합성(MHC) 클래스 I 복합체(펩타이드 MHC 또는 pMHC)와 복합체화된 펩타이드 항원이다. 임의의 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C를 포함하는 pMHC와 복합체화된 펩타이드 항원을 포함하는 억제제 리간드는 본 개시내용의 범위 내로서 고안된다.
- [0137] 일부 실시형태에서, 억제제 리간드는 항원에서 부재하거나 다형성인 유전자에 의해 암호화된다.
- [0138] 표적 세포와 비표적 세포 사이의 억제제 리간드의 차등 발현을 구별하는 방법은 당업자에게 용이하게 자명할 것이다. 예를 들어, 비표적 세포 및 표적 세포에서의 억제제 리간드의 존재 또는 부재는 억제제 리간드에 결합하는 항체에 의한 면역조직화학에 의해 분석될 수 있고, 이후에 억제제 리간드의 게놈 유전자좌가 표적 세포 또는 비표적 세포에서 돌연변이를 포함하는지를 결정하기 위해 현미경검사 또는 FACS, 표적 세포 및 비표적 세포의 RNA 발현 프로파일링, 또는 비표적 세포 및 표적 세포의 DNA 시퀀싱이 이어진다.
- [0139] 이형접합성 소실(LOH)로 인해 소실된 대립유전자
- [0140] 1차 종양에서의 동형접합성 결실은 희귀하고 작고, 따라서 표적 B 후보를 생성하지 않을 것이다. 예를 들어, 21개의 인간 암 유형에 걸친 2218개의 1차 종양의 분석에서, 상위 4개의 후보는 사이클린 의존적 키나제 억제제 2A(CDKN2A), RB 전사 동시억제인자 1(RB1), 포스파타제 및 텐신 동족체(PTEN) 및 N3PB2였다. 그러나, CDKN2A(P16)는 모든 암에 걸쳐 불과 5% 동형접합성 결실로 결실되었다. 동형접합성 HLA-A 결실은 암의 0.2% 미만에서 발견되었다(Cheng 등, Nature Comm. 8:1221 (2017)). 이와 반대로, 반접합성 소실로 인한 암 세포에서의 유전자의 단일 카피의 결실은 훨씬 더 흔히 발생한다.
- [0141] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 이형접합성 소실로 인해 표적 세포에서 소실된 유전자의 대립유전자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 표적 세포는 암 세포를 포함한다. 암 세포는 중복 및 결실을 포함하는 빈번한 게놈 재배열을 겪는다. 이 결실은 암 세포에서의 하나 이상의 유전자의 하나의 카피의 결실로 이어질 수 있다.
- [0142] 본원에 사용된 것과 같이, "이형접합성 소실(LOH)"은 암에서 높은 빈도로 발생하는 유전 변화를 지칭하고, 이에 의해 2개의 대립유전자 중 하나가 결실되어서, 단일의 모노-대립유전자(반접합성) 유전자좌를 남긴다.
- [0143] HLA 클래스 I 대립유전자
- [0144] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 HLA 클래스 I 대립유전자를 포함한다. 주요 조직적합 복합체(MHC) 클래스 I은 면역계의 세포에 항원을 디스플레이하여 면역 반응을 촉발하는 단백질 복합체이다. MHC 클래스 I에 상응하는 인간 백혈구 항원(HLA)은 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C이다.
- [0145] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 HLA 클래스 I 대립유전자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 LOH를 통해 표적 세포에서 소실된 HLA 클래스 I의 대립유전자를 포함한다. HLA-A는 HLA-A 유전자좌에 의해 암호화된 주요 조직적합 복합체(MHC)의 인간 백혈구 항원(HLA)의 그룹이다. HLA-A는 인간 MHC 클래스 I 세포 표면 수용체의 3개의 주요 유형 중 하나이다. 수용체는 중 α 사슬 및 더 작은 β 사슬을 포함하는 이종이합체이다. α 사슬은 HLA-A의 변이체에 의해 암호화되지만, β 사슬(β 2-마이크로글로불린)은 비변이체이다. 수천개의 HLA-A 변이체가 있고, 이들 모두는 본 개시내용의 범위 내에 해당한다.
- [0146] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 HLA-B 대립유전자를 포함한다. HLA-B 유전자는 많은 가능한 변이(대립유전자)를 갖는다. HLA-B 유전자의 백개의 버전(대립유전자)이 공지되어 있고, 이들의 각각은 특정 숫자

(예컨대, HLA-B27)가 주어진다.

- [0147] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 HLA-C 대립유전자를 포함한다. HLA-C는 HLA 클래스 I 중쇄 과탈로그에 속한다. 이 클래스 I 분자는 중쇄 및 경쇄(베타-2 마이크로글로불린)로 이루어진 이종이합체이다. 100개 초과 HLA-C 대립유전자가 기재되어 있다.
- [0148] 일부 실시형태에서, HLA 클래스 I 대립유전자는 넓은 또는 편재한 RNA 발현을 갖는다.
- [0149] 일부 실시형태에서, HLA 클래스 I 대립유전자는 공지된 또는 일반적으로 높은 소수의 대립유전자 빈도를 갖는다.
- [0150] 일부 실시형태에서, 예를 들어 HLA 클래스 I 대립유전자가 pan-HLA 리간드 결합 도메인에 의해 인식될 때 HLA 클래스 I 대립유전자는 펩타이드-MHC 항원을 요하지 않는다.
- [0151] 일부 실시형태에서, 제2 억제제 리간드는 HLA-A 대립유전자를 포함한다. 일부 실시형태에서, HLA-A 대립유전자는 HLA-A*02를 포함한다. HLA-A*02에 결합하고 이를 인식하는 당해 분야에 공지되거나 본원에 개시된 다양한 단일 가변 도메인은 실시형태에 사용하기에 적합하다. 이러한 scFv는 예를 들어 및 제한 없이 하기 표 6에 도시된 펩타이드 독립적 방식으로 HLA-A*02에 결합하는 하기 마우스 및 인간화된 scFv 항체를 포함한다(상보성 결정 영역 밑줄 표시):

표 6

HLA-A*02 ScFv 결합 도메인

PA2.1 mAb로부터 유래된 HLA-A*02 항원 결합 도메인	
C-001765 PA2.1 scFv (마우스): DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIHVSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDLGVYYCFQGSHPVPRISGGGKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGQVQLQSGPELVKPGASVRI SCKASGYTFTSYHIHWVKQRPGQGLEWIGWIYPGNVNTTEYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCAREEITYAMDYWGQGTSTVTVSS (서열 번호 53)	C-001765 PA2.1 scFv (마우스) DNA 서열: 서열 번호 179
C-002159 PA2.1.8 scFv (인간화된): QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFTSYHIHWVRQAPGQGLEWMGW IYPGNVNTTEYNEKFKGKATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCAREEITYAMDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIIVLTQSPGTLSPGERATLSCRSSQSIHVSNGNTYLEWYQKPGQAPRLLIYKVSNRFSGIPDRFSGSGSGTDFTLTIISLQPEDFATYYCFQGSHPVPRIFGGGKVEIK (서열 번호 54)	C-002159 PA2.1.8 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 180
C-002160 PA2.1.9 scFv (인간화된): QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFTSYHIHWVRQAPGQGLEWMGW IYPGNVNTTEYNEKFKGKATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCAREEITYAMDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIIVMTQTPLSLPTVTPGEPASISCRSSQSIHVSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPVPRIFGGGKVEIK (서열 번호 55)	C-002160 PA2.1.9 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 181
C-002161 PA2.1.10 scFv (인간화된): EVQLVESGGGLVQPKGSLRSLCAASGYTFTSYHIHWVRQAPGKLEWVGV IYPGNVNTTEYNEKFKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYFCAREEITYAMDYWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSLSASVGDRTVITCRSSQSIHVSNGNTYLEWYQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIISLQPEDFATYYCFQGSHPVPRIFGGGKVEIK (서열 번호 56)	C-002161 PA2.1.10 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 182
C-002162 PA2.1.14 scFv (인간화된): QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFTSYHIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGNVNTTEYNEKFKGKATITADKSTNTAYMELSSLRSEDTAVYFCAREEITYAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSLSASVGDRTVITCRSSQSIHVSNGNTYLEWYQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIISLQPDFATYYCFQGSHPVPRIFGGGKVEIK (서열 번호 57)	C-002162 PA2.1.14 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 183
C-002163 PA2.1.18 scFv (인간화된): QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFTSYHMHVVRQAPGQGLEWIGYIYPGNVNTTEYNEKFKGKATITADKSTNTAYMELSSLRSEDTAVYFCAREEITYAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSLSASVGDRTVITCRSSQSIHVSNGNTYLEWYQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIISLQPDFATYYCHQGSHPVPRIFGGGKVEIK (서열 번호 58)	C-002163 PA2.1.18 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 184
BB7.2 mAb로부터 유래된 HLA-A*02 항원 결합 도메인	
C-002164 BB7.2 scFv (마우스):	C-002164 BB7.2 scFv (마우스) DNA

[0152]

QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYFTFSYHIQWVKQRPGQGLEWIGWIYPGDGSQYNEKFKGKTTLTA DKSSSTAYMLLSSLTSESDAIYFCAREGTYIYAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDVLMTQIPL SLPVSIGDQVSI SCRSSQSI VHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLL IYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDLVGYVYCFQGSHPVTRTFGGGKLEIK (서열 번호 59)	서열: 서열 번호 185
C-002165 BB7.2.1 scFv (인간화된): QLQLQESGFLVLPKPSSETLSLTCTVSGYFTFSYHIQWIRQPPGKGLEWIGWIYPGDGSQYNEKFKGRATISV DTSKNQFSLNLDVSAADTAIYFCAREGTYIYAMDYWGKGTSTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMTQSPS SLASVGDRTVITCRSSQSI VHSNGNTYLEWYQQKPKGKAPKLL IYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTFTIS SLQPEDIAIYVYCFQGSHPVTRTFGGGKVDIK (서열 번호 60)	C-002165 BB7.2.1 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 186
C-002166 BB7.2.2 scFv (인간화된): EVQLVQSGAELKPKGSSVKVSKASGYFTFSYHIQWVQAPGQGLEWIGWIYPGDGSQYNEKFKGKATLTV DKSTNTAYMELSSLRSEDAVYFCAREGTYIYAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMTQSPS TLASVGDRTVITCRSSQSI VHSNGNTYLEWYQQKPKGKAPKLL IYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPDFAIYVYCFQGSHPVTRTFGGGKVEIK (서열 번호 61)	C-002166 BB7.2.2 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 187
C-002167 BB7.2.3 scFv (인간화된): QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTFSYHIQWVRQAPGQGLEWIMGWIYPGDGSQYNEKFKGRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDAVYFCAREGTYIYAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGEIVLTQSPG TLSLSPGERATLSCRSSQSI VHSNGNTYLEWYQQKPKGAPRLL IYKVS NRFSGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYVYCFQGSHPVTRTFGGGKVEIK (서열 번호 62)	C-002167 BB7.2.3 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 188
C-002168 BB7.2.5 scFv (인간화된): QVTLKQSGAEVKKPGSSVKVSVCTASGYFTFSYHVSVWRQAPGQGLEWLGRIYPGDGSQYNEKFKGKVTITA DKSMDTSMELTSLTSEDAVYFCAREGTYIYAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGEIVLTQSPG TLSLSPGERATLSCRSSQSI VHSNGNTYLEWYQQKPKGAPRLL IYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYVYCFQGSHPVTRTFGGGKVEIK (서열 번호 63)	C-002168 BB7.2.5 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 189
C-002169 BB7.2.6 scFv (인간화된): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTFSYHMHVWRQAPGQRLEWIMGWIYPGDGSQYNEKFKGKVTITR DTSASTAYMELSSLRSEDAVYFCAREGTYIYAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGDIQMTQIPL SLPVTGPEPASI SCRSSQSI VHSNGNTYLDWYLQKPGQSPQLL IYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDLVGYVYCFQGSHPVTRTFGGGKVEIK (서열 번호 64)	C-002169 BB7.2.6 scFv (인간화된) DNA 서열: 서열 번호 190

[0153]

[0154]

HLA-A*02 리간드 결합 도메인에 대한 예시적인 중쇄 및 경쇄 CDR(각각 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3, 또는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3)은 하기 표 7에 기재되어 있다.

표 7

HLA-A*02 항원 결합 도메인에 상응하는 CDR

CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
RSSQSI VHSNGNT YLE (서열 번호 41)	KVSNRFSGVPDR (서열 번호 42)	FQGSHPVTR (서열 번호 43)	ASGYFTFSYHIH (서열 번호 44)	WIYPGNVNTIYNE KFKGK (서열 번호 45)	EEITYAMDY (서열 번호 46)
RSSQSI VHSNGNT YLD (서열 번호 47)	KVSNRFSGVPDR (서열 번호 48)	MQGSHPVTR (서열 번호 49)	SGYFTFSYHMH (서열 번호 50)	WIYPGDGSQYNE KFKGK (서열 번호 51)	EGTYIAMDY (서열 번호 52)

[0155]

[0156]

일부 실시형태에서, scFv는 서열 번호 41 내지 서열 번호 52 중 어느 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, scFv는 서열 번호 41 내지 서열 번호 52 중 어느 하나와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, scFv는 서열 번호 41 내지 서열 번호 52 중 어느 하나와 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체의 중쇄는 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나의 중쇄 CDR을

포함하고, 항체의 경쇄는 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나의 경쇄 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체의 중쇄는 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나의 중쇄 부분과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하고, 항체의 경쇄는 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나의 경쇄 부분과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0157] 일부 실시형태에서, 항체의 중쇄는 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나의 중쇄 부분과 동일한 서열을 포함하고, 항체의 경쇄는 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나의 경쇄 부분과 동일한 서열을 포함한다.

[0158] 일부 실시형태에서, ScFv는 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나와 적어도 95% 동일한, 적어도 96% 동일한, 적어도 97% 동일한, 적어도 98% 동일한, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 서열을 포함한다.

[0159] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 리간드는 HLA-A*02이고, 억제 리간드 결합 도메인은 HLA-A*02 리간드 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 리간드 결합 도메인은 HLA-A*02를 포함하는 pMHC 복합체에서 펩타이드와 독립적인 HLA-A*02에 결합한다. 일부 실시형태에서, HLA-A*02 리간드 결합 도메인은 ScFv 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, HLA-A*02 리간드 결합 도메인은 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, HLA-A*02 리간드 결합 도메인은 서열 번호 53 내지 서열 번호 64 중 어느 하나의 서열과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, HLA-A*02 리간드 결합 도메인은 서열 번호 179 내지 서열 번호 190 중 어느 하나를 포함하는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, HLA-A*02 리간드 결합 도메인은 서열 번호 179 내지 서열 번호 190 중 어느 하나의 서열과 적어도 80%의 동일성, 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 암호화된다.

[0160] 부 조직접합 항원

[0161] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 부 조직접합 항원(MiHA)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 LOH를 통해 표적 세포에서 소실된 MiHA의 대립유전자를 포함한다.

[0162] MiHA는 대립유전자 사이의 비동의 차이를 함유하는 단백질로부터 유래된 펩타이드이고, 혼한 HLA 대립유전자에 의해 디스플레이된다. 비동의 차이는 MiHA를 암호화하는 유전자의 코딩 서열에서 SNP, 결실, 프레임쉬프트 돌연변이 또는 삽입으로부터 생길 수 있다. 예시적인 MiHA는 약 9개 내지 12개의 아미노산 길이일 수 있고, MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 단백질에 결합할 수 있다. MiHA를 디스플레이하는 MHC 복합체에 대한 TCR의 결합은 T 세포를 활성화할 수 있다. MiHA의 유전적 특성 및 면역학적 특성은 당업자에게 잘 공지될 것이다. 후보 MiHA는 공지된 HLA 클래스 I 대립유전자에 의해 제시된 공지된 펩타이드이고, 임상에서(예를 들어, 이식편 대 숙주 질환 또는 이식물 거부에서) T 세포 반응을 이끌어내는 것으로 공지되어 있고, 단순한 SNP 유전자형분석에 의해 환자 선택이 가능하게 한다.

[0163] 일부 실시형태에서, MiHA는 넓은 또는 편재한 RNA 발현을 갖는다.

[0164] 일부 실시형태에서, MiHA는 높은 소수 대립유전자 빈도를 갖는다.

[0165] 일부 실시형태에서, MiHA는 Y 염색체 유전자로부터 유래된 펩타이드를 포함한다.

[0166] 일부 실시형태에서, 제2 억제제 리간드는 표 8 및 표 9에 개시된 MiHA의 군으로부터 선택된 MiHA를 포함한다.

[0167] 본 발명의 범위 내로서 고려되는 MiHA의 예시적이지만 비제한적인 예는 하기 표 8에 개시되어 있다. 표 8에서의 칼럼은 왼쪽에서 오른쪽으로 MiHA의 명칭, 이것이 유래된 유전자, MiHA를 디스플레이할 수 있는 MHC 클래스 I 변이체 및 펩타이드 변이체의 서열[괄호에 표시된 A/B 변이체]을 나타낸다.

표 8

HLA 클래스 I 상염색체 MiHA.

MiHA	유전자	HLA	펩타이드 A/B
LB-CYBA-1Y	사이토크롬 b-245 알파 사슬 (CYBA)	A*01:01	STMERWGQK[Y/H] (서열 번호 303)
LB-OAS1-1R	2'-5'-올리고아데닐레이트 합성효소 1 (OAS1)	A*01:01	ETDDPR[R/T]YQKY (서열 번호 304)
HA-1/A2	Rho GTPase 활성화 단백질 45 (HMHA1)	A*02:01	VL[H/R]DDLLEA (서열 번호 273)
HA-2	미오신 IG (MYO1G)	A*02:01	YIGEVLS[V/M] (서열 번호 305)
HA-8	푸릴리오 RNA 결합 패밀리 구성원 3 (KIAA0020, PUM3)	A*02:01	[R/P]TLDKVLEV (서열 번호 306)
HA-3	A-키나제 앵커링 단백질 13 (AKAP13)	A*01:01	V[T/M]EPGTAQY (서열 번호 307)
HwA11-S	염색체 19 오픈 리딩 프레임 48 (C19ORF48)	A*02:01	CIPPD[S/T]LLFPA (서열 번호 308)
LB-ADIR-1F	토르신 패밀리 3 구성원 A (TOR3A)	A*02:01	SVAPALAL[F/S]PA (서열 번호 309)
LB-HIVEP1-1S	HIVEP 징크 핑거 1 (HIVEP1)	A*02:01	SLPKH[S/N]VTI (서열 번호 310)
LB-NISCH-1A	니스카린 (NISCH)	A*02:01	ALAPAP[A/V]EV (서열 번호 311)
LB-SSR1-1S	신호 서열 수용체 아단위 1 (SSR1)	A*02:01	[S/L]LAVAQDLT (서열 번호 312)
LB-WNK1-1I	WNK 리신 결핍 단백질 키나제 1 (WNK1)	A*02:01	RTLSPE[I/M]ITV (서열 번호 313)
T4A	3부 모터프 함유 4 (TRIM42)	A*02:01	GLYTYWSAG[A/E] (서열 번호 314)
UTA2-1	레트로요소 침묵화 인자 1 (KIAA1551)	A*02:01	QL[L/P]NSVLT (서열 번호 315)
LB-CLYBL-1Y	시트라말릴-CoA 분해효소 (CLYBL)	A*02:01	SLAA(Y/D)IPRL (서열 번호 316)
TRIM22	3부 모터프 함유 22 (TRIM22)	A*02:01	MAVPPC[C/R]IGV (서열 번호 317)
PARP10-1L	폴리(ADP-리보스) 중합효소 패밀리 구성원 10 (PARP10)	A*02:01	GL[L/P]GQEGLVEI (서열 번호 318)
FAM119A-1T	메틸전환효소 유사 21A (FAM119A)	A*02:01	AMLERQF[T/I]V (서열 번호 319)

[0168]

GLRX3-1S	글루타레독신 3 (GLRX3)	A*02:01	FL[S/P]SANEHL (서열 번호 320)
HNF4G-1M	간세포 핵 인자 4 감마 (HNF4G)	A*02:01	M[M/I]YKDILLL (서열 번호 321)
HMMR-1V	히알루론 매개된 이동 수용체(HMMR)	A*02:01	SLQEK[V/A]AKA (서열 번호 322)
BCL2A1	BCL2 관련된 단백질 A1 (BCL2A1)	A*02:01	VLQ[N/K]VAFSV (서열 번호 323)
CDC26-1F	세포 분열 사이클 26 (CDC26)	A*02:01	[F/S]VAGTQEVFV (서열 번호 324)
APOBEC3F-1S/A	아포지단백 B mRNA 편집 효소 촉매 아단위 3F (APOBEC3F)	A*02:01	FL[S/A]EHPNVTL (서열 번호 325)
LB-PRCP-1D	프롤릴카복시펩티다제 (PRCP)	A*02:01	FMWDVAE[D/E]L (9 합체) (서열 번호 326), FMWDVAE[D/E]LKA (11 합체) (서열 번호 327)
LB-CCL4-1T	C-C 모티프 케모카인 리간드 4 (CCL4)	A*02:01	CADPSE[T/S]WV (서열 번호 328)
LB-NCAPD3-1Q	비-SMC 콘덴신 II 복합체 아단위 D (NCAPD3)	A*02:01	WL[Q/R]GVVPVV (서열 번호 329)
LB-NDC80-1P	NDC80 방추사부착점 복합 성분 (NDC80)	A*02:01	HLEEQI[P/A]KV (서열 번호 330)
LB-TTK-1D	TTK 단백질 키나제 (TTK)	A*02:01	RLH[D/E]GRVAV (서열 번호 331)
WDR27-1L	WD 반복 도메인 27 (WDR27)	A*02:01	S[L/P]DDHVAV (서열 번호 332)
MIIP	이동 및 침윤 억제 단백질 (MIIP)	A*02:01	SEESAVP[K/E]RSW (11 합체) (서열 번호 333), EESAVP[K/E]RSW (10 합체) (서열 번호 334)
HER-2/NEU	E erb-b2 수용체 티로신 키나제 2 (RBB2)	A*02:01	보고되지 않음
LB-DHX33-1C	DEAH-박스 헬리카제 33 (DHX33)	A*02:01, C*03:03	LYEGGIS[C/R] (서열 번호 335)
PANE1	동원체 단백질 M (CENPM)	A*03:01	RVWDLPGVLK (서열 번호 336)
SP110	SP110 핵 바디 단백질 (SP110)	A*03:01	SLP[R/G]GTSTPK (서열 번호 337)
ACC-1C/Y	BCL2 관련된 단백질 A1 (BCL2A1)	A*24:02	DYLQ[Y/C]VLQI (서열 번호 338)
P2RX7	푸린성 수용체 P2X 7 (P2RX7)	A*29:02	WFHHC[H/R]PKY (서열 번호 339)

[0169]

ACC-4	카텝신 H (CTSH)	A*31:01	ATLPLLCA[R/G] (서열 번호 340)
ACC-5	CTSH	A*33:03	WATLPLLCA[R/G] (서열 번호 341)
AKAP13	A-키나제 앵커링 단백질 13 (AKAP13)	B*07:02	APAGVREV[M/T] (서열 번호 342)
LB-APOBEC3B-1K	아포지단백 B mRNA 편집 효소 촉매 아단위 3B (APOBEC3B)	B*07:02, B*08:01	[K/E]PQYHAEMCF (서열 번호 343)
APOBEC3H	아포지단백 B mRNA 편집 효소 촉매 아단위 3H (APOBEC3H)	B*07:02	KPQQ[K/E]GLRL (서열 번호 344)
LB-ARHGDIB-1R	Rho GDP 분리 억제제 베타 (ARHGDIB)	B*07:02	LPRACW[R/P]EA (서열 번호 345)
LB-BCAT2-1R	BCAT2 - 분쇄 아미노산 아미노기전이효소 2 (BCAT2)	B*07:02	QP[R/T]RALLFVIL (서열 번호 346)
BFAR	이작용성 아포토시스 조절자 (BFAR)	B*07:02	APNTGRANQQ[M/R] (서열 번호 347)
C14orf169	리보솜 옥시게나아제 1 (C14orf169 또는 RIOX1)	B*07:02	RPR[A/V]PTEELAL (서열 번호 348)
LB-C160RF-1R	C160RF	B*07:02	[R/W]PCPSVGLSFL (서열 번호 349)
C18orf21	염색체 18 오픈 리딩 프레임 21 (C18orf21)	B*07:02	NPATP[A/T]SKL (서열 번호 350)
LB-EBI3-1I	엡스타인 바 바이러스 유도된 3 (EBI3)	B*07:02	RPRARYY[I/V]QV (서열 번호 351)
POP1	POP1 동족체, 리보뉴클레아제 P/MRP 아단위 (POP1)	B*07:02	LPQKKS[N/K]AL (서열 번호 352)
SCRIB	스크리블 평면 세포 극성 단백질 (SCRIB)	B*07:02	LPQQPP[L/P]SL (서열 번호 353)
MTRR	5-메틸테트라하이드로폴레이트-호모시스테인 메틸전환효소 환원효소 (MTRR)	B*07:02	SPAS[S/L]RTDL (서열 번호 354)
LLGL2	LLGL 스크리블 세포 극성 복합체 성분 2 (LLGL2)	B*07:02	SPSL[R/H]ILAI (서열 번호 355)
LB-ECGF-1H	티미딘 포스포릴라제 (TYMP)	B*07:02	RP[H/R]AIRRPLAL (서열 번호 356)

[0170]

LB-ERAP1-1R	소포체 아미노펩티다제 1 (ERAP1)	B*07:02	HP[R/P]QEQIALLA (11 합체) (서열 번호 357), HP[R/P]QEQIAL (9 합체) (서열 번호 358)
LB-FUCA2-1V	알파-L-푸코시다제 2 (FUCA2)	B*07:02	RLRQ[V/M]GSWL (서열 번호 359)
LB-GEMIN4-1V	생식 핵 세포기관 연관된 단백질 4 (GEMIN4)	B*07:02, B*08:01	FPALRFVE[V/E] (서열 번호 360)
HDGF	헤파린 결합 성장 인자 (HDGF)	B*07:02	LPMEVEKNST[L/P] (서열 번호 361)
LB-PDCD11-1F	예정 세포사 11 (PDCD11)	B*07:02	GPSSKT[F/L]LCL (서열 번호 362)
LB-PFAS-1P	포스포리보실포딜글리신아미딘 신타제 (PFAS)	B*07:02	A[P/S]GHTRRKL (서열 번호 363)
LB-TEP1-1S	텔로머라제 연관된 단백질 1 (TEP1)	B*07:02	APDGAKVA[S/P]L (서열 번호 364)
LB-TMEMSA-1I	단백질 6 에 대한 후-글리코실포스파티딜이노시톨 부착 (TMEMSA 또는 PGAP6)	B*07:02	RPRSVT[I/V]QPLL (서열 번호 365)
LB-USP15-1I	유비퀴틴 특이적 펩티다제 15 (USP15)	B*07:02	MPSHLRN[I/T]LL (서열 번호 366)
LRH-1	푸린성 수용체 P2X 5 (P2RX5)	B*07:02	TPNQRQNV (서열 번호 367)
LB-MOB3A-1C	MOB 키나제 활성인자 3A (MOB3A)	B*07:02	[C/S]PRPGTWTC (서열 번호 368)
LB-ZDHHC6-1Y	징크 핑거 DHHC-타입 팔미토일전환효소 6 (ZDHHC6)	B*07:02	RPR[Y/H]WILLVKI (서열 번호 369)
ZAPHIR	징크 핑거 단백질 419 (ZNF419)	B*07:02	IPRDSWWVEL (서열 번호 370)
HEATR1	HEAT 반복 함유 1 (HEATR1)	B*08:01	ISKERA[E/G]AL (서열 번호 371)
LB-GSTP1-1V	글루타티온 S-전환효소 pi 1 (GSTP1)	B*08:01	DLRCKY[V/I]SL (서열 번호 372)
HA-1/B60	Rho GTPase 활성화 단백질 45 (HMHA1)	B*40:01	KECVL[H/R]DDL (서열 번호 373)
LB-SON-1R	SON DNA 및 RNA 결합 단백질 (SON)	B*40:01	SETKQ[R/C]TVL (서열 번호 374)
LB-SWAP70-1Q	스위칭 B 세포 복합체 아단위 SWAP70 (SWAP70)	B*40:01	MEQLE[Q/E]LEL (서열 번호 375)

[0171]

LB-TRIP10-1EPC	갑상선 호르몬 수용체 상호인자 10 (TRIP10)	B*40:01	G[E/G][P/S]QDL[C/G]TL (서열 번호 376)
LB-NUP133-IR	뉴클레오포린 133 (NUP133)	B*40:01	SEDLILC[R/Q]L (서열 번호 377)
LB-ZNFX1-1Q	징크 핑거 NFX1-타입 함유 1 (ZNFX1)	B*40:01	NEIEDVW[V/H]LDL (서열 번호 378)
SLC1A5	용결 운반 패밀리 1 구성원 5 (SLC1A5)	B*40:02	AE[A/P]TANGGLAL (서열 번호 379)
ACC-2	BCL2A1	B*44:02, B*44:03	KEFED[D/G]IINW (서열 번호 380)
ACC-6	조직적합성 소 세르핀 도메인 함유 (HMSD)	B*44:03	MEIFIEVFSHF (서열 번호 381)
HB-1H/Y	조직적합성 소 HB-1 (HMH1)	B*44:03	EKRGSL[H/Y]VW (서열 번호 382)
DPH1	디프탈아미드 생합성 1 (DPH1)	B*57:01	S[V/L]LPEVDVW (서열 번호 383)
UGT2B17/A02	UDP 글루쿠로노실전환효소 패밀리 2 구성원 B17 (UGT2B17)	A*02:06	CVATMIFMI (서열 번호 384)
UGT2B17/A29	UGT2B17	A*29:02	AELLNIPFLY (서열 번호 385)
UGT2B17/B44	UGT2B17	B*44:03	AELLNIPFLY (서열 번호 386)

[0172]

[0173]

본 발명의 범위 내로서 고려되는 MiHA의 예시적이지만 비제한적인 예는 하기 표 9에 개시되어 있다. 표 9에서의 칼럼은 왼쪽에서 오른쪽으로 MiHA의 명칭, 이것이 유래된 유전자, MiHA를 디스플레이할 수 있는 MHC 클래스 I 변이체 및 펩타이드 변이체의 서열[괄호에 표시된 A/B 변이체]을 나타낸다.

표 9

HLA 클래스 I Y 연결된 MiHA.

MiHA	유전자	HLA	펩타이드 A/B
DFFRY	유비쿼틴 특이적 펩티다제 9 Y-연결된 (DFFRY)	A*01:01	IVD[C/S]LTEMY (서열 번호 387)
SMCY	리신 데메틸라제 5 (SMCY)	A*02:01	FIDSYICQV (서열 번호 388)
TMSB4Y	티모신 베타 4 Y-연결된 (TMSB4Y)	A*33:03	EVLRLPGLHFR (서열 번호 389)
SMCY	SMCY	B*07:02	SP[S/A]VDKA[R/Q]AEL (서열 번호 34)
UTY	편재하여 전사된 테트라트립토펙타이드 반복 함유, Y-연결된 (UTY)	B*08:01	LPHN[H/R]T[D/N]L (서열 번호 25)
RPS4Y	리보솜 단백질 S4 Y-연결된 1 (RPS4Y)	B*52:01	TIRYPDP[V/L]I (서열 번호 24)
UTY	UTY	B*60:01	[R/G]ESEE[E/A]S[V/P]SL (서열 번호 23)

[0174]

[0175]

일부 실시형태에서, MiHA는 HA-1을 포함한다. HA-1은 VL[H/R]DDLLEA(서열 번호 273)의 서열을 갖는 펩타이드 항원이고, Rho GTPase 활성화 단백질 45 (HA-1) 유전자로부터 유래된다.

[0176]

HA-1 변이체 H 펩타이드(VLHDDLLEA(서열 번호 191))에 선택적으로 결합하는 예시적인 리간드 결합 도메인은 하기 표 10에 기재되어 있다. 서열 번호 193에서의 TCR 알파 및 TCR 베타 서열은 N 말단 GSG 링커를 갖는 서열 ATNFSLLKQAGDVEENPGP(서열 번호 192)의 P2A 자가 절단 폴리펩타이드에 의해 분리된다.

- [0180] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 Y 염색체 유전자, 즉 Y 염색체에서의 유전자에 의해 암호화된 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 리간드는 Y 염색체 소실(LoY)을 통해 표적 세포에서 소실된 Y 염색체 유전자에 의해 암호화된 펩타이드를 포함한다. 예를 들어, 규명된 MiHA의 약 1/3은 Y 염색체로부터 생긴다. Y 염색체는 200개가 넘는 단백질 코딩 유전자를 함유하고, 이들의 모두는 본 개시내용의 범위 내로서 고안된다.
- [0181] 본원에 사용된 것과 같이, "Y 소실" 또는 "LoY"는 종양에서 높은 빈도로 발생하여서 Y 염색체의 일부 또는 전부의 하나의 카피가 결실되어서 Y 염색체 암호화된 유전자(들)를 소실시키는 유전 변형을 지칭한다.
- [0182] 염색체 소실은 소정의 암에서 생기는 것으로 공지되어 있다. 예를 들어, 신장 투명 세포 암에서 Y 염색체의 40% 체세포 소실이 보고되었다(Arseneault 등, *Sci. Rep.* 7: 44876 (2017)). 유사하게, 남성 유방암 대상체에서 Y 염색체의 클론 소실은 31명 중 5명에서 보고되었다(Wong 등, *Oncotarget* 6(42):44927-40 (2015)). 남성 환자로부터의 종양에서의 Y 염색체 소실은 두경부암 환자의 "일관된 특징"으로 기재된다(eI-Naggar 등, *Am J Clin Pathol* 105(1):102-8 (1996)). 추가로, Y 염색체 소실은 위암을 갖는 7명의 남성 환자 중 4명에서 X 염색체 이염색체성과 연관된다(Saal 등, *Virchows Arch B Cell Pathol* (1993)). 이와 같이, Y 염색체 유전자는 다양한 암에서 소실될 수 있고, 암 세포를 표적화하는 본 개시내용의 조작된 수용체를 갖는 억제제 리간드로서 사용될 수 있다.
- [0183] 항원 결합 도메인
- [0184] 본 개시내용은 제1 조작된 수용체를 활성화하여서 제1 조작된 수용체를 발현하는 면역 세포를 활성화하는 제1 리간드 결합 도메인, 및 제1 리간드에 결합된 제1 조작된 수용체의 존재 하에서도 제2 조작된 수용체를 발현하는 면역 세포의 활성화를 억제하는 제2 조작된 수용체를 활성화하는 제2 리간드 결합 도메인을 제공한다.
- [0185] 리간드 의존적 방식으로 수용체의 활성을 조절할 수 있는 리간드 결합 도메인의 임의의 유형은 본 개시내용의 범위 내로서 고안된다. 일부 실시형태에서, 리간드 결합 도메인은 항원 결합 도메인이다. 예시적인 항원 결합 도메인은 특히 ScFv, SdAb, V β 단독 도메인, 및 TCR α 및 β 사슬 가변 도메인으로부터 유래된 TCR 항원 결합 도메인을 포함한다.
- [0186] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD는 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 LBD는 항원 결합 도메인을 포함한다. 항원 결합 도메인의 임의의 유형은 본 개시내용의 범위 내로서 고안된다.
- [0187] 예를 들어, 제1의, 활성인자 LBD 및/또는 제2의, 억제제 LBD는 펩타이드 항체, 인간화된 항체 또는 인간 항체로부터 유래된 예를 들어 단일 도메인 항체 단편(sdAb) 또는 중쇄 항체 HCAb, 단일 사슬 항체(scFv)를 포함하는 인접한 폴리펩타이드 사슬의 일부로서 발현될 수 있는 항원 결합 도메인을 포함할 수 있다(Harlow 등, 1999, In: *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y.; Harlow 등, 1989, In: *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, N.Y.; Houston 등, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; Bird 등, 1988, *Science* 242:423-426). 일부 양태에서, 제1의, 활성인자 LBD 및/또는 제2의, 억제제 LBD는 항체 단편을 포함하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 추가의 양태에서, 활성인자 LBD는 scFv 또는 sdAb를 포함하는 항체 단편을 포함한다. 추가의 양태에서, 억제제 LBD는 scFv 또는 sdAb를 포함하는 항체 단편을 포함한다.
- [0188] 본원에 사용된 것과 같이, "항체"라는 용어는 항원에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자로부터 유래된 단백질 또는 폴리펩타이드 서열을 지칭한다. 항체는 다중클론 또는 단일클론 기원의 온전한 면역글로불린, 또는 이의 단편일 수 있고, 자연으로부터 또는 재조합 원천으로부터 유래될 수 있다.
- [0189] "항체 단편" 또는 "항체 결합 도메인"이라는 용어는 항원 결합 도메인을 함유하는 항체 또는 이의 재조합 변이체의 적어도 하나의 부분, 즉 항원 및 이의 한정된 에피토프와 같은 표적에 대한 항체 단편의 인식 및 특이적 결합을 부여하기에 충분한 온전한 항체의 항원 결정 가변 영역을 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편, 단일-사슬(sc)Fv("scFv") 항체 단편, 선형 항체, 단일 도메인 항체("sdAb"로 축약됨)(VL 또는 VH 중 어느 하나), 나타 VHH 도메인, 및 항체 단편으로부터 형성된 다중-특이적 항체를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0190] "scFv"라는 용어는 경쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 하나의 항체 단편 및 중쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 하나의 항체 단편을 포함하는 융합 단백질을 지칭하고, 경쇄 및 중쇄 가변 영역은 짧은 가요성 폴리펩타이드 링커를 통해 인접하여 연결되고, 단일 폴리펩타이드 사슬로서 발현될 수 있고, scFv는 이것이 유래된 온전한

항체의 특이성을 보유한다.

- [0191] 항체와 관련하여 "중쇄 가변 영역" 또는 "VH"(또는 단일 도메인 항체, 예를 들어 나노바디의 경우에는, "VHH")는 프레임워크 영역으로 공지된 플랭킹 스트레치 사이에 끼워진 3개의 CDR을 함유하는 중쇄의 단편을 지칭하고, 이 프레임워크 영역은 CDR보다 일반적으로 더 고도로 보존되고, CDR을 지지하도록 스캐폴드를 형성한다.
- [0192] 달리 기술되지 않는 한, 본원에 사용된 것과 같이 scFv는 어느 한 순서로, 예를 들어 폴리펩타이드의 N-말단 및 C-말단 끝과 관련하여 VL 가변 영역 및 VH 가변 영역을 가질 수 있고, scFv는 VL-링커-VH를 포함할 수 있거나 VH-링커-VL을 포함할 수 있다.
- [0193] "항체 경쇄"라는 용어는 이의 자연 발생 구성에서 항체 분자로 존재하는 폴리펩타이드 사슬의 2개의 유형 중 더 적은 것을 지칭한다. 카파("K") 및 람다("λ") 경쇄는 2개의 주요 항체 경쇄 이소형을 지칭한다.
- [0194] "재조합 항체"라는 용어는 예를 들어 박테리오파지 또는 효모 발현 시스템에 의해 발현된 항체와 같은 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성된 항체를 지칭한다. 상기 용어는 또한 항체를 암호화하는 DNA 분자의 합성에 의해 생성되고 DNA 분자가 항체 단백질, 또는 항체를 명시하는 아미노산 서열을 발현하는 항체를 의미하도록 해석되어야 하고, 당해 분야에서 이용 가능하고 잘 공지된 재조합 DNA 또는 아미노산 서열 기술을 사용하여 DNA 또는 아미노산 서열이 얻어졌다.
- [0195] "Vβ 도메인", "Vβ 단독 도메인", "β 사슬 가변 도메인" 또는 "단일 가변 도메인 TCR(svd-TCR)"이라는 용어는 제2 TCR 가변 도메인의 부재 하에 항원에 특이적으로 결합하는 단일 T 세포 수용체(TCR) 베타 가변 도메인으로 본질적으로 이루어진 항원 결합 도메인을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD는 Vβ 단독 도메인을 포함하거나 본질적으로 이것으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제제 LBD는 Vβ 단독 도메인을 포함하거나 본질적으로 이것으로 이루어진다.
- [0196] 일부 실시형태에서, Vβ 단독 도메인은 추가 아미노산 서열, 추가 단백질 도메인(TCR 가변 도메인과 공유 회합된, 비공유 회합된 또는 공유로 회합되고 비공유로 회합된), TCR 가변 도메인과 다른 유형의 거대분자(예를 들어, 폴리뉴클레오타이드, 폴리사카라이드, 지질, 또는 이들의 조합)의 융합 또는 비공유 회합, TCR 가변 도메인과 하나 이상의 소분자, 화합물 또는 리간드의 융합 또는 비공유 회합, 또는 이들의 조합을 포함하는 TCR 가변 도메인 이외의 추가 요소를 포함할 수 있다. 기재된 것과 같은 임의의 추가 요소는 조합될 수 있고, 단 TCR 가변 도메인은 제2 TCR 가변 도메인의 부재 하에 에피토프에 특이적으로 결합하도록 구성될 수 있다.
- [0197] 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 Vβ 단독 도메인은 Va 분절이 결합된 사슬과 독립적으로 기능한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 하나 이상의 Vβ 단독 도메인은 항원에 반응하여 T 세포를 활성화할 수 있는 막관통(예를 들어, CD3ζ 및 CD28) 및 세포내 도메인 단백질(예를 들어, CD3ζ, CD28, 및/또는 4-1BB)에 융합된다.
- [0198] 일부 실시형태에서, Vβ 단독 도메인은 상보성 결정 영역(CDR)을 사용하여 항원을 관여시킨다. 각각의 Vβ 단독 도메인은 3개의 보체 결정 영역(CDR1, CDR2 및 CDR3)을 함유한다.
- [0199] 일부 실시형태에서, 제1 Vβ 단독 도메인은 TCR Vβ 도메인 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.
- [0200] 인간에서, α 사슬 및 γ 사슬의 TCR 가변 영역은 각각 V 분절 및 J 분절에 의해 암호화되는 반면, β 사슬 및 δ 사슬의 가변 영역은 각각 추가로 D 분절에 의해 암호화된다. 다수의 가변(V) 유전자 분절, 다양성(D) 유전자 분절 및 연결(J) 유전자 분절(예를 들어, 52개의 Vβ 유전자 분절, 2개의 Dβ 유전자 분절 및 13개의 Jβ 유전자 분절)(Janeway 등 (eds.), 2001, Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th Edition, New York, Figure 4.13)이 있고, 이는 V, D 및 J 유전자 분절의 코딩 서열에 인접한 재조합 신호 서열(RSS)을 인식하는 효소 RAG-1 및 RAG-2를 사용하여 상이한 V(D)J 배열에서 재조합될 수 있다. RSS는 12 또는 23 bp의 스페이스에 의해 분리된 보존된 7합체 및 9합체로 이루어진다. RSS는 각각의 V 분절의 3' 측면에서, 각각의 D 분절의 5' 측면과 3' 측면 둘 다에서 그리고 각각의 J 분절의 5'에서 발견된다. 재조합 동안, RAG-1 및 RAG-2는 조인트(코딩 조인트)의 코딩 말단에서의 DNA 헤어핀의 형성 및 RSS 및 이들 사이의 중재 서열(신호 조인트)의 제거를 야기한다. 가변 영역은 코딩 말단 뉴클레오타이드의 가변 수에 의한 결실, 말단 테옥시뉴클레오타이드 전환효소(TdT)에 의한 뉴클레오타이드의 랜덤 첨가, 및 비대칭적으로 절단된 코딩 헤어핀의 주형 매개 충진으로 인해 생긴 회귀성 뉴클레오타이드에 의해 연결부에서 추가로 다양화된다.
- [0201] 특허 출원 WO 2009/129247호(본원에서 그 전체가 참고로 포함됨)는 시험관내 신생 항체를 생성하기 위해 V(D)J 재조합을 사용하는 HuTarg 시스템이라 칭하는 시험관내 시스템을 개시한다. TCR-특이적 V 요소, D 요소 및 J 요

소를 사용함으로써 이 동일한 시스템은 특허 출원 WO 2017/091905호(본원에 그 전체가 참고로 포함됨)에서처럼 Vβ 단독 도메인의 가변 영역을 생성하도록 사용되었다. 자연 생체내 시스템에서, CDR1 및 CDR2를 암호화하는 핵산 서열은 V(α, β, γ 또는 δ) 유전자 분절 내에 함유되고, CDR3을 암호화하는 서열은, TdT 및 다른 재조합 및 DNA 보수 효소의 작용으로 인해 V-J 및 V-D-J 재조합 연결부에서 뉴클레오타이드의 랜덤 삽입 및 결실을 갖긴 하지만, (Vα 또는 Vγ에 대해서는) V 분절 및 J 분절의 일부 또는 V 분절의 일부, 전체 D 분절 및 (Vβ 또는 Vδ에 대해서는) J 분절의 일부로부터 제조된다. 이로부터 발현된 생성된 T 세포 수용체가 하는 것처럼(즉, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4), 재조합된 T- 세포 수용체 유전자는 교대 프레임워크(FR) 및 CDR 서열을 포함한다. 시험관내 V(D)J 재조합(즉, V-J 또는 V-D-J 재조합)을 사용하여, 무작위화된 삽입 및 결실은 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3(즉, 바로 CDR3이 아님)에서 또는 이에 인접하게 첨가될 수 있고, 추가 삽입은 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 전에 및/또는 후에 재조합 기질에서 플랭킹 서열을 사용하여 첨가될 수 있고, 추가 결실은 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3에서 또는 이에 인접하게 재조합 기질에서 서열을 결실시킴으로써 이루어질 수 있다.

[0202] 일부 실시형태에서, TCR Vβ 사슬의 부재에서 에피토프에 특이적으로 결합하는 TCR Vα 사슬이 확인되었다. TCR Vα 사슬의 부재 하에 에피토프에 결합하는 예시적인 CDR3 아미노산 서열은 하기 표 11에 열거되어 있다.

표 11

확인된 Vβ 도메인의 CDR3 아미노산 서열

에피토프	TRBV 유전자	TRBD 유전자	TRBJ 유전자	CDR3 아미노산 서열
NY-ESO	TRBV5-8*01	해당 없음	TRBJ2-7*01	CASSLGLGYEQYF (서열 번호 203)
NY-ESO	TRBV5-8*01	TRBD2*02	TRBJ2-1*01	CASSLGGPRGLAGLRGDEQF (서열 번호 204)
NY-ESO	TRBV5-8*01	TRBD2*01	TRBJ2-1*01	CASSLRDNEQF (서열 번호 205)
MAGE-A3	TRBV5-8*01	TRBD1*01	TRBJ2-3*01	CASSLEVLLGADFPTQYF (서열 번호 206)
MAGE-A3	TRBV5-8*01	TRBD2*02	TRBJ2-1*01	CASSFPAGHGADLDNEQF (서열 번호 207)
MAGE-A3	TRBV5-8*01	TRBD1*01	TRBJ2-1*01	CASSEITGRIGEQF (서열 번호 208)
MAGE-A3	TRBV5-8*01	TRBD1*01	TRBJ2-1*01	CASSLGGDELGADGNEQF (서열 번호 209)

[0203]

[0204] 일부 실시형태에서, Vβ 단독 도메인은 제2 TCR 가변 도메인의 부재 하에 에피토프에 특이적으로 결합하고, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 영역에 의해 한정된 가변 도메인을 플랭킹하는 (임의의 길이 또는 서열의) 선택적인 N 말단 및/또는 C 말단 아미노산 서열로 이루어진다. FR1, FR2, FR3 및 FR4는 자연 Vα, Vβ, Vγ 또는 Vδ 도메인으로부터 얻어지거나, 자연 Vα, Vβ, Vγ 또는 Vδ 유전자 분절에 의해 암호화될 수 있지만, 선택적으로 독립적으로 FR1의 C 말단, FR2의 N 말단, FR2의 C 말단, FR3의 N 말단, FR3의 C 말단 및 FR4의 N 말단 중 하나 이상에서 (예를 들어, 0개, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 5개 초과)의 아미노산) 아미노산의 결실 또는 삽입을 포함한다. CDR1, CDR2 및 CDR3은 자연 Vα, Vβ, Vγ 또는 Vδ 도메인으로부터 얻어지거나, 자연 Vα, Vβ, Vγ 또는 Vδ 유전자 분절에 의해 암호화될 수 있지만, CDR1, CDR2 및 CDR3 중 하나 이상은 독립적으로 C 말단, N 말단 또는 CDR 서열 내의 어느 곳에서 삽입(예를 들어, 0개, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 10개 초과)의 아미노산) 및/또는 결실(예를 들어, 0개, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 5개 초과)의 아미노산)을 함유한다. 일부 실시형태에서, CDR1은 N 말단으로, C 말단으로 또는 내부로 아미노산의 삽입 또는 결실을 함유하고, 자연 CDR 아미노산 잔기의 적어도 50%(또는 선택적으로 60%, 70% 또는 80%)가 보유된다. 일부 실시형태에서, CDR2는 N 말단으로, C 말단으로 또는 내부로 아미노산의 삽입 또는 결실을 함유하고, 자연 CDR 아미노산 잔기의 적어도 50%(또는 선택적으로 60%, 70% 또는 80%)가 보유된다. 일부 실시형태에서, CDR3은 N 말단으로, C 말단으로 또는 내부로 아미노산의 삽입 또는 결실을 함유하고, 자연 CDR 아미노산 잔기의 적어도 50%(또는 선택적으로 60%, 70% 또는 80%)가 보유된다. 삽입 및/또는 결실은 시험관내 V(D)J 재조합 방법의 결과로서 또는 TdT 및 재조합 및 DNA 보수 효소(예를 들어, 아르테미스 뉴클레아제(Artemis nuclease), NDA 의존적 단백질 키나제(DNA-PK: NDA-dependent protein kinase), X선 보수 교차-보완 단백질 4(XRCC4: X-ray repair

cross-complementing protein 4), DNA 분해효소 IV, 비상동성 말단 연결 인자 1(NHEJ1: non-homologous end-joining factor 1), PAXX, 및 DNA 중합효소 λ 및 μ 중 하나 이상)의 시험관내 작용으로부터 제조될 수 있다. (치환을 포함하는) 삽입 및/또는 결실은 추가로 시험관내 V(D)J 재조합 기질의 CDR 핵산 서열에 대한 삽입 및/또는 결실로부터 생길 수 있다. $V\beta$ 단독 도메인은 TCR 불변 영역 또는 이의 부분을 추가로 포함할 수 있다. $V\beta$ 단독 도메인은 추가의 단백질 도메인에 융합되고/되거나 이와 복합체화될 수 있다. DNA에서의 이중 가닥 파괴는 상기 재조합 및 DNA 보수 효소의 시험관내 사용 전에 도입될 수 있다. $V\beta$ 단독 도메인은 융합 단백질일 수 있다(또는 이것에 혼입될 수 있다). 본원에 사용된 것과 같이, "융합 단백질"이라는 용어는 이 유전자의 유기체 원천이 동일하거나 상이한지와 무관하게 별개의 유전자로부터의 2개 이상의 코딩 서열의 융합체로 이루어진 적어도 하나의 핵산 코딩 서열에 의해 암호화된 단백질을 의미한다.

[0205] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD는 ScFv 도메인을 포함하고, 제2의, 억제제 LBD는 $V\beta$ 단독 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD는 $V\beta$ 단독 도메인을 포함하고, 제2의, 억제제 LBD는 ScFv 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD 및 제2의, 억제제 LBD 둘 다는 ScFv 도메인이다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD 및 제2의, 억제제 LBD 둘 다는 $V\beta$ 단독 도메인이다.

[0206] 본 개시내용의 활성인자 및/또는 억제제 수용체와 사용되는 추가 항원 결합 도메인은 하기 표 12에 기재되어 있다. 표 12에서, 각제물의 명칭은 ScFv 억제제 명칭[B]/ScFv 활성인자 명칭[A]으로 기재되어 있다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인 또는 제2 리간드 결합 도메인은 서열 번호 210, 서열 번호212, 서열 번호 214, 서열 번호216, 서열 번호 218, 서열 번호220, 서열 번호 222 또는 서열 번호224 중 어느 하나의 서열, 또는 이것과 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

표 12

추가 항원 결합 도메인 서열

<p>C-1761/C-266 (NY-ESO -1 scFv):</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIKGGGGSGGGGGGGGGGGVEQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVYDYMSWVRQAPGKLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYSYIYYMDVWGKGTITVTVSS (서열 번호 210)</p>	<p>C-1761/C-266 (NY-ESO -1 scFv) DNA 서열: 서열 번호 211</p>
<p>C-3393/C-563 (MAGE-A3 pep1):</p> <p>QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCVSGYSISSNWWGWRQPPGKLEWIGYIYSGSTYYNPSLKSRTVMSVDTSKNQFSLKLSVTAVDTAIVYCARIPFGDWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSFVTLTFGGGKVEIK (서열 번호 212)</p>	<p>C-3393/C-563 (MAGE-A3 pep1) DNA 서열: 서열 번호 213</p>
<p>C-3394/C-582 (MAGE-A3 pep1):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYITELSMHWVRQAPGKLEWVMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSDTAYMELSSLRSEDTAIVYCATDLYSSWYCAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSWASTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 214)</p>	<p>C-3394/C-582 (MAGE-A3 pep1) DNA 서열: 서열 번호 215</p>
<p>C-3390/C-2387 (HPV E6 pep1):</p> <p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARENGVVKWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 216)</p>	<p>C-3390/C-2387 (HPV E6 pep1) DNA 서열: 서열 번호 217</p>
<p>C-3391/C-1043 (HPV E6 pep1):</p> <p>EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGPTFDYAMHWVRQAPGKLEWVSGISWNSGSIYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDRGSPFYGGAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 218)</p>	<p>C-3391/C-1043 (HPV E6 pep1) DNA 서열: 서열 번호 219</p>
<p>C-2753/C-782 (HPV E7 pep2):</p> <p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKLEWVGRISKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTSYDILLNRYRWNWDFPWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 220)</p>	<p>C-2753/C-782 (HPV E7 pep2) DNA 서열: 서열 번호 221</p>
<p>C-2752/C-1511 (MAGE-A3 pep2):</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISSWVRQAPGQGLEWVGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAIVYCARDMTFMSVTLFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 222)</p>	<p>C-2752/C-1511 (MAGE-A3 pep2) DNA 서열: 서열 번호 223</p>

[0207]

<p>SASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSWPLTFGGGKVEIK (서열 번호 222)</p>	
<p>C-2300/C-2195 (KRAS G12V pep14):</p> <p>QVTLRESGPALVKPTQTLTCTCFSGFSLSTSGMVCVSWIRQPPGKALEWALALIDWDDDKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARYSDELYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSIWTSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 224)</p>	<p>C-2300/C-2195 (KRAS G12V pep14) DNA 서열: 서열 번호 225</p>

[0208]

[0209]

조작된 수용체

[0210] 본 개시내용은 본원에 기재된 제1 활성인자 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 조작된 수용체 및 제2 억제제 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 조작된 수용체를 제공한다.

[0211] 키메라 항원 수용체(CAR)

[0212] 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체 또는 제2 조작된 수용체 중 어느 하나는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체 및 제2 조작된 수용체는 키메라 항원 수용체이다. 모든 CAR 구성은 본 개시내용의 범위 내로서 고안된다.

[0213] 세포외 도메인

[0214] 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인 또는 제2 리간드 결합 도메인은 CAR의 세포외 도메인에 융합된다.

[0215] 인지 영역

[0216] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CAR은 세포외 인지 영역을 포함한다. 인지 영역의 혼입은 CAR-T 세포로부터의 사이토카인 생성에 영향을 미치고, 생체내 CAR-T 세포의 확장을 개선할 수 있다. 예시적인 인지는 IgD 및 CD8 도메인, 예를 들어 IgG1로부터 단리되거나 유래될 수 있다.

[0217] 일부 실시형태에서, 인지는 CD8 α 또는 CD28로부터 단리되거나 유래된다. 일부 실시형태에서, CD8 α 인지는 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, TTTTAPRPPTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD(서열 번호 1)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD8 α 인지는 서열 번호 1을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD8 α 인지는 본질적으로 서열 번호 1로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD8 α 인지는 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

[0218] ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGGCGCCACCATCGCGTCGCGAGCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGGC
GTGCGCGCCAGCGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGGTGGACTTCGCCTGTGAT (서열 번호 2)

[0219] 의 서열과 동일하다.

[0220] 일부 실시형태에서, CD8 α 인지는 서열 번호 2에 의해 암호화된다.

[0221] 일부 실시형태에서, CD28 인지는 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, CTIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP(서열 번호 3)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD28 인지는 서열 번호 3을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD28 인지는 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

[0222] TGTACCATTGAAGTTATGTATCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTA
TCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAAGTCCCTTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCC (서열 번호 4)

[0223] 의 서열과 동일하다.

[0224] 일부 실시형태에서, CD28 인지는 서열 번호 4에 의해 암호화된다.

[0225] 막관통 도메인

[0226] 본 개시내용의 CAR은 CAR의 세포외 도메인에 융합된 막관통 도메인을 포함하도록 설계될 수 있다. 일부 실시형태에서, CAR에서 도메인 중 하나와 자연적으로 연관된 막관통 도메인이 사용된다. 예를 들어, CD28 공자극 도메인을 포함하는 CAR은 또한 CD28 막관통 도메인을 사용할 수 있다. 일부 경우에, 막관통 도메인은 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하도록 동일한 또는 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 대한 이러한 도메인의 결합을 피하도록 아미노산 치환에 의해 선택되거나 변형될 수 있다.

[0227] 막관통 도메인은 자연 원천 또는 합성 원천 중 어느 하나로부터 유래될 수 있다. 원천이 자연이면, 도메인은 임의의 막 결합된 단백질 또는 막관통 단백질로부터 유래될 수 있다. 막관통 영역은 T 세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 사슬, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, 또는 면역글로불린, 예컨대 IgG4로부터 단리되거나 유래될 수 있다(즉, 적어도 이들의 막관통 영역(들)을 포함함). 대안적으로 막관통 도메인은 합성일 수 있고, 이 경우에 이것은 주로 류신 및 발린과 같은 소수성 잔기를 함유할 것이다. 일부 실시형태에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 트리플렛은 합성 막관

통 도메인의 각각의 말단에서 발견될 것이다. 선택적으로, 바람직하게는 2개 내지 10개의 아미노산 길이의 짧은 올리고펩타이드 또는 폴리펩타이드 링커는 CAR의 막관통 도메인과 세포질 신호전달 도메인 사이에 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 더블렛은 특히 적합한 링커를 제공한다.

[0228] 본 개시내용의 CAR의 일부 실시형태에서, CAR은 CD28 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD28 막관통 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, FWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV(서열 번호 5)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD28 막관통 도메인은 서열 번호 5를 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD28 막관통 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

TTCTGGGTGCTGGTCTGTTGTGGGGCGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACAGTGGCGCTTCATCATCTTTTG
GGTG (서열 번호 6)

[0229] 의 서열과 동일하다.
[0230]

[0231] 일부 실시형태에서, CD28 막관통 도메인은 서열 번호 6에 의해 암호화된다.

[0232] 본 개시내용의 CAR의 일부 실시형태에서, CAR은 IL-2R베타 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2R베타 막관통 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, IPWLGHLLVGLSGAFGIILVYLLI(서열 번호 7)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, IL-2R베타 막관통 도메인은 서열 번호 7을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, IL-2R베타 막관통 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

ATTCCGTGGC TCGGCCACCT CCTCGTGGGC CTCAGCGGGG CTTTGGCTT CATCATCTTA GTGTA CTGTC
TGATC (서열 번호 8)

[0233] 의 서열과 동일하다.
[0234]

[0235] 일부 실시형태에서, IL-2R베타 막관통 도메인은 서열 번호 8에 의해 암호화된다.

[0236] 세포질 도메인

[0237] 본 발명의 CAR의 세포질 도메인 또는 달리 세포내 신호전달 도메인은 CAR이 위치한 면역 세포의 정상 효과기 기능 중 적어도 하나의 활성화를 책임진다. "효과기 기능"이라는 용어는 특수 세포 기능을 지칭한다. 조절 T 세포의 효과기 기능은 예를 들어 효과기 T 세포의 유도 또는 증식의 억제 또는 하향조절을 포함한다. 이와 같이, "세포내 신호전달 도메인"이라는 용어는 효과기 기능 신호를 형질도입하고 세포가 특수 기능을 수행하도록 지시하는 단백질의 부분을 지칭한다. 보통 전체 세포내 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에 전체 도메인을 사용하는 것이 필요하지 않다. 세포내 신호전달 도메인의 절두된 부분이 사용되는 정도로, 이러한 절두된 부분은 이것이 효과기 기능 신호를 형질도입하는 한 온전한 사슬 대신에 사용될 수 있다. 일부 경우에, 다수의 세포내 도메인은 본 개시내용의 CAR-T 세포의 원하는 기능을 달성하도록 조합될 수 있다. 세포내 신호전달 도메인이란 용어는 이와 같이 효과기 기능 신호를 형질도입하기에 충분한 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인의 임의의 절두된 부분을 포함하도록 의도된다.

[0238] 본 개시내용의 CAR에 사용하기 위한 세포내 신호전달 도메인의 예는 항원 수용체 관여 후 신호 형질도입을 개시시키도록 협동으로 작용하는 T 세포 수용체(TCR) 및 동시수용체의 세포질 서열뿐만 아니라, 이들 서열의 임의의 유도체 또는 변이체 및 동일한 기능 능력을 갖는 임의의 합성 서열을 포함한다. 따라서, 본 개시내용의 CAR의 세포내 도메인은 적어도 하나의 세포질 활성화 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 활성화 도메인은 CAR T 세포의 효과기 기능을 활성화하는 데 필요한 T 세포 수용체(TCR) 신호전달이 있다는 것을 보장한다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 세포질 활성화는 CD247 분자(CD3 ζ) 활성화 도메인, 자극 살해 면역글로불린-유사수용체(KIR) KIR2DS2 활성화 도메인, 또는 12 kDa의 DNAX-활성화 단백질(DAP12) 활성화 도메인이다. 일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나,

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG
LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

(서열 번호 9)

[0239]

의 서열과 동일하다.

[0240]

[0241]

일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 서열 번호 9를 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

AGAGTGAAGTT CAGCAGGAGCGCAGACGCCGCCGCTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCT
AGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGCGTAGAGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAAGGA
AGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAAGATAAGATGGCGGAGGCCCTACAGTGAGATTGGGATGAAA
GGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCCTTACCAGGGACTCAGTACAGCCCAAGGACACCTACGACGC
CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열 번호 10)

[0242]

의 서열과 동일하다.

[0243]

[0244]

일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 서열 번호 10에 의해 암호화된다.

[0245]

TCR 단독을 통해 생성된 신호가 대개 T 세포의 완전 활성화에 불충분하고 2차 신호 또는 공자극 신호가 또한 필요하다 고 공지되어 있다. 이와 같이, T 세포 활성화는 TCR을 통해 항원 의존적 1차 활성화를 개시시키는 것(1차 세포질 신호전달 서열) 및 2차 신호 또는 공자극 신호를 제공하는 항원 독립적 방식으로 작용하는 것(2차 세포질 신호전달 서열)의 세포질 신호전달 서열의 2개의 구별되는 종류에 의해 매개된다고 말할 수 있다.

[0246]

1차 세포질 신호전달 서열은 자극 방식 또는 억제 방식 중 어느 하나로 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절한다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포질 신호전달 서열은 번역수용체 티로신계 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호전달 모티프를 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, ITAM은 임의의 2개의 다른 아미노산 (YxxL)(서열 번호 21)에 의해 류신 또는 이소류신으로부터 분리된 티로신을 함유한다.

[0247]

일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 1개, 2개 또는 3개의 ITAM을 함유한다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 1개의 ITAM을 함유한다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 2개의 ITAM을 함유한다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 3개의 ITAM을 함유한다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 4개의 ITAM을 함유한다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 5개의 ITAM을 함유한다.

[0248]

일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 CD3 ζ 활성화 도메인이다. 일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 단일 ITAM을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 2개의 ITAM을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 3개의 ITAM을 포함한다.

[0249]

일부 실시형태에서, 단일 ITAM을 포함하는 CD3 ζ 활성화 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLHMQUALPPR(서열 번호 11)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 서열 번호 11을 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 ITAM을 포함하는 CD3 ζ 활성화 도메인은 RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLHMQUALPPR(서열 번호 11)의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 단일 ITAM을 포함하는 CD3 ζ 활성화 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

AGAGTGAAGT TCAGCAGGAG CGCAGACGCC CCCGCTACC AGCAGGGCCA GAACCAGCTC
TATAACGAGC TCAATCTAGG ACGAAGAGAG GAGTACGATG TTTTGCACAT GCAGGCCCTG
CCCCCTCGC (서열 번호 12)

[0250]

의 서열과 동일하다.

[0251]

[0252]

일부 실시형태에서, CD3 ζ 활성화 도메인은 서열 번호 12에 의해 암호화된다.

[0253]

본 개시내용의 CAR에 사용될 수 있는 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 추가의 예는 TCR ζ , FcR γ , FcR β , CD3 γ , CD3 δ , CD3 ϵ , CD3 ζ , CD5, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d로부터 유래된 것을 포함한다. 본 발명

의 CAR에서의 세포질 신호전달 분자가 CD3 ζ 로부터 유래된 세포질 신호전달 서열을 포함하는 것이 특히 바람직하다.

[0254] 공자극 도메인

[0255] 일부 실시형태에서, CAR의 세포질 도메인은 CD3 ζ 신호전달 도메인을 홀로 함유하도록 설계되거나 본 개시내용의 CAR의 맥락에서 유용한 임의의 다른 원하는 세포질 도메인(들)과 조합될 수 있다. 예를 들어, CAR의 세포질 도메인은 CD3 ζ 사슬 부분 및 공자극 도메인을 포함할 수 있다. 공자극 도메인은 공자극 분자의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 부분을 지칭한다. 공자극 분자는 항원에 대한 림프구의 효과적인 반응에 필요한 항원 수용체 또는 이의 리간드 이외의 세포 표면 분자이다. 이러한 분자의 예는 IL-2R β , Fc 수용체 감마(FcR γ), Fc 수용체 베타(FcR β), CD3g 분자 감마(CD3 γ), CD3 δ , CD3 ϵ , CD5 분자(CD5), CD22 분자(CD22), CD79a 분자(CD79a), CD79b 분자(CD79b), 암배아 항원 관련 세포 부착 분자 3(CD66d), CD27 분자(CD27), CD28 분자(CD28), TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 9(4-1BB), TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 4(OX40), TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 8(CD30), CD40 분자(CD40), 예정 세포사1(PD-1), 유도성 T 세포 공자극(ICOS), 림프구 기능 연관 항원-1(LFA-1), CD2 분자(CD2), CD7 분자(CD7), TNF 슈퍼패밀리 구성원 14(LIGHT), 살해 세포 렉틴 유사 수용체 C2(NKG2C) 및 CD276 분자(B7-H3) c-자극 도메인, 또는 이들의 기능적 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 공자극 도메인을 포함한다.

[0256] 본 개시내용의 CAR의 세포질 신호전달 부분 내의 세포질 도메인은 랜덤 순서로 또는 규정된 순서로 서로에 연결될 수 있다. 선택적으로, 예를 들어 2개 내지 10개의 아미노산 길이의 짧은 올리고펩타이드 또는 폴리펩타이드 링커는 연결을 형성할 수 있다. 글리신-세린 더블렛은 적합한 링커의 예를 제공한다.

[0257] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CAR의 세포내 도메인은 적어도 하나의 공자극 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 공자극 도메인은 CD28로부터 단리되거나 유래된다. 일부 실시형태에서, CD28 공자극 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나,

[0258] `RSKRSRLLHSDYMNMTFRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAAYRS` (서열 번호 13)

[0259] 의 서열과 동일하다.

[0260] 일부 실시형태에서, CD28 공자극 도메인은 서열 번호 13을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD28 공자극 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

[0261] `AGGAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACATGAACATGACCCCCGGAGGCCTGGCCCCACCCGGGAGCACTACACAGCGACTACATGAACATGACCCCCGGAGGCCTGGCCCCACCCGGGAGCACTACACAGCGACTACATGAACATGACCCCCGGAGGCCTGGCCCCACCCGGGAGCA` (서열 번호 14)

[0262] 의 서열과 동일하다.

[0263] 일부 실시형태에서, CD28 공자극 도메인은 서열 번호 14에 의해 암호화된다.

[0264] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CAR의 세포내 도메인은 인터류킨-2 수용체 베타-사슬(IL-2R베타 또는 IL-2R-베타) 세포질 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, IL-2R베타 도메인은 절두된다. 일부 실시형태에서, IL-2R 베타 세포질 도메인은 하나 이상의 STAT5-동원 모티프를 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 IL-2R베타 세포질 도메인 밖의 하나 이상의 STAT5-동원 모티프를 포함한다.

[0265] 일부 실시형태에서, IL-2R베타 세포내 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나,

[0266] `NCRNTGFWLKKVLCNTPDPSKFFSOLSEHGGDVQKWLSSFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLPLNTD`
`AYLSLQELQGGDPHTLV` (서열 번호 15)

[0267] 의 서열과 동일하다.

[0268] 일부 실시형태에서, IL2R-베타 세포내 도메인은 서열 번호 15를 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, IL-2R-베타 세포내 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

```

1 AACTGCAGGA ACACCCGGGC ATGGCTGAAG AAGGTCCTGA AGTGTAAAC CCCAGACCCC
61 TCGAAGTTCT TTTCCAGCT GAGCTCAGAG CATGGAGGCG ACGTCCAGAA GTGGCTCTCT
121 TCGCCCTTCC CCTCATCGTC CTTAGCCCTT GCGGGCCTGG CACCTGAGAT CTCGCCACTA
181 GAAGTGTGG AGAGGGACAA GGTGACGCG CTGCTCCCC TGAACACTGA TGCCTACTTG
241 TCTCTCCAAG AACTCCAGGG TCAGGACCCA ACTCACTTGG TG (서열 번호 16)
    
```

[0269]

의 서열과 동일하다.

[0270]

일부 실시형태에서, IL-2R-베타 세포내 도메인은 서열 번호 16에 의해 암호화된다.

[0271]

일 실시형태에서, IL-2R-베타 세포질 도메인은 하나 이상의 STAT5-동원 모티프를 포함한다. 예시적인 STAT5-동원 모티프는 Passerini 등의 문헌(2008) STAT5-signaling cytokines regulate the expression of FOXP3 in CD4+CD25+ regulatory T cells and CD4+CD25+ effector T cells. International Immunology, Vol. 20, No. 3, pp. 421-431, 및 Kagoya 등의 문헌(2018) A novel chimeric antigen receptor containing a JAK-STAT signaling domain mediates superior antitumor effects. Nature Medicine doi:10.1038/nm.4478에 의해 제공된다.

[0272]

[0273]

일부 실시형태에서, STAT5-동원 모티프(들)는 서열 Tyr-Leu-Ser-Leu(서열 번호 17)로 이루어진다.

[0274]

억제 도메인

[0275]

일부 실시형태에서, 예를 들어 억제 신호를 제공하는 본 개시내용의 제2 조작된 수용체에서, 억제 신호는 수용체의 세포내 도메인을 통해 전달된다. 일부 실시형태에서, 조작된 수용체는 억제 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 억제 세포내 도메인을 포함하는 CAR(억제 CAR)이다.

[0276]

일부 실시형태에서, 억제 세포내 도메인은 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함한다. 일부 실시형태에서, ITIM을 포함하는 억제 세포내 도메인은 CTLA-4 및 PD-1과 같은 면역 관문 억제체로부터 단리되거나 유래될 수 있다. CTLA-4 및 PD-1은 T 세포의 표면에서 발현된 면역 억제 수용체이고, T 세포 반응을 약화시키거나 종료시키는 데 중추적 역할을 한다.

[0277]

억제 도메인은 인간 종양 괴사 인자 관련 아포토시스 유도 리간드(TRAIL: human tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand) 수용체 및 CD200 수용체 1로부터 단리될 수 있다.

[0278]

일부 실시형태에서, 억제 도메인은 세포내 도메인, 막관통 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 세포내 도메인, 막관통 도메인, 힌지 영역 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함한다. 일부 실시형태에서, ITIM을 포함하는 억제 도메인은 CTLA-4 및 PD-1과 같은 면역 관문 억제체로부터 단리되거나 유래될 수 있다.

[0279]

억제 도메인은 인간 종양 괴사 인자 관련 아포토시스 유도 리간드(TRAIL) 수용체 및 CD200 수용체 1로부터 단리될 수 있다. 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 인간 단백질, 예를 들어 인간 TRAIL 수용체, CTLA-4 또는 PD-1 단백질로부터 단리되거나 유래된다. 일부 실시형태에서, TRAIL 수용체는 TR10A, TR10B 또는 TR10D를 포함한다.

[0280]

내인성 TRAIL은 혈장 막에 앵커링되고 세포 표면에 제시된 281-아미노산 II형 막관통 단백질로서 발현된다. TRAIL은 자연 살해 세포에 의해 발현되고, 이는 세포-세포 접촉의 확립 후, 표적 세포에서 TRAIL 의존적 아포토시스를 유도할 수 있다. 생리학적으로, TRAIL 신호전달 시스템은 면역 감시에, T-헬퍼 세포 2에 대한 T-헬퍼 세포 1의 조절뿐만 아니라 "무헬프" CD8+ T 세포 수를 통해 면역계를 형성하기 위해 그리고 자발적인 종양 형성의 억제에 필수적인 것으로 나타났다.

[0281]

일부 실시형태에서, 억제 도메인은 CD200 수용체로부터 단리되거나 유래된 세포내 도메인을 포함한다. 세포 표면 당단백질 CD200 수용체 1(Uniprot 참조번호: Q8TD46)은 본 발명의 억제 세포내 도메인의 다른 예를 나타낸다. CD200/OX2 세포 표면 당단백질에 대한 이 억제 수용체는 선택된 자극에 반응하여 TNF-알파, 인터페론 및 유도성 산화질소 합성효소(iNOS: inducible nitric oxide synthase)를 포함하는 전염증성 분자의 발현을 억제함으로써 염증을 제한한다.

[0282]

일부 실시형태에서, 조작된 수용체는 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 3개의 Ig 도메인 및 긴 세포질 꼬리 2(KIR3DL2), 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 3개의 Ig 도메인 및 긴 세포질 꼬리 3(KIR3DL3), 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 B1(LIR1, LIR-1 및 LILRB1이라고도 칭함), 예정 세포사 1(PD-1), Fc 감마 수용체 IIB(FcγRIIB), 살해 세포 렉틴 유사 수용체 K1(NKG2D), 합성 일차 ITIM을 함유하는 CTLA-4, 도메인, ZAP70 SH2

도메인(예를 들어, N 말단 및 C 말단 SH2 도메인의 하나 또는 둘 다) 또는 ZAP70 KI_K369A(키나제 불활성 ZAP70)로부터 단리되거나 유래된 억제 도메인을 포함한다.

[0283] 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 인간 단백질로부터 단리되거나 유래된다.

[0284] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 수용체는 동일한 단백질, 예를 들어 ITIM 함유 단백질로부터 단리되거나 유래된 세포질 도메인 및 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 수용체는 동일한 단백질, 예를 들어 ITIM 함유 단백질로부터 단리되거나 유래된 단리되거나 유래된 세포질 도메인, 막관통 도메인 및 세포외 도메인 또는 이의 일부를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 수용체는 세포내 도메인 및/또는 막관통 도메인과 동일한 단백질, 예를 들어 ITIM 함유 단백질로부터 단리되거나 유래된 단리되거나 유래된 힌지 영역을 포함한다.

[0285] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 조작된 수용체는 억제 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 조작된 수용체는 억제 세포내 도메인 및/또는 억제 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 억제 도메인을 포함하는 CAR(억제 CAR)이다. 일부 실시형태에서, 억제 세포내 도메인은 CAR의 세포내 도메인에 융합된다. 일부 실시형태에서, 억제 세포내 도메인은 CAR의 막관통 도메인에 융합된다.

[0286] **T 세포 수용체(TCR)**

[0287] 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체 또는 제2 조작된 수용체는 T 세포 수용체(TCR)이다. 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체 및 제2 조작된 수용체는 T 세포 수용체(TCR)이다.

[0288] 본원에 사용된 것과 같이, 때때로 "TCR 복합체" 또는 "TCR/CD3 복합체"라고도 칭하는 "TCR"은 때때로 아단위라 칭하는 TCR 알파 사슬, TCR 베타 사슬 및 비변이체 CD3 사슬(제타, 감마, 델타 및 엡실론)의 하나 이상을 포함하는 단백질 복합체를 칭한다. TCR 알파 및 베타 사슬은 펩타이드-MHC 복합체에 결합하는 이중이합체로서 작용하도록 디설파이드 연결될 수 있다. TCR 알파/베타 이중이합체가 펩타이드-MHC를 관여시키면, 연관된 비변이체 CD3 아단위에서의 TCR 복합체의 구성적 변화가 유도되는데, 이는 이의 인산화 및 하류 단백질과의 연관으로 이어져서 1차 자극 신호를 전달한다. 예시적인 TCR 복합체에서, TCR 알파 및 TCR 베타 폴리펩타이드는 이중이합체를 형성하고, CD3 엡실론 및 CD3 델타는 이중이합체를 형성하고, CD3 엡실론 및 CD3 감마는 이중이합체를 형성하고, 2개의 CD3 제타는 동중이합체를 형성한다.

[0289] 세포외 도메인

[0290] 본 개시내용은 제1 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제1 조작된 수용체 및 제2 세포외 리간드 결합 도메인을 포함하는 제2 조작된 수용체를 제공한다. 제1 조작된 수용체, 제2 조작된 수용체 중 어느 하나, 또는 둘 다는 TCR일 수 있다. 임의의 적합한 리간드 결합 도메인은 본원에 기재된 조작된 TCR의 세포외 도메인, 힌지 도메인 또는 막관통에 융합될 수 있다.

[0291] 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인 및/또는 제2 리간드 결합 도메인은 TCR 아단위의 세포외 도메인에 융합된다. TCR 아단위는 TCR 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 엡실론 또는 CD3 감마일 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인 및 제2 리간드 결합 도메인 둘 다는 상이한 TCR 수용체에서 동일한 TCR 아단위에 융합된다. 일부 실시형태에서, 제1 리간드 결합 도메인 및 제2 리간드 결합 도메인은 상이한 TCR 수용체에서 상이한 TCR 아단위에 융합된다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 리간드 결합 도메인은 제1 조작된 수용체에서 제1 TCR 아단위에 융합되고, 제2의, 억제제 리간드 결합 도메인은 제2 조작된 수용체에서 제2 TCR 아단위에 융합된다. 일부 실시형태에서, 제1 TCR 아단위 및 제2 TCR 아단위는 동일한 아단위가 아니다. 일부 실시형태에서, 제1 TCR 아단위 및 제2 TCR 아단위는 동일한 아단위이다. 예를 들어, 제1 리간드 결합 도메인은 TCR 알파에 융합될 수 있고, 제2 리간드 결합 도메인은 TCR 베타에 융합될 수 있다. 추가의 예로서, 제1 리간드 결합은 TCR 베타에 융합되고, 제2 리간드 결합 도메인은 TCR 알파에 융합되도록 사용된다.

[0292] 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD는 ScFv 도메인을 포함하고, 제2의, 억제제 LBD는 V β 단독 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD는 V β 단독 도메인을 포함하고, 제2의, 억제제 LBD는 ScFv 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD 및 제2의, 억제제 LBD 둘 다는 ScFv 도메인이다. 일부 실시형태에서, 제1의, 활성인자 LBD 및 제2의, 억제제 LBD 둘 다는 V β 단독 도메인이다.

[0293] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제1 조작된 TCR은 V β 단독 도메인을 포함하는 세포외 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 하나 이상의 외인성 도메인을 포함한다.

[0294] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제1 조작된 TCR은 ScFv 도메인을 포함하는 세포외 도메인, 막관통 도메인 및

세포내 도메인을 포함하다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 하나 이상의 외인성 도메인을 포함한다.

- [0295] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제2 조작된 TCR은 V β 단독 도메인을 포함하는 세포외 도메인, 막관통 도메인 및 억제 세포내 도메인을 포함하다.
- [0296] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 제2 조작된 TCR은 ScFv 도메인을 포함하는 세포외 도메인, 막관통 도메인 및 억제 세포내 도메인을 포함하다.
- [0297] TCR 아단위는 TCR 알파, TCR 베타, CD3 제타, CD3 델타, CD3 감마 및 CD3 엡실론을 포함한다. TCR 알파, TCR 베타 사슬, CD3 감마, CD3 델타 또는 CD3 엡실론, 또는 이들의 단편 또는 유도체의 임의의 하나 이상은 본 개시내용의 자극 신호를 제공하여서 TCR 기능 및 활성을 향상시킬 수 있는 하나 이상의 도메인에 융합될 수 있다. TCR 알파, TCR 베타 사슬, CD3 감마, CD3 델타 또는 CD3 엡실론, 또는 이들의 단편 또는 유도체의 임의의 하나 이상은 본 개시내용의 억제 세포내 도메인에 융합될 수 있다.
- [0298] 일부 실시형태에서, 예를 들어 제1 조작된 수용체 또는 제2 조작된 수용체가 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는 실시형태에서, 항원 결합 도메인은 T 세포 수용체(TCR) 세포외 도메인 또는 항체로부터 단리되거나 유래된다.
- [0299] 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체 및 제2 조작된 수용체는 제1 항원 결합 도메인 및 제2 항원 결합 도메인을 포함한다. 항원 결합 도메인 또는 조작된 수용체의 도메인은 세포내 도메인과 동일한 또는 상이한 폴리펩타이드에 제공될 수 있다.
- [0300] 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체 및/또는 제2 조작된 수용체의 항원 결합 도메인은 단일 사슬 가변 단편(scFv)을 포함한다.
- [0301] 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체 및/또는 제2 조작된 수용체는 제2 폴리펩타이드를 포함한다. 본 개시내용은 각각 리간드 결합 도메인의 일부(예를 들어, 이중이합체성 LDB의 동족, 예컨대 TCR α/β 기반 LBD 또는 Fab 기반 LBD)를 갖는 2개의 폴리펩타이드를 갖는 수용체를 제공한다. 본 개시내용은 각각 리간드 결합 도메인의 일부(예를 들어, 이중이합체성 LDB의 동족, 예컨대 TCR α/β 기반 LBD 또는 Fab 기반 LBD)를 갖는 2개의 폴리펩타이드를 갖는 수용체를 추가로 제공하고, 리간드 결합 도메인의 하나의 일부는 힌지 또는 막관통 도메인에 융합되지만, 리간드 결합 도메인의 다른 일부는 세포내 도메인을 갖지 않는다. 추가의 변이는 각각의 폴리펩타이드가 힌지 도메인을 갖는 수용체, 그리고 각각의 폴리펩타이드가 힌지 및 막관통 도메인을 갖는 수용체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 도메인은 부재하다. 다른 실시형태에서, 힌지 도메인은 막 근위 세포외 영역(MPER: membrane proximal extracellular region), 예컨대 LILRB1 D3D4 도메인이다.
- [0302] 일부 실시형태에서, 예를 들어 제1 조작된 수용체 및/또는 제2 조작된 수용체가 적어도 2개의 폴리펩타이드를 포함하는 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 항체의 제1 사슬을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 상기 항체의 제2 사슬을 포함한다.
- [0303] 일부 실시형태에서, 수용체는 항체의 Fab 단편을 포함한다. 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 항체의 중쇄의 항원 결합 단편 및 세포내 도메인을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 항체의 경쇄의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 항체의 경쇄의 항원 결합 단편 및 세포내 도메인을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 항체의 중쇄의 항원 결합 단편을 포함한다.
- [0304] 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체 및/또는 제2 조작된 수용체는 T 세포 수용체(TCR)의 세포외 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 TCR의 알파 사슬의 항원 결합 단편 및 세포내 도메인을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 TCR의 베타 사슬의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 TCR의 베타 사슬의 항원 결합 단편 및 세포내 도메인을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 TCR의 알파 사슬의 항원 결합 단편을 포함한다.
- [0305] V β 단독 도메인을 포함하는 TCR
- [0306] 본 개시내용의 소정의 실시형태는 TCR 가변 도메인을 포함하는 조작된 TCR에 관한 것이고, TCR 가변 도메인은 제2 TCR 가변 도메인(V β 단독 도메인)의 부재 하에 항원에 특이적으로 결합한다.
- [0307] 일부 실시형태에서, 조작된 TCR은 추가 아미노산 서열, 추가 단백질 도메인(TCR 가변 도메인과 공유 회합된, 비공유 회합된 또는 공유로 회합되고 비공유로 회합된), TCR 가변 도메인과 다른 유형의 거대분자(예를 들어, 폴리뉴클레오타이드, 폴리사카라이드, 지질, 또는 이들의 조합)의 융합 또는 비공유 회합, TCR 가변 도메인과 하

나 이상의 소분자, 화합물 또는 리간드의 융합 또는 비공유 회합, 또는 이들의 조합을 포함하는 TCR 가변 도메인 이외의 추가 요소를 포함할 수 있다. 기재된 것과 같은 임의의 추가 요소는 조합될 수 있고, 단 TCR 가변 도메인은 제2 TCR 가변 도메인의 부재 하에 에피토프에 특이적으로 결합하도록 구성될 수 있다.

- [0308] 본원에 기재된 것과 같은 V β 단독 도메인을 포함하는 조작된 TCR은 단일 TCR 사슬(예를 들어, α , β , γ 또는 δ 사슬)을 포함할 수 있거나, 이것은 (예를 들어, α , β , γ 또는 δ 사슬의) 단일 TCR 가변 도메인을 포함할 수 있다. 조작된 TCR이 단일 TCR 사슬이면, TCR 사슬은 막관통 도메인, 불변(또는 C 도메인) 및 가변(또는 V 도메인)을 포함하고, 제2 TCR 가변 도메인을 포함하지 않는다. 조작된 TCR은 따라서 TCR α 사슬, TCR β 사슬, TCR γ 사슬 또는 TCR δ 사슬을 포함하거나 이들로 이루어질 수 있다. 조작된 TCR은 막 결합된 단백질일 수 있다. 조작된 TCR은 대안적으로 막 회합된 단백질일 수 있다.
- [0309] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 조작된 TCR은 6개의 CD3 아단위와 복합체화된 활성화-유능 TCR을 형성하는 V α 분절이 결합된 대리 α 사슬을 사용한다.
- [0310] 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 조작된 TCR은 V α 분절이 결합된 대리 α 사슬과 독립적으로 기능한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 하나 이상의 조작된 TCR은 항원에 반응하여 T 세포를 활성화할 수 있는 막관통(예를 들어, CD3 ζ 및 CD28) 및 세포내 도메인 단백질(예를 들어, CD3 ζ , CD28, 및/또는 4-1BB)에 융합된다.
- [0311] 일부 실시형태에서, 조작된 TCR은 본원에 기재된 V β 단독 도메인에 융합된 하나 이상의 단일 TCR 사슬을 포함한다. 예를 들어, 조작된 TCR은 하나 이상의 V β 단독 도메인에 융합된 단일 α TCR 사슬, 단일 β TCR 사슬, 단일 γ TCR 사슬 또는 단일 δ TCR 사슬을 포함하거나 본질적으로 이들로 이루어질 수 있다.
- [0312] 일부 실시형태에서, 조작된 TCR은 상보성 결정 영역(CDR)을 사용하여 항원을 관여시킨다. 각각의 조작된 TCR은 3개의 보체 결정 영역(CDR1, CDR2 및 CDR3)을 함유한다.
- [0313] 제1 및/또는 제2 리간드 결합 V β 단독 도메인은 인간 TCR 가변 도메인일 수 있다. 대안적으로, 제1 및/또는 제2 V β 단독 도메인은 비인간 TCR 가변 도메인일 수 있다. 제1 및/또는 제2 V β 단독 도메인은 포유류 TCR 가변 도메인일 수 있다. 제1 및/또는 제2 V β 단독 도메인은 척추동물 TCR 가변 도메인일 수 있다.
- [0314] 실시형태에서, V β 단독 도메인은 융합 단백질, 예를 들어 TCR 아단위, 및 선택적으로, 추가 자극 세포내 도메인을 포함하는 융합 단백질로 혼입된다. 융합 단백질은 V β 단독 도메인 및 임의의 다른 단백질 도메인 또는 도메인들을 포함할 수 있다.
- [0315] 막관통 도메인
- [0316] 본 개시내용은 제1의, 활성인자 LBD를 포함하는 제1 융합 단백질 및 제2의, 억제제 LBD 및 억제제 세포내 도메인을 포함하는 제2 융합 단백질을 제공한다. 일부 실시형태에서, 제1 융합 단백질 및 제2 융합 단백질은 막관통 도메인을 포함한다.
- [0317] 본 개시내용은 막관통 도메인, 및 자극 신호 또는 억제 신호를 제공할 수 있는 세포내 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 제공한다. 일부 실시형태에서, 조작된 TCR은 자극 신호를 제공할 수 있는 다수의 세포내 도메인을 포함한다.
- [0318] 본원에 사용된 것과 같이, "막관통 도메인"은 세포의 막에 걸친 단백질의 도메인을 지칭한다. 막관통 도메인은 통상적으로 주로 비극성 아미노산으로 이루어지고, 1회 또는 수회 지질 이중층을 횡단할 수 있다. 막관통 도메인은 보통 내부 수소 결합을 최대화하는 구성인 알파 나선을 포함한다.
- [0319] 임의의 원천으로부터 단리되거나 유래된 막관통 도메인은 본 개시내용의 융합 단백질의 범위 내로서 고안된다.
- [0320] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 융합 단백질의 다른 도메인의 하나와 연관되거나, 융합 단백질의 다른 도메인 중 하나와 동일한 단백질로부터 단리되거나 유래된 것이다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인 및 제2 세포내 도메인은 동일한 단백질, 예를 들어 TCR 복합체 아단위, 예컨대 TCR 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 엡실론 또는 CD3 감마 유래이다. 일부 실시형태에서, 세포외 도메인(svd-TCR), 막관통 도메인 및 제2 세포내 도메인은 동일한 단백질, 예를 들어 TCR 복합체 아단위, 예컨대 TCR 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 엡실론 또는 CD3 감마 유래이다. 다른 실시형태에서, 세포외 도메인(하나 이상의 리간드 결합 도메인, 예컨대 V β 단독 도메인 및 ScFv 도메인을 포함), 막관통 도메인 및 세포내 도메인(들)은 상이한 단백질 유래이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 조작된 svd-TCR은 CD28 막관통 도메인을 CD28, 4-1BB 및 CD3 ζ 세포내 도메인과 함께 포함한다.

[0321] 막관통 도메인은 자연 또는 재조합 원천 중 어느 하나로부터 유래될 수 있다. 원천이 자연이면, 도메인은 임의의 막 결합된 단백질 또는 막관통 단백질로부터 유래될 수 있다.

[0322] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 TCR 복합체가 표적에 결합될 때마다 세포내 도메인(들)에 신호전달을 할 수 있다. 본 발명에서 특별히 사용되는 막관통 도메인은 예를 들어 TCR의 알파, 베타 또는 제타 사슬, CD3 델타, CD3 엡실론 또는 CD3 감마, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154의 막관통 영역(들)을 적어도 포함할 수 있다.

[0323] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 힌지, 예를 들어 인간 단백질로부터의 힌지를 통해 용합 단백질의 세포외 영역, 예를 들어 TCR 알파 또는 베타 사슬의 항원 결합 도메인에 부착될 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 힌지는 인간 면역글로불린 (Ig) 힌지, 예를 들어 IgG4 힌지 또는 CD8a 힌지일 수 있다.

[0324] 일부 실시형태에서, 힌지는 CD8 α 또는 CD28로부터 단리되거나 유래된다. 일부 실시형태에서, CD8 α 힌지는 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, TTTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD(서열 번호 1)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD8 α 힌지는 서열 번호 1을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD8 α 힌지는 본질적으로 서열 번호 1로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD8 α 힌지는 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

[0325] `ACCACGACGCCAGCGCGCGACACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCGAGCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGC`
`GTGCCGGCCAGCGCGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCCTGTGAT (서열 번호 2)` 의 서열과 동일하다.

[0326] 일부 실시형태에서, CD8 α 힌지는 서열 번호 2에 의해 암호화된다.

[0327] 일부 실시형태에서, CD28 힌지는 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, CTIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP(서열 번호 3)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD28 힌지는 서열 번호 3을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD28 힌지는 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되거나,

[0328] `TGTACCATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTTCCATGTGAAAGG`
`GAAACACCTTTTGTCCAAGTCCCTATTTCCGGGACCTTCTAAGCCC (서열 번호 4)`

[0329] 의 서열과 동일하다.

[0330] 일부 실시형태에서, CD28 힌지는 서열 번호 4에 의해 암호화된다.

[0331] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 TCR 알파 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, TCR 알파 막관통 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, VIGFRILLKLVAGFNLLMLRLW(서열 번호 26)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, TCR 알파 막관통 도메인은 서열 번호 26을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, TCR 알파 막관통 도메인은

[0332] `GTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGG (서열 번호 27)`

[0333] 의 서열에 의해 암호화된다.

[0334] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 TCR 베타 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, TCR 베타 막관통 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, TILYEILLGKATLYAVLVSALVL(서열 번호 28)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, TCR 베타 막관통 도메인은 서열 번호 28을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, TCR 베타 막관통 도메인은

[0335] `ACCATCCTCTATGAGATCTTGTAGGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGCTGCTGGTCACTGCCCTCCTGCTG (서열 번호 28)`

[0336] 의 서열에 의해 암호화된다.

[0337] 일부 실시형태에서, 막관통은 CD3 제타 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 제타 막관통 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일

성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, LCYLLDGILFIYGVILTALFL(서열 번호 29)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD3 제타 막관통 도메인은 서열 번호 29를 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.

- [0338] 막관통 도메인은 막관통 영역에 인접한 하나 이상의 추가 아미노산, 예를 들어 막관통이 유래된 단백질의 세포 외 영역과 연관된 하나 이상의 아미노산(예를 들어, 세포외 영역의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 15개 이하의 아미노산) 및/또는 막관통 단백질이 유래된 단백질의 세포내 영역과 연관된 하나 이상의 추가 아미노산(예를 들어, 세포내 영역의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 15개 이하의 아미노산)을 포함할 수 있다.
- [0339] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 예를 들어 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하도록 동일한 또는 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 대한 이러한 도메인의 결합을 피하도록 아미노산 치환에 의해 선택되거나 변형될 수 있다.
- [0340] 막관통 도메인은 존재할 때 자연 TCR 막관통 도메인, 이중성 막 단백질로부터의 자연 막관통 도메인, 또는 인공 막관통 도메인일 수 있다. 막관통 도메인은 막 앵커 도메인일 수 있다. 제한 없이, 자연 또는 인공 막관통 도메인은 대개 막관통 분절을 플랭킹하는 양전하를 갖는 약 20개의 아미노산의 소수성 α-나선을 포함할 수 있다. 막관통 도메인은 1개의 막관통 분절 또는 1개 초과개의 막관통 분절을 가질 수 있다. 공공으로 이용 가능한 예측 도구를 사용하여 막관통 도메인/분절의 예측이 이루어질 수 있다(예를 들어, TMHMM, Krogh 등 Journal of Molecular Biology 2001 ; 305(3):567-580; 또는 TMpred, Hofmann & Stoffel Biol. Chem. Hoppe-Seyler 1993; 347: 166). 막 앵커 시스템의 비제한적인 예는 혈소판 유래 성장 인자 수용체(PDGFR) 막관통 도메인, 글리코실 포스파티딜이노시톨(GPI) 앵커(신호 서열에 번역후 첨가됨) 및 기타를 포함한다.
- [0341] 세포내 도메인
- [0342] 본 개시내용은 세포내 도메인을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. "세포내 도메인"은, 그 용어가 본원에 사용되면서, 단백질의 세포내 부분을 지칭한다.
- [0343] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 막관통 도메인에 자극 신호를 제공할 수 있는 하나 이상의 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 자극 신호를 제공할 수 있는 제1 세포내 도메인 및 자극 신호를 제공할 수 있는 제2 세포내 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에서, 세포내 도메인은 자극 신호를 제공할 수 있는 제1 세포내 도메인, 제2 세포내 도메인 및 제3 세포내 도메인을 포함한다. 자극 신호를 제공할 수 있는 세포내 도메인은 CD28 분자(CD28) 도메인, LCK 프로토-중양유전자, Src 패밀리의 티로신 키나제(Lck) 도메인, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 9(4-1BB) 도메인, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 18(GITR) 도메인, CD4 분자(CD4) 도메인, CD8a 분자(CD8a) 도메인, FYN 프로토-중양유전자, Src 패밀리의 티로신 키나제(Fyn) 도메인, T 세포 수용체 연관된 단백질 키나제 70의 체타 사슬(ZAP70) 도메인, T 세포의 활성화를 위한 링커(LAT) 도메인, 림프구 시토줄 단백질 2(SLP76) 도메인, (TCR) 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 감마 및 CD3 엡실론 세포내 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0344] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 신호전달 도메인은 세포의 기능, 예를 들어 TCR 함유 세포, 예를 들어 TCR 발현 T 세포의 면역 효과기 기능을 촉진하는 신호를 생성한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 융합 단백질의 세포내 도메인은 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 예를 들어, CD3 감마, 델타 또는 엡실론의 세포내 도메인은 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0345] 일부 실시형태에서, 세포외 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 도메인은 동일한 단백질, 예를 들어 T 세포 수용체(TCR) 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 감마 또는 CD3 엡실론으로부터 단리되거나 유래된다.
- [0346] 본 개시내용의 융합 단백질에 사용하기 위한 세포내 도메인의 예는 TCR 알파, TCR 베타, CD3 제타 및 4-1BB, 및 항원 수용체 관여 후 신호 형질도입을 개시시키도록 협동으로 작용하는 세포내 신호전달 동시수용체의 세포질 서열뿐만 아니라, 이들 서열의 임의의 유도체 또는 변이체 및 동일한 기능적 능력을 갖는 임의의 재조합 서열을 포함한다.
- [0347] 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 예시적인 1차 세포내 신호전달 도메인은 1차 자극 또는 항원 의존적 자극을 담당하는 단백질로부터 유래된 것을 포함한다.
- [0348] 세포내 신호전달 도메인은 일반적으로 융합 단백질이 도입된 면역 세포의 정상 효과기 기능 중 적어도 하나의

활성화를 담당한다. "효과기 기능"이라는 용어는 특수 세포 기능을 지칭한다. T 세포의 효과기 기능은 예를 들어 사이토카인의 분비를 포함하는 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다. 이와 같이, "세포내 신호전달 도메인"이라는 용어는 효과기 기능 신호를 전달하고 세포가 특수 기능을 수행하도록 지시하는 단백질의 부분을 지칭한다.

[0349] 일부 경우에 전체 세포내 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에 전체 세포내 신호전달 도메인을 사용하는 것이 필요하지 않다. 세포내 신호전달 도메인의 절두된 부분이 사용되는 정도로, 이러한 절두된 부분은 이것이 효과기 기능 신호를 전달하는 한 온전한 사슬 대신에 사용될 수 있다. 세포내 신호전달 도메인이란 용어는 이와 같이 효과기 기능 신호를 전달하기에 충분한 세포내 신호전달 도메인의 임의의 절두된 부분을 포함하도록 의도된다.

[0350] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 CD3 델타 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 델타 세포내 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나,

```
GHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNKGGSRKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYP
YAPPRDFAAYRS (서열 번호 30)
```

[0351]

[0352] 의 서열과 동일하다.

[0353] 일부 실시형태에서, CD3 델타 세포내 도메인은 서열 번호 30을 포함하거나 이것로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD3 델타 세포내 도메인은

```
1 GGACATGAGA CTGGAAGGCT GTCTGGGGCT GCCGACACAC AAGCTCTGTT GAGGAATGAC
61 CAGGTCTATC AGCCCCCTCCG AGATCGAGAT GATGCTCAGT ACAGCCACCT TGGAGGAAAC
121 TGGGCTCGGA ACAAGGGCGG AAGCAGGAGC AAGCGGAGCA GACTGCTGCA CAGCGACTAC
181 ATGAACATGA CCCCCCGGAG GCCTGGCCCC ACCCGGAAGC ACTACCAGCC CTACGCCCTT
241 CCCAGGGATT TCGCCGCCTA CCGGAGCTA (서열 번호 31)
```

[0354]

[0355] 의 서열에 의해 암호화된다.

[0356] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 CD3 엡실론 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 엡실론 세포내 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, KNRKAKAKPVTGAGAGGRQGRQNKERPPVNPDPYEP IRKGQRDLYSGLNQRRI GGSRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (서열 번호 32)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD3 엡실론 세포내 도메인은 서열 번호 32를 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD3 엡실론 세포내 도메인은

```
1 AAGAATAGAA AGGCCAAGGC CAAGCCTGTG ACACGAGGAG CGGCTGCTGG CGGCAGGCAA
61 AGGGGACAAA ACAAGGAGAG GCCACCACCT GTTCCCAACC CAGACTATGA GCCCATCCGG
121 AAAGGCCAGC GGGACCTGTA TTCTGGCCTG AATCAGCGCA GAATCGGCGG AAGCAGGAGC
181 AAGCGGAGCA GACTGCTGCA CAGCGACTAC ATGAACATGA CCCCCCGGAG GCCTGGCCCC
241 ACCCGGAAGC ACTACCAGCC CTACGCCCTT CCCAGGGATT TCGCCGCCTA CCGGAGCTAG
```

[0357] (서열 번호 19)

[0358] 의 서열에 의해 암호화된다.

[0359] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 CD3 감마 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 감마 세포내 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나,

```
GQDGVVRQSRASDKQTLFLNDQLYQFLKREDDQYSHLQGNQLRRNGGSRKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYP
YAPPRDFAAYRS (서열 번호 33)
```

[0360]

[0361] 의 서열과 동일하다.

[0362] 일부 실시형태에서, CD3 감마 세포내 도메인은 서열 번호 33을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD3 감마 세포내 도메인은

1 GGACAGGATG GAGTTCGCCA GTCGAGAGCT TCAGACAAGC AGACTCTGTT GCCCAATGAC
 61 CAGCTCTACC AGCCCTCAA GGATCGAGAA GATGACCAGT ACAGCCACCT TCAAGGAAAC
 121 CAGTTGAGGA GGAATGCCGG AAGCAGGAGC AAGCGGAGCA GACTGCTGCA CAGCGACTAC
 181 ATGAACATGA CCCCCCGAG GCCTGGCCCC ACCCGGAAGC ACTACCAGCC CTACGCCCT
 241 CCCAGGATT TCGCCGCCTA CCGGAGCTAG (서열 번호 22)

[0363]

[0364]

[0365]

[0366]

[0367]

[0368]

[0369]

[0370]

[0371]

[0372]

[0373]

[0374]

[0375]

의 서열에 의해 암호화된다.

일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 CD3 제타 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 제타 세포내 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, RVKFSRSADAPAYKQGQNLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGQLSTATKDTYDALHMQUALPPR(서열 번호 9)의 서열 또는 이의 하위서열과 동일하다.

일부 실시형태에서, CD3 제타 세포내 도메인은 서열 번호 9를 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.

일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 TCR 알파 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, TCR 알파 세포내 도메인은 Ser-Ser을 포함한다. 일부 실시형태에서, TCR 알파 세포내 도메인은 TCCAGC의 서열에 의해 암호화된다.

일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 TCR 베타 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, TCR 베타 세포내 도메인은 적어도 80%의 동일성, 적어도 90%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, MAMVKRKDSR(서열 번호 35)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, TCR 베타 세포내 도메인은 서열 번호 35를 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, TCR 베타 세포내 도메인은

ATGGCCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGA (서열 번호 36)

의 서열에 의해 암호화된다.

일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 적어도 하나의 자극 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인, 예컨대 CD3 델타, CD3 감마 및 CD3 엡실론 세포내 도메인, 및 1개의 추가 자극 세포내 도메인, 예를 들어 공자극 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인, 예컨대 CD3 델타, CD3 감마 및 CD3 엡실론 세포내 도메인, 및 2개의 추가 자극 세포내 도메인을 포함한다.

예시적인 공자극 세포내 신호전달 도메인은 공자극 신호 또는 항원 독립적 자극을 담당하는 단백질로부터 유래된 것을 포함한다.

"공자극 분자"라는 용어는 공자극 리간드와 특이적으로 결합하여서 비제한적인 예로서 증식과 같은 T 세포에 의한 공자극 반응을 매개하는 T 세포 상에서의 동족 결합 파트너를 지칭한다. 공자극 분자는 항원 수용체 이외의 세포 표면 분자이다. 공자극 분자 및 이의 리간드는 효과적인 면역 반응에 필요하다. 공자극 분자는 MHC 클래스 I 분자, BTLA, 톨 리간드 수용체(Toll ligand receptor)뿐만 아니라 DAP10, DAP12, CD30, LIGHT, OX40, CD2, CD27, CD30, ICAM-1, LFA-1(CD11a/CD18) 4-1BB(CD137, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 9) 및 CD28 분자(CD28)를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

"공자극 세포내 신호전달 도메인"이라 때때로 칭하는 "공자극 도메인"은 공자극 단백질의 세포내 부분일 수 있다. 공자극 도메인은 공자극 신호를 전달하는 공자극 단백질의 도메인일 수 있다. 공자극 단백질은 TNF 수용체 단백질, 면역글로불린 유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구용해 활성화 분자(SLAM 단백질) 및 활성화 NK 세포 수용체의 단백질 패밀리에서 표시될 수 있다. 이러한 분자의 예는 CD27, CD28, 4-1BB(CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFRR, HVEM, 림프구 기능 연관 항원-1(LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, Nkp80, CD160, B7-H3, CD83, CD4 및 기타와 특이적으로 결합하는 리간드를 포함한다. 공자극 도메인은 이것이 유래된 분자의 전체 세포내 부분 또는 전체 자연적 세포내 신호전달 도메인, 또는 이의 기능적 단편을 포함할 수 있다.

일부 실시형태에서, 자극 도메인은 공자극 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 공자극 도메인은 CD28 또는 4-1BB 공자극 도메인을 포함한다. CD28 및 4-1BB는 전체 T 세포 활성화에 필요하고 T 세포 효과기 기능을 향상시키는 것으로 공지된 잘 규명된 공자극 분자이다. 예를 들어, CD28 및 4-1BB는 오직 CD3 제타 신호전달 도메인

을 함유하는 제1 세대 CAR에 비해 사이토카인 방출, 세포용해 기능 및 지속성을 부스팅하기 위해 키메라 항원 수용체(CAR)에 사용되었다. 마찬가지로, 조작된 TCR에서의 공자극 도메인, 예를 들어 CD28 및 4-1BB 도메인의 포함은 T 세포 효과기 기능을 증가시키고 특이적으로 공자극 리간드의 부재 하에 동시자극이 가능하게 할 수 있고, 이는 통상적으로 종양 세포의 표면에서 하향조절된다.

[0376] 일부 실시형태에서, 자극 도메인은 CD28 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD28 세포내 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS(서열 번호 37)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, CD28 세포내 도메인은 RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS(서열 번호 37)를 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, CD28 세포내 도메인은

AGGAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCGCAGCGACTACATGAACATGACCCCCGGAGGCCTGGCCCCACCCGGAGCA
CTACCAGCCCTACGCCCTCCAGGGATTTCGCGGCTACCCGGAGC (서열 번호 38)

[0377] 를 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다.

[0378]

[0379] 일부 실시형태에서, 자극 도메인은 4-1BB 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 4-1BB 세포내 도메인은 적어도 85%의 동일성, 적어도 90%의 동일성, 적어도 95%의 동일성, 적어도 96%의 동일성, 적어도 97%의 동일성, 적어도 98%의 동일성, 적어도 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나, KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(서열 번호 39)의 서열과 동일하다. 일부 실시형태에서, 4-1BB 세포내 도메인은 KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(서열 번호 39)을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 4-1BB 세포내 도메인은 AAACGGGGCAAGAAACTCCTGTATATATCAACAACCATTTATGAGGCCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTCCAGAA GAAGAAGAAGGAGGATGTGAAGT(서열 번호 40)를 포함하는 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다.

[0380] 억제 도메인

[0381] 본 개시내용은 억제 TCR을 생성하기 위해 임의의 TCR 아단위의 막관통 도메인 또는 세포내 도메인에 융합될 수 있는 억제 세포내 도메인을 제공한다.

[0382] 일부 실시형태에서, 억제 세포내 도메인은 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함한다. 일부 실시형태에서, ITIM을 포함하는 억제 세포내 도메인은 CTLA-4 및 PD-1과 같은 면역 관문 억제제로부터 단리되거나 유래될 수 있다. CTLA-4 및 PD-1은 T 세포의 표면에서 발견된 면역 억제 수용체이고, T 세포 반응을 약화시키거나 종료시키는 데 중추적 역할을 한다.

[0383] 억제 도메인은 인간 종양 괴사 인자 관련 아포토시스 유도 리간드(TRAIL) 수용체 및 CD200 수용체 1로부터 단리될 수 있다.

[0384] 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 세포내 도메인, 막관통 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 세포내 도메인, 막관통 도메인, 힌지 영역 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함한다. 일부 실시형태에서, ITIM을 포함하는 억제 도메인은 CTLA-4 및 PD-1과 같은 면역 관문 억제제로부터 단리되거나 유래될 수 있다.

[0385] 억제 도메인은 인간 종양 괴사 인자 관련 아포토시스 유도 리간드(TRAIL) 수용체 및 CD200 수용체 1로부터 단리될 수 있다. 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 인간 단백질, 예를 들어 인간 TRAIL 수용체, CTLA-4 또는 PD-1 단백질로부터 단리되거나 유래된다. 일부 실시형태에서, TRAIL 수용체는 TR10A, TR10B 또는 TR10D를 포함한다.

[0386] 내인성 TRAIL은 혈장 막에 앵커링되고 세포 표면에 제시된 281-아미노산 II형 막관통 단백질로서 발견된다. TRAIL은 자연 살해 세포에 의해 발견되고, 이는 세포-세포 접촉의 확립 후, 표적 세포에서 TRAIL 의존적 아포토시스를 유도할 수 있다. 생리학적으로, TRAIL 신호전달 시스템은 면역 감시에, T-헬퍼 세포 2에 대한 T-헬퍼 세포 1의 조절뿐만 아니라 "무헬프" CD8+ T 세포 수를 통해 면역계를 형성하기 위해 그리고 자발적인 종양 형성의 억제에 필수적인 것으로 나타났다.

[0387] 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 CD200 수용체로부터 단리되거나 유래된 세포내 도메인을 포함한다. 세포 표면 당단백질 CD200 수용체 1(Uniprot 참조번호: Q8TD46)은 본 발명의 억제 세포내 도메인의 다른 예를 나타낸다. CD200/OX2 세포 표면 당단백질에 대한 이 억제 수용체는 선택된 자극에 반응하여 TNF-알파, 인터페론

및 유도성 산화질소 합성효소(iNOS)를 포함하는 전염증성 분자의 발현을 억제함으로써 염증을 제한한다.

- [0388] 일부 실시형태에서, 조작된 수용체는 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 3개의 Ig 도메인 및 긴 세포질 꼬리 2(KIR3DL2), 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 3개의 Ig 도메인 및 긴 세포질 꼬리 3(KIR3DL3), 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 B1(LIR1), 예정 세포사 1(PD-1), Fc 감마 수용체 IIB(FcγRIIB), 살해 세포 력틴 유사 수용체 K1(NKG2D), 합성 일치 ITIM을 함유하는 CTLA-4, 도메인, ZAP70 SH2 도메인(예를 들어, N 말단 및 C 말단 SH2 도메인의 하나 또는 둘 다) 또는 ZAP70 KI_K369A(키나제 불활성 ZAP70)로부터 단리되거나 유래된 억제 도메인을 포함한다.
- [0389] 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 인간 단백질로부터 단리되거나 유래된다.
- [0390] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 수용체는 동일한 단백질, 예를 들어 ITIM 함유 단백질로부터 단리되거나 유래된 세포질 도메인 및 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 수용체는 동일한 단백질, 예를 들어 ITIM 함유 단백질로부터 단리되거나 유래된 단리되거나 유래된 세포질 도메인, 막관통 도메인 및 세포 외 도메인 또는 이의 일부를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 수용체는 세포내 도메인 및/또는 막관통 도메인과 동일한 단백질, 예를 들어 ITIM 함유 단백질로부터 단리되거나 유래된 단리되거나 유래된 힌지 영역을 포함한다.
- [0391] 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 억제 도메인을 포함하는 TCR(억제 TCR)이다. 일부 실시형태에서, 억제 TCR은 억제 세포내 도메인 및/또는 억제 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 세포내 도메인은 TCR 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 감마 또는 CD3 엡실론의 세포내 도메인 또는 TCR의 이의 일부에 융합된다. 일부 실시형태에서, 억제 세포내 도메인은 TCR 알파, TCR 베타, CD3 델타, CD3 감마 또는 CD3 엡실론의 막관통 도메인에 융합된다.
- [0392] 일부 실시형태에서, 제2 조작된 수용체는 억제 도메인을 포함하는 TCR(억제 TCR)이다. 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 LILRB1로부터 단리되거나 유래된다.
- [0393] LILRB1 억제 수용체
- [0394] 본 개시내용은 LILRB1 억제 도메인, 및 선택적으로, LILRB1 막관통 및/또는 힌지 도메인, 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는 제2의, 억제 수용체를 제공한다. 억제 수용체에서의 LILRB1 막관통 도메인 및/또는 LILRB1 힌지 도메인의 포함은 다른 막관통 도메인 또는 다른 힌지 도메인을 갖는 기준 억제 수용체와 비교하여 억제 수용체에 의해 생성된 억제 신호를 증가시킬 수 있다. LILRB1 억제 도메인을 포함하는 제2의, 억제 수용체는 본원에 기재된 것과 같은 CAR 또는 TCR일 수 있다. 본원에 기재된 것과 같은 임의의 적합한 리간드 결합 도메인은 LILRB1 기반 제2의, 억제 수용체에 융합될 수 있다.
- [0395] 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 B1뿐만 아니라 ILT2, LIR1, MIR7, PIRB, CD85J, ILT-2 LIR-1, MIR-7 및 PIR-B로도 공지된 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 하위패밀리 B 구성원 1(LILRB1)은 백혈구 면역글로불린 유사 수용체(LIR) 패밀리의 구성원이다. LILRB1 단백질은 LIR 수용체의 하위패밀리 B 클래스에 속한다. 이들 수용체는 2개 내지 4개의 세포외 면역글로불린 도메인, 막관통 도메인, 및 2개 내지 4개의 세포질 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 함유한다. LILRB1 수용체는 면역 세포에서 발현되고, 여기서 이것은 항원 제시 세포에서 MHC 클래스 I 분자에 결합하고 면역 반응의 자극을 억제하는 음성 신호를 전달한다. LILRB1은 염증 반응뿐만 아니라 세포독성을 조절하고, 제한하는 자가-반응성에서 역할을 하는 것으로 생각된다. LILRB1의 상이한 이소형을 암호화하는 다수의 전사체 변이체가 존재하고, 이들의 모두는 본 개시내용의 범위 내로서 고려된다.
- [0396] 본원에 기재된 억제 수용체의 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1로부터 단리되거나 유래된 하나 이상의 도메인을 포함한다. LILRB1로부터 단리되거나 유래된 하나 이상의 도메인을 갖는 수용체의 일부 실시형태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열 번호 65의 서열 또는 하위서열과 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%이거나 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열 번호 65의 서열 또는 하위서열과 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 동일한 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 실시형태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열 번호 65의 서열 또는 하위서열과 동일한 아미노산 서열로 이루어진다.
- [0397] LILRB1로부터 단리되거나 유래된 하나 이상의 도메인을 갖는 수용체의 일부 실시형태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열 번호 66의 서열 또는 하위서열과 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도

97%, 적어도 98%, 적어도 99%이거나 동일한 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다.

- [0398] LILRB1의 하나 이상의 도메인을 갖는 수용체의 일부 실시형태에서, LILRB1의 하나 이상의 도메인은 서열 번호 66의 서열 또는 하위서열과 동일한 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다.
- [0399] 다양한 실시형태에서, 폴리펩타이드를 포함하는 억제 수용체가 제공되고, 폴리펩타이드는 하기 중 하나 이상을 포함한다: LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체; LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체; 및 LILRB1 세포내 도메인 또는 적어도 1개 또는 적어도 2개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인, 여기서 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTAAEV(서열 번호 68), VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0400] 본원에 사용된 것과 같이 "면역수용체 티로신계 억제 모티프" 또는 "ITIM"은 면역계의 많은 억제 수용체의 세포질 꼬리에서 발견되는 S/I/V/LxYxxI/V/L의 일치 서열을 갖는 아미노산의 보존된 서열(서열 번호 274) 또는 기타를 지칭한다. ITIM 보유 억제 수용체가 이의 리간드와 상호작용한 후, ITIM 모티프는 인산화되어서, 억제 수용체가 다른 효소, 예컨대 포스포티로신 포스파타제 SHP-1 및 SHP-2, 또는 SHIP라 불리는 이노시톨-포스파타제를 동원하게 한다.
- [0401] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 적어도 1개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM), 적어도 2개의 ITIM, 적어도 3개의 ITIM, 적어도 4개의 ITIM, 적어도 5개의 ITIM 또는 적어도 6개의 ITIM을 포함하는 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 ITIM을 갖는다.
- [0402] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 NLYAAV(서열 번호 67), VTAAEV(서열 번호 68), VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로 이루어진 ITIM의 군으로부터 선택된 적어도 하나의 ITIM을 포함하는 세포내 도메인을 포함한다.
- [0403] 추가의 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드는 적어도 2개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인을 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTAAEV(서열 번호 68), VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0404] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 ITIM NLYAAV(서열 번호 67) 및 VTAAEV(서열 번호 68) 둘 다를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 71과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 71과 동일한 서열을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.
- [0405] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 ITIM VTAAEV(서열 번호 68) 및 VTAAQL(서열 번호 69) 둘 다를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 72와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 72와 동일한 서열을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.
- [0406] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 ITIM VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70) 둘 다를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 73과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 73과 동일한 서열을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.
- [0407] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 ITIM NLYAAV(서열 번호 67), VTAAEV(서열 번호 68) 및 VTAAQL(서열 번호 69)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 74와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 74와 동일한 서열을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.
- [0408] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 ITIM VTAAEV(서열 번호 68), VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 75와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 75와 동일한 서열을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.
- [0409] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 ITIM NLYAAV(서열 번호 67), VTAAEV(서열 번호 68), VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)을 포함한다. 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 76과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 서열 번호 76과 동일한 서열을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.
- [0410] 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 LILRB1 세포내 도메인과 적어도 95% 동일한 서열(서열 번호 81)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 도메인은 LILRB1 세포내 도메인(서열 번호 81)과 동일한 서열을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.
- [0411] 본 개시내용의 LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 4개, 적어도

4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개 또는 적어도 8개의 ITIM을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, LILRB1 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 ITIM을 갖는다.

- [0412] 특정 실시형태에서, 세포내 도메인은 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTYAEV(서열 번호 68), VTYAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0413] 특정 실시형태에서, 세포내 도메인은 적어도 3개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTYAEV(서열 번호 68), VTYAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0414] 특정 실시형태에서, 세포내 도메인은 3개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTYAEV(서열 번호 68), VTYAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0415] 특정 실시형태에서, 세포내 도메인은 4개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTYAEV(서열 번호 68), VTYAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0416] 특정 실시형태에서, 세포내 도메인은 5개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTYAEV(서열 번호 68), VTYAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0417] 특정 실시형태에서, 세포내 도메인은 6개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTYAEV(서열 번호 68), VTYAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0418] 특정 실시형태에서, 세포내 도메인은 적어도 7개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTYAEV(서열 번호 68), VTYAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0419] LILRB1 단백질은 D1, D2, D3 및 D4라 칭하는 4개의 면역글로불린(Ig) 유사 도메인을 갖는다. 일부 실시형태에서, LILRB1 힌지 도메인은 LILRB1 D3D4 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 D3D4 도메인은 서열 번호 77과 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 D3D4 도메인은 서열 번호 77을 포함하거나 이것으로 본질적으로 이루어진다.
- [0420] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함한다. 실시형태에서, LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체는 서열 번호 84, 서열 번호 77 또는 서열 번호 78과 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 서열을 포함한다. 실시형태에서, LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체는 서열 번호 84, 서열 번호 77 또는 서열 번호 78과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.
- [0421] 일부 실시형태에서, LILRB1 힌지 도메인은 서열 번호 84, 서열 번호 77 또는 서열 번호 78과 동일한 서열을 포함한다.
- [0422] 일부 실시형태에서, LILRB1 힌지 도메인은 본질적으로 서열 번호 84, 서열 번호 77 또는 서열 번호 78과 동일한 서열로 이루어진다.
- [0423] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체이다. 일부 실시형태에서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열 번호 85와 적어도 95% 동일한, 적어도 96% 동일한, 적어도 97% 동일한, 적어도 98% 동일한 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체는 서열 번호 85와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, LILRB1 막관통 도메인은 서열 번호 85와 동일한 서열을 포함한다. 실시형태에서, LILRB1 막관통 도메인은 본질적으로 서열 번호 85와 동일한 서열로 이루어진다.
- [0424] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 힌지, 예를 들어 인간 단백질로부터의 힌지를 통해 제2의, 억제 수용체의 세포외 영역, 예를 들어 항원 결합 도메인 또는 리간드 결합 도메인에 부착될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형

태에서, 힌지는 인간 면역글로불린(Ig) 힌지, 예를 들어 IgG4 힌지, CD8a 힌지 또는 LILRB1 힌지일 수 있다.

- [0425] 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 수용체는 억제 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2의, 억제 수용체는 억제 세포내 도메인 및/또는 억제 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 도메인은 LILRB1로부터 단리되거나 유래된다.
- [0426] LILRB1 도메인의 조합을 포함하는 억제 수용체
- [0427] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 LILRB1 기반 억제 수용체는 하나 초과 LILRB1 도메인 또는 이의 기능적 균등물을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 및 세포내 도메인, 또는 LILRB1 힌지 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 포함한다.
- [0428] 특정 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체, 및 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열 번호 79와 적어도 95% 동일한, 적어도 96% 동일한, 적어도 97% 동일한, 적어도 98% 동일한, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열 번호 79와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열 번호 79와 동일한 서열을 포함한다.
- [0429] 추가 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체, 및 LILRB1 세포내 도메인 및/또는 적어도 하나의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인을 포함하고, ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTAAEV(서열 번호 68), VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체, 및 LILRB1 세포내 도메인 및/또는 적어도 2개의 ITIM을 포함하는 세포내 도메인을 포함하고, 각각의 ITIM은 NLYAAV(서열 번호 67), VTAAEV(서열 번호 68), VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 70)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0430] 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열 번호 80과 적어도 95% 동일한, 적어도 96% 동일한, 적어도 97% 동일한, 적어도 98% 동일한, 적어도 99% 동일한 또는 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열 번호 80과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열 번호 80과 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1 막관통 도메인 및 세포의 리간드 결합 도메인에 융합된 서열 번호 80의 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 TCR 알파 가변 도메인에 융합된 서열 번호 80을 포함하는 제1 폴리펩타이드, 및 TCR 베타 가변 도메인에 융합된 서열 번호 80을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0431] 바람직한 실시형태에서, 억제 수용체는 LILRB1 힌지 도메인 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체; LILRB1 막관통 도메인 또는 이의 기능적 변이체; 및 LILRB1 세포내 도메인 및/또는 적어도 2개의 면역수용체 티로신계 억제 모티프(ITIM)를 포함하는 세포내 도메인을 포함하고, 각각의 ITIM은 LYAAV(서열 번호 67), VTAAE(서열 번호 68), VTAAQL(서열 번호 69) 및 SIYATL(서열 번호 11)로부터 독립적으로 선택된다.
- [0432] 일부 실시형태에서, 억제 수용체는 서열 번호 82 또는 서열 번호 83과 적어도 95% 동일한, 또는 서열 번호 82 또는 서열 번호 83과 적어도 99% 동일한, 또는 서열 번호 82 또는 서열 번호 83과 동일한 서열을 포함한다.
- [0433] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열 번호 79와 적어도 99% 동일한, 또는 서열 번호 79와 적어도 99% 동일한, 또는 서열 번호 79와 동일한 서열을 포함한다.
- [0434] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열 번호 80과 적어도 99% 동일한, 또는 서열 번호 80과 적어도 99% 동일한, 또는 서열 번호 80과 동일한 서열을 포함한다.

표 13

예시적인 LILRB1-기반 억제 수용체의 폴리펩타이드 서열

명칭	서열
LILRB1	<p>MTPILTVL ICLGLSLGPRTHVQAGHLPKPTLWAEPGSVITQGSFVTLRCQGGQETQEYR LYREKKTALWITRIPQELVKKGQFP I P S I T W E H A G R Y R C Y Y G S D T A G R S E S S D P L E L V V T G A Y I K P T L S A Q F S P V V N S G G N V I L Q C D S Q V A F D G F S L C K E G E D E H P Q C L N S Q P H A R G S S R A I F S V G P V S P S R R W W Y R C Y A Y D S N S P Y E W S L P S D L L E L L V L G V S K K P S L S V Q P G P I V A P E E T L T L Q C G S D A G Y N R F V L Y K D G E R D F L Q L A G A Q P Q A G L S Q A N F T L G P V S R S Y G G Q Y R C Y G A H N L S S E W S A P S D P L D I L A G Q F Y D R V S L S V Q P G P T V A S G E N V T L L C Q S Q G W M Q T F L L T K E G A A D D P W L R S T Y Q S Q Y Q A E F P M G P V T S A H A G T Y R C Y G S Q S S K P Y L L T H P S D <u>P L E L</u> V V S G P S G G P S S P T T G P T S T S G P E D Q P L T P T G S D P Q S G L G R H L G V V I G I L V A V I L L L L L L L L F L I L R H R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N <u>L Y A A V K H T Q P E D G V E M D T R S P H E D P Q A V T Y A E V K H S R P R R E M A S P P S P L S G E F L D T K D</u> R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R E A T E P P P S Q E G P S P A V P S I Y A T L A I H P S Q E G P S P A V P S I Y A T L A I H</p> <p>서열 번호 65</p>
LILRB1 힌지-막관통-세포내 도메인	<p><u>Y G S Q S S K P Y L L T H P S D P L E L</u> V V S G P S G G P S S P T T G P T S T S G P E D Q P L T P T G S D P Q S G L G R H L G V V I G I L V A V I L L L L L L L L F L I L R H R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K H T Q P E D G V E M D T R S P H E D P Q A V T Y A E V K H S R P R R E M A S P P S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R E A T E P P P S Q E G P S P A V P S I Y A T L A I H</p> <p>서열 번호 82</p>
LILRB1 힌지-막관통-세포내 도메인 (YGSQSSKPYLLTHPSDPL EL 을 가짐)	<p>V V S G P S G G P S S P T T G P T S T S G P E D Q P L T P T G S D P Q S G L G R H L G V V I G I L V A V I L L L L L L L L F L I L R H R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K H T Q P E D G V E M D T R S P H E D P Q A V T Y A E V K H S R P R R E M A S P P S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R E A T E P P P S Q E G P S P A V P S I Y A T L A I H</p> <p>서열 번호 83</p>
LILRB1 힌지 도메인	<p><u>Y G S Q S S K P Y L L T H P S D P L E L</u> V V S G P S G G P S S P T T G P T S T S G P E D Q P L T P T G S D P Q S G L G R H L G</p> <p>서열 번호 84</p>
LILRB1 막관통 도메인	<p>V V I G I L V A V I L L L L L L L F L I L</p> <p>서열 번호 85</p>
LILRB1 세포내 도메인	<p>R H R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K H T Q P E D G V E M D T R S P H E D P Q A V T Y A E V K H S R P R R E M A S P P S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R E A T E P P P S Q E G P S P A V P S I Y A T L A I H</p> <p>서열 번호 81</p>

[0435]

ITIM1	NLYAAV 서열 번호 67
ITIM2	VTYAEV 서열 번호 68
ITIM3	VTYAQL 서열 번호 69
ITIM4	SIYATL 서열 번호 70
ITIM1-2	<u>NLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPAVTYAEV</u> 서열 번호 71
ITIM2-3	<u>VTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQL</u> 서열 번호 72
ITIM3-4	<u>VTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGSPAVPSIYATL</u> 서열 번호 73
ITIM1-3	<u>NLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPAVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQL</u> 서열 번호 74
ITIM2-4	<u>VTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGSPAVPSIYATL</u> 서열 번호 75
ITIM1-4	<u>NLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPAVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGSPAVPSIYATL</u> 서열 번호 76
D3D4 도메인	<u>YGSQSSKPYLLTHPSDPLEL</u> 서열 번호 77
짧은 힌지	VVSGPSSGSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPGSDPQSGLRHLG
	서열 번호 78
힌지-막관통	<u>YGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSSGSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPGSDPQSGLRHLGVVIGILVAVILLILLILLILLFLIL</u> 서열 번호 79
막관통-세포내 도메인	<u>VVIGILVAVILLILLILLILLFLILRHRQGKHWSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPAVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGSPAVPSIYATLAIH</u> 서열 번호 80

[0436]

[0437]

[0438]

링커

- [0439] 일부 실시형태에서, 조작된 수용체는 조작된 수용체의 2개의 도메인을 연결하는 링커를 포함한다. 본원에는 일부 실시형태에서 본원에 기재된 조작된 수용체의 도메인을 연결하도록 사용될 수 있는 링커가 제공된다.
- [0440] 단백질 도메인, 예를 들어 세포내 도메인 또는 scFv 내의 도메인을 연결하는 것의 맥락에서 사용된 것과 같은 "링커" 및 "가요성 폴리펩타이드 링커"라는 용어는 2개의 도메인을 함께 연결하기 위해 단독으로 또는 조합으로 사용된 글리신 및/또는 세린 잔기와 같은 아미노산으로 이루어진 펩타이드 링커를 지칭한다.
- [0441] 임의의 링커가 사용될 수 있고, 많은 융합 단백질 링커 형식이 공지되어 있다. 예를 들어, 링커는 가요성 또는 경질일 수 있다. 경질 및 가요성 링커의 비제한적인 예는 Chen 등 (Adv Drug Deliv Rev. 2013; 65(10):1357-1369)에 제공된다.
- [0442] 본원에 기재된 항원 결합 도메인은 랜덤 순서로 또는 규정된 순서로 서로에 연결될 수 있다.
- [0443] 본원에 기재된 항원 결합 도메인은 N 말단에서 C 말단으로의 임의의 배향으로 서로에 연결될 수 있다.
- [0444] 선택적으로, 예를 들어 2개 내지 40개의 아미노산(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 아미노산) 길이의 짧은 올리고펩타이드 또는 폴리펩타이드 링커는 도메인 사이에 연결을 형성할 수 있다.
- [0445] 일부 실시형태에서, 링커는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개, 30개 또는 30개 초과인 아미노산 잔기의 펩타이드이다. 링커에서 발견된 아미노산의 비제한적인 예는 Gly, Ser, Glu, Gin, Ala, Leu, 이소, Lys, Arg, Pro 등을 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 [(Gly)n1Ser]n2이고, 여기서 n1 및 n2는 임의의 수일 수 있다(예를 들어, n1 및 n2는 독립적으로 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 초과일 수 있음). 일부 실시형태에서, n1은 4이다.
- [0446] 일부 실시형태에서, 가요성 폴리펩타이드 링커는 Gly/Ser 링커이고, n회 반복될 수 있는 아미노산 서열(Gly-Gly-Ser), (Gly-Gly-Gly-Ser, 서열 번호 231) 또는 (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, 서열 번호 226)을 포함하고, 여기서 n은 1 이상의 양의 정수이다. 예를 들어, n=1, n=2, n=3, n=4, n=5, n=6, n=7, n=8, n=9 및 n=10. 일부 실시형태에서, 가요성 폴리펩타이드 링커는 GGS, GGGGS(서열 번호 226), GGGGS GGGGS(서열 번호 227), GGGGS GGGGS GGGGS(서열 번호 228), GGGGS GGGGS GGGGS GG(서열 번호 229) 또는 GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS(서열 번호 230)를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0447] 일부 실시형태에서, 링커는 (Gly Gly Ser), (Gly Ser) 또는 (Gly Gly Gly Ser(서열 번호 231))의 다수의 반복부를 포함한다. W02012/138475(본원에 참고로 포함됨)에 기재된 링커가 본 발명의 범위 내에 또한 포함된다.
- [0448] 일부 실시형태에서, 링커 서열은 긴 링커(LL) 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 긴 링커 서열은 4회 반복된 GGGGS(서열 번호 226)를 포함한다. 일부 실시형태에서, GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS(서열 번호 230)는 본 개시내용의 TCR 알파 융합 단백질에서 세포내 도메인을 연결하도록 사용된다.
- [0449] 일부 실시형태에서, 긴 링커 서열은 3회 반복된 GGGGS(서열 번호 226)를 포함한다. 일부 실시형태에서, GGGGS GGGGS GGGGS(서열 번호 228)는 본 개시내용의 TCR 베타 융합 단백질에서 세포내 도메인을 연결하도록 사용된다.
- [0450] 일부 실시형태에서, 링커 서열은 짧은 링커(SL) 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 짧은 링커 서열은 GGGGS(서열 번호 226)를 포함한다.
- [0451] 일부 실시형태에서, 글리신-세린 더블렛은 적합한 링커로서 사용될 수 있다.
- [0452] 일부 실시형태에서, 도메인은 링커의 사용 없이 펩타이드 결합을 통해 서로 직접 융합된다.
- [0453] **검정**
- [0454] 본원에는 본 개시내용의 조작된 수용체의 활성을 측정하기 위해 사용될 수 있는 검정이 제공된다.
- [0455] 루시퍼라제 리포터와 같은 수용체 활성의 리포터를 발현하도록 조작된 세포주를 사용하여 조작된 수용체의 활성을 분석할 수 있다. 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 세포주가 사용될 수 있지만, 예시적인 세포주는 저카트 T 세포를 포함한다. 예를 들어, NFAT 프로모터의 제어 하에 루시퍼라제 리포터를 발현하는 저카트 세포는 효과기 세포로서 사용될 수 있다. 이 세포주에 의한 루시퍼라제의 발현은 TCR 매개된 신호전달을 반영한다.
- [0456] 리포터 세포는 본원에 기재된 각각의 다양한 융합 단백질 작제물, 융합 단백질 작제물의 조합 또는 대조군으로 형질주입될 수 있다.

- [0457] 리포터 세포에서의 융합 단백질의 발현은 융합 단백질의 발현을 검출하기 위해 형광으로 표지된 MHC 사합체, 예를 들어 Alexa Fluor 647 표지된 NY-ESO-1-MHC 사합체를 사용함으로써 확인될 수 있다.
- [0458] 조작된 수용체의 활성을 분석하기 위해, 표적 세포는 리포터 및 조작된 수용체를 포함하는 효과기 세포에 대한 노출 전에 항원이 로딩된다. 예를 들어, 표적 세포는 효과기 세포에 대한 노출 전에 적어도 12시간, 14시간, 16시간, 18시간, 20시간, 22시간 또는 24시간 항원이 로딩될 수 있다. 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 세포가 사용될 수 있지만, 예시적인 표적 세포는 A375 세포를 포함한다. 일부 경우에, 표적 세포는 NY-ESO-1 펩타이드와 같은 항원의 연속 희석된 농도로 로딩될 수 있다. 효과기 세포는 이후 적합한 시간 기간, 예를 들어 6시간 동안 표적 세포와 동시배양될 수 있다. 이후, 루시퍼라제는 동시배양 후 발광 관독에 의해 측정된다. 루시퍼라제 발광은 각각의 조작된 수용체 작제물에 대해 활성화 펩타이드 농도의 비교가 가능하게 하도록 최대 강도 및 최소 강도로 정규화될 수 있다.
- [0459] 본원에는 본 개시내용의 조작된 수용체의 상대 EC50을 결정하는 방법이 제공된다. 본원에 사용된 것과 같이, "EC50"은 반응(또는 결합)이 반만큼 감소되는 억제제 또는 물질의 농도를 지칭한다. 본 개시내용의 조작된 수용체의 EC50은 항원에 대한 조작된 수용체의 결합이 반만큼 감소되는 항원의 농도를 지칭한다. 표지된 펩타이드 또는 표지된 펩타이드-MHC 복합체, 예를 들어 형광단과 접합된 MHC:NY-ESO-1 pMHC 복합체에 의한 염색에 의해 조작된 수용체에 대한 항원 또는 프로브의 결합이 측정될 수 있다. 펩타이드 적정에 의해 리포터 신호의 비선형 회귀 곡선 적합화에 의해 EC50을 얻을 수 있다. 프로브 결합 및 EC50은 융합 단백질, 예를 들어 NY-ESO-1(클론 1G4) 없이 벤치마크 TCR의 수준으로 정규화될 수 있다.
- [0460] **폴리뉴클레오타이드**
- [0461] 본 개시내용은 본원에 기재된 조작된 수용체의 서열(들)을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.
- [0462] 일부 실시형태에서, 제1 융합 단백질 및/또는 제2 융합 단백질의 서열은 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 일부 실시형태에서, 제1 융합 단백질을 암호화하는 서열은 제1 프로모터에 작동 가능하게 연결되고, 제2 융합 단백질을 암호화하는 서열은 제2 프로모터에 작동 가능하게 연결된다.
- [0463] 본 개시내용은 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0464] 본 개시내용은 본원에 기재된 임의의 조작된 수용체의 서열 또는 서열들을 암호화하는 벡터를 제공한다. 일부 실시형태에서, 제1 융합 단백질 및/또는 제2 융합 단백질의 서열은 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 일부 실시형태에서, 제1 융합 단백질을 암호화하는 서열은 제1 프로모터에 작동 가능하게 연결되고, 제2 융합 단백질을 암호화하는 서열은 제2 프로모터에 작동 가능하게 연결된다.
- [0465] 일부 실시형태에서, 제1 조작된 수용체는 제1 벡터에 의해 암호화되고, 제2 조작된 수용체는 제2 벡터에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, 조작된 수용체 둘 다는 단일 벡터에 의해 암호화된다.
- [0466] 일부 실시형태에서, 제1 수용체 및 제2 수용체는 단일 벡터에 의해 암호화된다. 단일 벡터를 사용하여 다수의 폴리펩타이드를 암호화하는 방법은 당업자에게 공지될 것이고, 특히 상이한 프로모터의 제어 하에 다수의 폴리펩타이드를 암호화하는 것, 또는 단일 프로모터가 다수의 폴리펩타이드의 전사를 제어하도록 사용되면, 내부 리보솜 진입 부위(IRES: internal ribosome entry site) 및/또는 자가 절단 펩타이드를 암호화하는 서열의 사용을 포함한다. 예시적인 자가절단 펩타이드는 T2A, P2A, E2A 및 F2A 자가절단 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, T2A 자가절단 펩타이드는 EGRGSLLTCDGVEENPGP(서열 번호 271)의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, P2A 자가절단 펩타이드는 ATNFSLKQAGDVEENPGP(서열 번호 192)의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, E2A 자가절단 펩타이드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP(서열 번호 272)의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, F2A 자가절단 펩타이드는 VKQILNFDLLKLAGDVESNPGP(서열 번호 273)의 서열을 포함한다.
- [0467] 일부 실시형태에서, 벡터는 적합한 세포에서 발현 벡터, 즉 융합 단백질의 발현을 위한 것이다.
- [0468] 렌티바이러스와 같은 레트로바이러스로부터 유래된 벡터는 전이유전자의 장기간의 안정한 내재화 및 딸 세포에서의 이의 증식이 가능하게 하므로 장기간 유전자 전달을 달성하기 위한 적합한 도구이다. 렌티바이러스 벡터는 간세포와 같은 비증식 세포를 형질도입할 수 있다는 점에서 췌장 백혈병 바이러스와 같은 종양-레트로바이러스(onco-retrovirus)로부터 유래된 벡터에 비해 상가 이점을 갖는다. 이들은 또한 낮은 면역원성의 상가 이점을 갖는다.
- [0469] 융합 단백질을 암호화하는 자연 핵산 또는 합성 핵산의 발현은 통상적으로 융합 단백질 또는 이의 일부를 암호화하는 핵산을 프로모터에 작동 가능하게 연결하는 것, 및 작제물을 발현 벡터로 혼입하는 것에 의해 달성된다.

백터는 복제 및 내재성 진핵생물에 적합할 수 있다. 통상적인 클로닝 백터는 전사 및 번역 종결자, 개시 서열, 및 원하는 핵산 서열의 발현의 조절에 유용한 프로모터를 함유한다.

- [0470] 융합 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 다수의 백터 유형으로 클로닝될 수 있다. 예를 들어, 폴리뉴클레오타이드는 비제한적인 예로서 플라스미드, 파지미드, 파지 유도체, 동물 바이러스 및 코스미드를 포함하는 백터로 클로닝될 수 있다. 특히 관심 있는 백터는 발현 백터, 복제 백터, 프로브 생성 백터 및 시퀀싱 백터를 포함한다.
- [0471] 추가로, 발현 백터는 바이러스 백터의 형태로 면역 세포와 같은 세포에 제공될 수 있다. 바이러스 백터 기술은 당해 분야에 잘 공지되어 있고, 예를 들어 Sambrook 등 (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York) 및 다른 바이러스학 및 분자 생물학 매뉴얼에 기재되어 있다. 백터로서 유용한 바이러스는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스, 헤르페스 바이러스 및 렌티바이러스를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 일반적으로, 적합한 백터는 적어도 하나의 유기체에서 기능적인 복제 기원, 프로모터 서열, 편리한 제한 엔도뉴클레아제 부위 및 하나 이상의 선택 가능한 마커를 함유한다(예를 들어, WO 01/96584호; WO 01/29058호; 및 미국 특허 제6,326,193호).
- [0472] 다수의 바이러스 기반 시스템은 포유류 세포로의 유전자 전달을 위해 개발되었다. 예를 들어, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템에 대한 편리한 플랫폼을 제공한다. 선택된 유전자는 백터로 삽입되고, 당해 분야에 공지된 기법을 사용하여 레트로바이러스 입자에 패키징될 수 있다. 이후, 재조합 바이러스는 생체내 또는 생체의 단리되고 대상체의 세포로 전달될 수 있다. 다수의 레트로바이러스 시스템이 당해 분야에 공지되어 있다. 일부 실시 형태에서, 아데노바이러스 백터가 사용된다. 다수의 아데노바이러스 백터가 당해 분야에 공지되어 있다. 일 실시 형태에서, 렌티바이러스 백터가 사용된다.
- [0473] 추가 프로모터 요소, 예를 들어 인핸서는 전사 개시의 빈도를 조절한다. 통상적으로, 다수의 프로모터가 또한 출발 부위의 하류에 기능적 요소를 함유하는 것으로 최근에 밝혀졌지만, 이들이 출발 부위의 상류에 영역 30개 내지 110개 염기쌍(bp)에 위치한다. 요소들이 서로에 대해 독립되거나 이동할 때 프로모터 기능이 보존되도록 프로모터 요소 사이의 간격은 흔히 융통성이 있다. 티미딘 키나제(tk) 프로모터에서, 프로모터 요소 사이의 간격은 활성이 감소하기 시작하기 전에 떨어져 50 bp로 증가할 수 있다. 프로모터에 따라, 개별 요소가 전사를 활성화하도록 협동적으로 또는 독립적으로 작용할 수 있는 것으로 보인다.
- [0474] 적합한 프로모터의 하나의 예는 즉시 초기 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터 서열이다. 이 프로모터 서열은 이에 작동 가능하게 연결된 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열의 높은 발현 수준을 유도할 수 있는 강한 항시적 프로모터 서열이다. 적합한 프로모터의 다른 예는 연장 성장 인자-1 α (EF-1 α : Elongation Growth Factor-1 α)이다. 그러나, 비제한적인 예로서 유인원 바이러스 40(SV40: simian virus 40) 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스(MMTV: mouse mammary tumor virus), 인간 면역결핍 바이러스(HIV: human immunodeficiency virus) 긴 말단 반복부(LTR: long terminal repeat) 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, 엡스타인 바 바이러스(Epstein-Barr virus) 즉시 초기 프로모터, 라우스 육종 바이러스 프로모터를 포함하는 다른 항시적 프로모터 서열뿐만 아니라 비제한적인 예로서 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 헤모글로빈 프로모터 및 크레아틴 키나제 프로모터와 같은 인간 유전자 프로모터를 또한 사용할 수 있다. 추가로, 본 발명은 항시적 프로모터의 사용으로 제한되지 않아야 한다. 본 발명의 일부로서 유도성 프로모터가 또한 고려된다. 유도성 프로모터의 사용은 이것이 이러한 발현이 원해질 때 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오타이드 서열의 발현을 키거나, 발현이 원해지지 않을 때 발현을 끌 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 유도성 프로모터의 예는 메탈로티오닌 프로모터, 글루코코르티코이드 프로모터, 프로게스테론 프로모터 및 테트라사이클린 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0475] 융합 단백질의 발현을 평가하기 위해, 세포로 도입되는 발현 백터는 또한 바이러스 백터를 통해 형질주입되거나 감염되도록 추구되는 세포의 집단으로부터 발현 세포의 확인 및 선택이 용이하게 하도록 선택 가능한 마커 유전자 또는 리포터 유전자 또는 둘 다를 함유할 수 있다. 다른 양태에서, 선택 가능한 마커는 DNA의 별개의 조각에서 수행되고 동시형질주입 절차에서 사용될 수 있다. 선택 가능한 마커 및 리포터 유전자 둘 다는 숙주 세포에서 발현이 가능하게 하는 적절한 조절 서열에 의해 플랭킹될 수 있다. 유용한 선택 가능한 마커는 예를 들어 항생제 내성 유전자, 예컨대 네오 등을 포함한다.
- [0476] 리포터 유전자는 잠재적으로 형질주입된 또는 형질도입된 세포를 확인하고 조절 서열의 기능을 평가하기 위해 사용된다. 일반적으로, 리포터 유전자는 수혜자 유기체 또는 조직에 존재하거나 이에 의해 발현되고, 일부 용이하게 검출 가능한 특성, 예를 들어 효소 활성에 의해 발현이 나타나는 폴리펩타이드를 암호화하는 유전자이다.

DNA가 수혜자 세포로 도입된 후 적합한 시간에 리포터 유전자의 발현이 분석된다. 적합한 리포터 유전자는 루시퍼라제, 베타-갈락토시다제, 클로르암페니콜 아세틸 전환효소, 분비된 알칼리 포스파타제를 암호화하는 유전자, 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 포함할 수 있다(예를 들어, Ui-Tei 등, 2000 FEBS Letters 479: 79-82). 적합한 발현 시스템은 잘 공지되어 있고, 공지된 기법을 사용하여 제조되거나 상업적으로 얻어질 수 있다. 일반적으로, 리포터 유전자의 가장 높은 발현 수준을 보여주는 최소 5' 플랭킹 영역을 갖는 작제물이 프로모터로서 확인된다. 이러한 프로모터 영역은 리포터 유전자에 연결되고 프로모터 유발 전사를 조절하는 능력에 대해 물질을 평가하도록 사용될 수 있다.

[0477] 유전자를 세포로 도입하고 이를 발현하는 방법이 당해 분야에 공지되어 있다. 발현 벡터의 맥락에서, 벡터는 당해 분야에서의 임의의 방법에 의해 숙주 세포, 예를 들어 포유류, 박테리아, 효모 또는 곤충 세포로 용이하게 도입될 수 있다. 예를 들어, 발현 벡터는 물리적 수단, 화학적 수단 또는 생물학적 수단에 의해 숙주 세포로 전달될 수 있다.

[0478] 폴리뉴클레오타이드를 숙주 세포로 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전, 리포펙션, 입자 포격, 미량주사, 전기천공 등을 포함한다. 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 제조하는 방법은 당해 분야에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, Sambrook 등 (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)을 참조한다. 폴리뉴클레오타이드를 숙주 세포로 도입하기 위한 하나의 방법은 인산칼슘 형질주입이다.

[0479] 숙주 세포로 관심 폴리뉴클레오타이드를 도입하기 위한 생물학적 방법은 DNA 및 RNA 벡터의 사용을 포함한다. 바이러스 벡터, 및 특히 레트로바이러스 벡터는 포유류, 예를 들어 인간 세포로 유전자를 삽입하기 위한 가장 널리 사용되는 방법이 되었다. 다른 바이러스 벡터는 렌티바이러스, 폭스바이러스, 단순 포진 바이러스 I, 아데노바이러스 및 아데노 연관 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,350,674호 및 제 5,585,362호를 참조한다.

[0480] 폴리뉴클레오타이드를 숙주 세포로 도입하기 위한 화학적 수단은 콜로이드 분산 시스템, 예컨대 거대분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로구, 비드, 및 수중유 에멀션, 미셀, 혼합 미셀 및 리포솜을 포함하는 지질 기반 시스템을 포함한다. 시험관내 및 생체내 전달 비히클로서 사용하기 위한 예시적인 콜로이드 시스템은 리포솜(예를 들어, 인공 막 베시클)이다.

[0481] 외인성 핵산을 숙주 세포로 도입하거나 그렇지 않으면 세포를 본 발명의 억제제에 노출시키기 위해 사용된 방법과 관련하여, 숙주 세포에서 재조합 DNA 서열의 존재를 확인하기 위해, 다양한 검정을 수행할 수 있다. 이러한 검정은 본 발명의 범위 내에 해당하는 물질을 확인하기 위해 예를 들어 당업자에게 잘 공지된 "분자 생물학적" 검정, 예컨대 사우던 블로팅 및 노던 블로팅, RT-PCR 및 PCR; 예를 들어 면역학적 수단(ELISA 및 웨스턴 블롯)에 의한 또는 본원에 기재된 검정에 의한 특정 펩타이드의 존재 또는 부재의 검출과 같은 "생화학적" 검정을 포함한다.

[0482] **면역 세포**

[0483] 본원에는 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 융합 단백질 및 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포가 제공된다.

[0484] 본원에 사용된 것과 같이, "면역 세포"라는 용어는 선천성 또는 적응(획득) 면역계에 관여된 세포를 지칭한다. 예시적인 선천성 면역 세포는 식세포 세포, 예컨대 중성구, 단핵구 및 대식세포, 자연 살해(NK) 세포, 다형핵 백혈구, 예컨대 호중구, 호산구 및 호염기구 및 단핵 세포, 예컨대 단핵구, 대식세포 및 비만 세포를 포함한다. 획득 면역에서 역할을 갖는 면역 세포는 T 세포 및 B 세포와 같은 림프구를 포함한다.

[0485] 본원에 사용된 것과 같이, "T 세포"는 흉선에서 발생하는 골수 전구체로부터 기원하는 림프구의 유형을 지칭한다. 헬퍼 CD4+ T 세포, 세포독성 CD8+ T 세포, 기억 T 세포, 조절 CD4+ T 세포 및 줄기 기억 T 세포를 포함하는 흉선으로 이동 시 발생하는 몇몇 구별되는 유형의 T 세포가 있다. 상이한 유형의 T 세포는 이의 마커 발현에 기초하여 당업자에 의해 구별될 수 있다. T 세포 유형 사이를 구별하는 방법은 당업자에게 용이하게 자명할 것이다.

[0486] 일부 실시형태에서, 조작된 면역 세포는 제1 수용체 대 제2 수용체의 약 100:1 내지 1:100의 비로 제1 수용체 및 제2 수용체를 발현한다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 세포는 제1 수용체 대 제2 수용체의 약 50:1 내지 1:50의 비로 제1 수용체 및 제2 수용체를 발현한다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 세포는 제1 수용체 대 제2 수용체의 약 10:1 내지 1:10의 비로 제1 수용체 및 제2 수용체를 발현한다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 세

포는 제1 수용체 대 제2 수용체의 약 5:1 내지 1:5의 비로 제1 수용체 및 제2 수용체를 발현한다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 세포는 제1 수용체 대 제2 수용체의 약 3:1 내지 1:3의 비로 제1 수용체 및 제2 수용체를 발현한다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 세포는 제1 수용체 대 제2 수용체의 약 2:1 내지 1:2의 비로 제1 수용체 및 제2 수용체를 발현한다. 일부 실시형태에서, 조작된 면역 세포는 약 1:1의 비로 제1 수용체 및 제2 수용체를 발현한다.

- [0487] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 수용체를 포함하는 조작된 면역 세포는 T 세포이다. 일부 실시형태에서, T 세포는 효과기 T 세포 또는 조절 T 세포이다.
- [0488] 본 개시내용의 벡터에 의해 T 세포와 같은 면역 세포의 집단을 형질전환하는 방법은 당업자에게 용이하게 자명할 것이다. 예를 들어, 제조사의 지시에 따라 CD3+ T 세포 음성 단리 키트(Miltenyi)를 사용하여 PBMC로부터 CD3+ T 세포를 단리할 수 있다. CD3/28 Dynabead(1:1의 세포 대 비드 비) 및 300 단위/mL의 IL-2(Miltenyi)의 존재 하에 5% 인간 A/B 혈청 및 1% Pen/strep가 보충된 X-Vivo 15 배지에서 1×10^6 개의 세포/mL의 밀도로 T 세포를 배양할 수 있다. 2일 후, 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 렌티바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터에 의해 T 세포를 형질도입할 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이러스 벡터는 5의 다중 감염도(MOI: multiplicity of infection)로 형질도입된다. 이후, 농후화 전 추가 5일 동안 IL-2 또는 다른 사이토카인, 예컨대 IL-7/15/21의 조합에서 세포를 배양할 수 있다. 면역 세포의 다른 집단, 예컨대 B 세포, 또는 다른 T 세포 집단을 단리하고 배양하는 방법은 당업자에게 용이하게 자명할 것이다. 이 방법이 가능한 접근법을 개략화하지만, 이 방법론이 신속히 발전한다는 것이 주목되어야 한다. 예를 들어, 99% 초과 CD3+ 고도로 형질도입된 세포 집단을 생성시키도록 성장 5일 후 말초혈 단핵 세포의 훌륭한 바이러스 형질도입을 달성할 수 있다.
- [0489] 조작된 TCR, CAR, 융합 단백질 또는 본 개시내용의 융합 단백질을 암호화하는 벡터를 포함하는 T 세포의 집단을 활성화하고 배양하는 방법은 당업자에게 용이하게 자명할 것이다.
- [0490] 조작된 TCR을 발현하기 위한 T 세포의 유전 변형 전이든 또는 후이든, T 세포는 일반적으로 예를 들어 미국 특허 제6,352,694호; 제6,534,055호; 제6,905,680호; 제6,692,964호; 제5,858,358호; 제6,887,466호; 제6,905,681호; 제7,144,575호; 제7,067,318호; 제7,172,869호; 제7,232,566호; 제7,175,843호; 제5,883,223호; 제6,905,874호; 제6,797,514호; 제6,867,041호, 제10040846호; 및 미국 특허 출원 공보 제2006/0121005호에 기재된 것과 같은 방법을 사용하여 활성화되거나 확장될 수 있다.
- [0491] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 T 세포는 시험관내 확장되고 활성화된다. 일반적으로, 본 개시내용의 T 세포는 CD3/TCR 복합체 연관 신호를 자극하는 물질 및 T 세포의 표면에 공자극 분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 시험관내 확장된다. 특히, T 세포 집단은 예컨대 항-CD3 항체와의 접촉에 의해 본원에 기재된 것처럼 자극될 수 있다. T 세포의 표면에 보조 분자의 공자극을 위해, 보조 분자에 결합하는 리간드가 사용된다. 예를 들어, T 세포의 집단은 T 세포의 증식을 자극하기 위한 적절한 조건 하에 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉할 수 있다. CD4+ T 세포 또는 CD8+ T 세포의 증식을 자극하기 위해, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체가 사용될 수 있다. 항-CD28 항체의 예는 9.3, B-T3을 포함하고, XR-CD28(Diaclone, 프랑스 브장송)은 당해 분야에 흔히 공지된 다른 방법이 사용될 수 있는 것처럼 사용될 수 있다(Berg 등, Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen 등, J. Exp. Med. 190(9):13191328, 1999; Garland 등, J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999).
- [0492] 일부 실시형태에서, T 세포에 대한 1차 자극 신호 및 공자극 신호는 상이한 프로토콜에 의해 제공될 수 있다. 예를 들어, 각각의 신호를 제공하는 물질은 용액 중에 있거나 표면에 커플링될 수 있다. 물질은 표면에 커플링될 때 동일한 표면에(즉, "시스" 형성으로) 커플링되거나 별개의 표면에(즉, "트랜스" 형성으로) 커플링될 수 있다. 대안적으로, 하나의 물질은 표면 및 용액 중의 다른 물질에 커플링될 수 있다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호를 제공하는 물질은 세포 표면에 결합되고, 1차 활성화 신호를 제공하는 물질은 용액 중에 있거나 표면에 커플링된다. 소정의 실시형태에서, 물질 둘 다는 용액에 있을 수 있다. 다른 실시형태에서, 그 물질은 가용성 형태일 수 있고, 이후 표면, 예컨대 Fc 수용체를 발현하는 세포 또는 항체 또는 그 물질에 결합하는 다른 결합체에 가교결합된다. 이와 관련하여, 본 발명에서 T 세포를 활성화하고 확장시키는 데 사용하기 위해 고려되는 인공 항원 제시 세포(aAPC: artificial antigen presenting cell)에 대해 예를 들어 미국 특허 출원 공보 제20040101519호 및 제20060034810호를 참조한다.
- [0493] 일부 실시형태에서, 2종의 물질은 동일한 비드에, 즉 "시스"로 또는 별개의 비드에, 즉 "트랜스"로 비드에 부동화된다. 예에 의해, 1차 활성화 신호를 제공하는 물질은 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, 공자극 신호를 제공하는 물질은 항-CD28 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, 물질 둘 다는 동등한 분자 양으로 동일한

비드에 동시부동화된다. 일 실시형태에서, CD4+ T 세포 확장 및 T 세포 성장을 위해 비드에 결합된 각각의 항체의 1:1 비를 사용한다. 일부 실시형태에서, 비드에 결합된 CD3 : CD28 항체의 비는 100:1 내지 1:100 및 이들 사이의 모든 정수 값의 범위이다. 본 발명의 일 양태에서, 항-CD3 항체보다 더 많은 항-CD28 항체가 입자에 결합되고, 즉 CD3 : CD28의 비는 1보다 작다. 본 발명의 소정의 실시형태에서, 비드에 결합된 항 CD28 항체 대 항 CD3 항체의 비는 2:1 초과이다.

[0494] 1:500 대 500:1 및 이들 사이의 임의의 정수 값의 입자 대 세포의 비는 T 세포 또는 다른 표적 세포를 자극하기 위해 사용될 수 있다. 당업자가 용이하게 이해할 수 있는 것처럼, 입자 대 세포의 비는 표적 세포에 대한 입자 크기에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 작은 크기의 비드는 오직 약간의 세포에 결합할 수 있지만, 더 큰 비드가 많이 결합할 수 있었다. 소정의 실시형태에서, 세포 대 입자의 비는 1:100 내지 100:1 및 이들 사이의 임의의 정수 값의 범위이고, 추가의 실시형태에서 그 비는 1:9 내지 9:1을 포함하고, 이들 사이의 임의의 정수 값은 또한 T 세포를 자극하도록 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 1:1의 세포 대 비드의 비가 사용된다. 당업자는 다양한 다른 비가 본 발명에 사용하기에 적합할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 특히, 비는 입자 크기 및 세포 크기 및 유형에 따라 변할 것이다.

[0495] 본 발명의 추가의 실시형태에서, T 세포와 같은 세포는 물질 코팅된 비드와 조합되고, 비드 및 세포는 후속하여 분리되고, 이후 세포가 배양된다. 대안적인 실시형태에서, 배양 전에, 물질 코팅된 비드 및 세포는 분리되지 않고 함께 배양된다. 추가의 실시형태에서, 비드 및 세포는 처음에 자기 힘과 같은 힘의 적용에 의해 농축되어서, 세포 표면 마커의 결합을 증가시키고, 이로써 세포 자극을 유도한다.

[0496] 예에 의해, 항-CD3 및 항-CD28이 부착된 상자성 비드가 T 세포를 접촉시키게 하여서 세포 표면 단백질이 결합될 수 있다. 일 실시형태에서, 세포(예를 들어, CD4+ T 세포) 및 비드(예를 들어, 1:1의 비의 DYNABEAD CD3/CD28 T 상자성 비드)는 완충액 중에 조합된다. 다시, 당업자는 임의의 세포 농도가 사용될 수 있다는 것을 용이하게 인식할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 세포 및 입자의 최대 접촉을 보장하도록 입자 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의미하게 감소시키는 것(즉, 세포의 농도를 증가시키는 것)이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 약 20억개의 세포/ml의 농도가 사용된다. 다른 실시형태에서, 10000만개의 세포/ml 초과가 사용된다. 추가의 실시형태에서, 1000만개, 1500만개, 2000만개, 2500만개, 3000만개, 3500만개, 4000만개, 4500만개 또는 5000만개의 세포/ml의 세포의 농도가 사용된다. 또 다른 실시형태에서, 750억, 800억, 850억, 900억, 950억 또는 1000억개의 세포/ml의 세포의 농도가 사용된다. 추가의 실시형태에서, 12500만개 또는 15000만개의 세포/ml의 농도가 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 1×10^6 개의 세포/ml의 밀도로 배양된 세포가 사용된다.

[0497] 일부 실시형태에서, 혼합물은 몇 시간(약 3시간) 내지 약 14일 또는 이들 사이의 임의의 시간당 정수 값 동안 배양될 수 있다. 다른 실시형태에서, 비드 및 T 세포는 2일 내지 3일 동안 함께 배양된다. T 세포 배양에 적절한 조건은 혈청(예를 들어, 소 태아 또는 인간 혈청), 인터류킨-2(IL-2), 인슐린, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β 및 TNF- α , 또는 당업자에게 공지된 세포의 성장을 위한 임의의 다른 첨가제를 포함하는 증식 및 생존능력에 필요한 인자를 함유할 수 있는 적절한 배지(예를 들어, 최소 필수 배지(Minimal Essential Media) 또는 RPMI 배지 1640 또는 X-vivo 15(Lonza))를 포함한다. 세포의 성장을 위한 다른 첨가제는 계면활성제, 플라즈마네이트 및 환원제, 예컨대 N-아세틸-시스테인 및 2-머캅토에탄올을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 배지는, 무혈청인 또는 혈청(또는 혈장) 또는 한정된 호르몬 세트의 적절한 양, 및/또는 T 세포의 성장 및 확장에 충분한 사이토카인(들)의 양이 보충된, 아미노산, 피루브산나트륨 및 비타민이 첨가된, RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, X-Vivo 15 및 X-Vivo 20, Optimizer를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 배지는 5% 인간 A/B 혈청, 1% 페니실린/스트렙토마이신(pen/strep) 및 300 단위/ml의 IL-2(Miltenyi)가 보충된 X-VIVO-15 배지를 포함한다.

[0498] T 세포는 성장을 지지하는 데 필요한 조건, 예를 들어 적절한 온도(예를 들어, 37°C) 및 분위기(예를 들어, 공기 및 5% CO₂) 하에 유지된다.

[0499] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 조작된 TCR을 포함하는 T 세포는 자가유래이다. 확장 및 계능 변형 전에, 대상체로부터 T 세포의 원천을 얻는다. 말초혈 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉막 삼출, 비장 조직 및 종양을 포함하는 많은 원천으로부터 T 세포와 같은 면역 세포를 얻을 수 있다. 본 발명의 소정의 실시형태에서, 당해 분야에서 이용 가능한 임의의 수의 T 세포주가 사용될 수 있다. 본 발명의 소정의 실시형태에서, Ficoll™ 분리와 같은 당업자에게 공지된 임의의 수의 기법을 사용하여 대상체로부터 수집된 혈액의 단위로부터 T 세포를 얻을 수 있다.

[0500] 일부 실시형태에서, 성분채집술에 의해 개체의 순환 혈액으로부터의 세포를 얻는다. 성분채집술 생성물은 통상

적으로 T 세포, 단핵구, 괴립구, B 세포, 다른 제핵된 백혈구, 적혈구 및 혈소판을 포함하는 림프구를 함유한다. 일부 실시형태에서, 혈장 분획을 제거하고 세포를 후속 가공 단계를 위한 적절한 완충액 또는 배지에 두도록 성분채집술에 의해 수집된 세포를 세척할 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포를 인산염 완충 식염수(PBS)로 세척한다. 대안적인 실시형태에서, 세척 용액은 칼슘이 결여되고, 마그네슘이 결여되거나, 모두는 아니지만 많은 2가 양이온이 결여될 수 있다. 당업자가 용이하게 이해하는 것처럼, 세척 단계는 제조사의 지시에 따라 당업자에게 공지된 방법에 의해, 예컨대 반자동 "통과 흐름" 원심분리(예를 들어, Cobe 2991 세포 가공자, Baxter CytoMate, 또는 Haemonetics Cell Saver 5)를 사용하여 달성될 수 있다. 세척 후, 세포는 예를 들어 완충액과 함께 또는 이것 없이 Ca²⁺ 비함유, Mg²⁺ 비함유 PBS, PlasmaLyte A, 또는 다른 식염수 용액과 같은 다양한 생체적합성 완충액에 재현탁될 수 있다. 대안적으로, 성분채집술 샘플의 바람직하지 않은 성분은 제거되고, 세포는 배양 배지에 바로 재현탁될 수 있다.

[0501] 일부 실시형태에서, T 세포와 같은 면역 세포는 적혈구의 용해 및 단핵구의 고갈에 의해, 예를 들어 PERCOLL™ 구배를 통한 원심분리에 의해 또는 향류 원심 세정에 의해 말초혈 림프구로부터 분리된다. T 세포, B 세포, 또는 CD4+ T 세포와 같은 면역 세포의 특정 하위집단은 양성 선택 기법 또는 음성 선택 기법에 의해 추가로 분리될 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, T 세포는 원하는 T 세포의 양성 선택에 충분한 시간 기간 동안 항-CD4 접합된 비드와의 항온처리에 의해 분리된다.

[0502] 음성 선택에 의한 면역 세포 집단, 예컨대 T 세포 집단의 농후화는 음성으로 선택된 세포에 고유한 표면 마커에 지향된 항체의 조합에 의해 달성될 수 있다. 하나의 방법은 음성으로 선택된 세포에 존재하는 세포 표면 마커에 지향된 단일클론 항체의 카테일을 사용하는 음성 자기 면역부착 또는 유세포분석법을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 농후화하기 위해, 단일클론 항체 카테일은 통상적으로 CD14, CD20, CD 11b, CD 16, HLA-DR 및 CD8에 대한 항체를 포함한다.

[0503] 양성 선택 또는 음성 선택에 의한 원하는 면역 세포 집단의 분리를 위해, 세포 및 표면(예를 들어, 입자, 예컨대 비드)의 농도가 변할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 세포 및 비드의 최대 접촉을 보장하도록 비드 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의미하게 감소시키는 것(즉, 세포의 농도를 증가시키는 것)이 바람직할 수 있다.

[0504] 일부 실시형태에서, 2°C 내지 10°C에서 또는 실온에서 변하는 속도로 변하는 시간 길이 동안 회전자에서 세포를 항온처리할 수 있다.

[0505] 자극을 위한 T 세포 또는 T 세포와 같은 면역 세포가 분리된 PBMC는 또한 세척 단계 후 동결될 수 있다. 이론에 의해 구속되지 않고자 바라면서, 동결 및 후속 해동 단계는 세포 집단에서 괴립구를 제거하고 어느 정도로 단핵구를 제거함으로써 더 균일한 생성물을 제공한다. 혈장 및 혈소판을 제거하는 세척 단계 후, 세포는 동결 용액에서 현탁될 수 있다. 많은 동결 용액 및 매개변수가 당해 분야에 공지되어 있고 이 문맥에서 유용할 것이지만, 하나의 방법은 20%의 DMSO 및 8%의 인간 혈청 알부민을 함유하는 PBS, 또는 10%의 텍스트란 40 및 5%의 텍스트로스, 20%의 인간 혈청 알부민 및 7.5%의 DMSO, 또는 31.25%의 Plasmalyte-A, 31.25%의 텍스트로스 5%, 0.45%의 NaCl, 10%의 텍스트란 40 및 5%의 텍스트로스, 20%의 인간 혈청 알부민 및 7.5%의 DMSO를 함유하는 배양 배지 또는 예를 들어 Hespan 및 PlasmaLyte A를 함유하는 다른 적합한 세포 동결 배지를 사용하는 것을 수반하고, 이후 세포는 분당 1°의 속도로 -80°C로 동결되고, 액체 질소 저장 탱크의 기상에서 저장된다. 제어 동결의 다른 방법뿐만 아니라 즉시 -20°C에서 또는 액체 질소에서 비제어 동결을 사용할 수 있다.

[0506] **약제학적 조성물**

[0507] 본 개시내용은 본 개시내용의 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포 및 약제학적으로 허용 가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0508] 이러한 조성물은 완충액, 예컨대 천연 완충 식염수, 인산염 완충 식염수 등; 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 텍스트란, 만니톨; 단백질; 폴리펩타이드 또는 아미노산, 예컨대 글리신; 항산화제; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA 또는 글루타티온; 및 보존제를 포함할 수 있다.

[0509] **질환을 치료하는 방법**

[0510] 본원에는 본 개시내용의 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포를 포함하는 조성물의 치료학적 유효량을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 치료를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 면역 세포는 동일한 세포에서 조작된 수용체 둘 다를 발현한다.

[0511] 일부 실시형태에서, 치료를 필요로 하는 대상체는 암을 갖는다. 암은 제어 없이 비정상 세포가 분열하고 근처의

조직에 분산하는 질환이다. 일부 실시형태에서, 암은 액체 종양 또는 고형 종양을 포함한다. 예시적인 액체 종양은 백혈병 및 림프종을 포함한다. 액체 종양인 추가의 암은 예를 들어 혈액, 골수 및 림프절에서 발생하는 것일 수 있고, 예를 들어 백혈병, 골수성 백혈병, 림프구성 백혈병, 림프종, 호지킨 림프종, 흑색종 및 다발성 골수종을 포함할 수 있다. 백혈병은 예를 들어 급성 림프아구성 백혈병(ALL: acute lymphoblastic leukemia), 급성 골수성 백혈병(AML: acute myeloid leukemia), 만성 림프구성 백혈병(CLL: chronic lymphocytic leukemia), 만성 골수성 백혈병(CML: chronic myelogenous leukemia) 및 모발 세포 백혈병을 포함한다. 예시적인 고형 종양은 육종 및 암종을 포함한다. 암은 사실상 혈액, 골수, 폐, 유방, 결장, 골, 중추 신경계, 췌장, 전립선 및 난소를 포함하는 신체에서의 장기에서 생길 수 있다. 고형 종양인 추가의 암은 예를 들어 전립선암, 고환암, 유방암, 뇌암, 췌장암, 결장암, 갑상선암, 위암, 폐암, 난소암, 카포시 육종, 피부암, 편평 세포 피부암, 신장암, 두경부암, 갑상선암, 코, 입, 목의 축축한 점막 내벽에 형성하는 편평 암종, 방광암, 골육종, 자궁경부암, 자궁 내막암, 식도암, 간암 및 신장암을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 방법에 의해 치료되는 병태는 흑색종 세포, 전립선암 세포, 고환암 세포, 유방암 세포, 뇌암 세포, 췌장암 세포, 결장암 세포, 갑상선암 세포, 위암 세포, 폐암 세포, 난소암 세포, 카포시 육종 세포, 피부암 세포, 신장암 세포, 두경부암 세포, 목암 세포, 편평 암종 세포, 방광암 세포, 골육종 세포, 자궁경부암 세포, 자궁내막암 세포, 식도암 세포, 간암 세포 또는 신장암 세포의 전이이다.

- [0512] 복수의 암 세포가 제1의, 활성인자 리간드를 발현하고 제2의, 억제제 리간드를 발현하지 않는 임의의 암은 본 개시내용의 범위 내로서 고안된다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법을 사용하여 치료될 수 있는 CEA 양성 암은 결장직장암, 췌장암, 식도암, 위암, 폐 선암, 두경부암, 미만성 대형 B 세포 암 또는 급성 골수성 백혈병 암을 포함한다.
- [0513] 암을 치료하는 것은 종양의 크기를 감소시킬 수 있다. 종양의 크기의 감소는 "종양 회귀"라고도 칭해질 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 크기는 치료 전의 이의 크기에 비해 5% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 종양 크기는 10% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 20% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 30% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 40% 이상만큼 감소하고; 훨씬 더 바람직하게는, 50% 이상만큼 감소하고; 가장 바람직하게는, 75% 이상 초과만큼 감소한다. 종양의 크기는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양의 크기는 종양의 직경으로서 측정될 수 있다.
- [0514] 암을 치료하는 것은 종양 용적을 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 용적은 치료 전의 이의 용적에 비해 5% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 종양 용적은 10% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 20% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 30% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 40% 이상만큼 감소하고; 훨씬 더 바람직하게는, 50% 이상만큼 감소하고; 가장 바람직하게는, 75% 이상 초과만큼 감소한다. 종양 용적은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다.
- [0515] 암을 치료하는 것은 종양의 수를 감소시킨다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 수는 치료 전의 수에 비해 5% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 종양 수는 10% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 20% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 30% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 40% 이상만큼 감소하고; 훨씬 더 바람직하게는, 50% 이상만큼 감소하고; 가장 바람직하게는, 75% 초과만큼 감소한다. 종양의 수는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양의 수는 나안에 가시적인 종양을 계수함으로써 또는 규정된 배율에서 측정될 수 있다. 바람직하게는, 규정된 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x 또는 50x이다.
- [0516] 암을 치료하는 것은 1차 종양 부위로부터 먼 다른 조직 또는 장기에서의 전이성 병변의 수를 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 전이성 병변의 수는 치료 전의 수에 비해 5% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 전이성 병변의 수는 10% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 20% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 30% 이상만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 40% 이상만큼 감소하고; 훨씬 더 바람직하게는, 50% 이상만큼 감소하고; 가장 바람직하게는, 75% 초과만큼 감소한다. 전이성 병변의 수는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 전이성 병변의 수는 나안에 가시적인 전이성 병변을 계수함으로써 또는 규정된 배율에서 측정될 수 있다. 바람직하게는, 규정된 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x 또는 50x이다.
- [0517] 암을 치료하는 것은 담체 단독을 받는 집단과 비교하여 치료된 대상체의 집단의 평균 생존 시간을 증가시킬 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간은 30일 초과만큼 증가하고; 더 바람직하게는, 60일 초과만큼; 더 바람직하게는, 90일 초과만큼; 가장 바람직하게는, 120일 초과만큼 증가한다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 예를 들어 활성 화합물에 의한 치료의 개시 후 집단에 대해 생존기간의 평균 길이를 계산함으로써 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가

는 또한 예를 들어 활성 화합물에 의한 1회차의 치료의 완료 후 집단에 대해 생존기간의 평균 길이를 계산함으로써 측정될 수 있다.

[0518] 암을 치료하는 것은 비치료된 대상체의 집단과 비교하여 치료된 대상체의 집단의 평균 생존 시간을 증가시킬 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간은 30일 초과만큼 증가하고; 더 바람직하게는, 60일 초과만큼; 더 바람직하게는, 90일 초과만큼; 가장 바람직하게는, 120일 초과만큼 증가한다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 예를 들어 활성 화합물에 의한 치료의 개시 후 집단에 대해 생존기간의 평균 길이를 계산함으로써 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한 예를 들어 활성 화합물에 의한 1회차의 치료의 완료 후 집단에 대해 생존기간의 평균 길이를 계산함으로써 측정될 수 있다.

[0519] 암을 치료하는 것은 본 발명의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 프로드럭, 대사물질, 유사체 또는 유도체가 아닌 약물에 의한 단일치료를 받는 집단과 비교하여 치료된 대상체의 집단의 평균 생존 시간을 증가시킬 수 있다. 바람직하게는, 평균 생존 시간은 30일 초과만큼 증가하고; 더 바람직하게는, 60일 초과만큼; 더 바람직하게는, 90일 초과만큼; 가장 바람직하게는, 120일 초과만큼 증가한다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 예를 들어 활성 화합물에 의한 치료의 개시 후 집단에 대해 생존기간의 평균 길이를 계산함으로써 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 시간의 증가는 또한 예를 들어 활성 화합물에 의한 1회차의 치료의 완료 후 집단에 대해 생존기간의 평균 길이를 계산함으로써 측정될 수 있다.

[0520] 암을 치료하는 것은 담체 단독을 받는 집단과 비교하여 치료된 대상체의 집단의 사망률을 감소시킬 수 있다. 암을 치료하는 것은 비치료된 집단과 비교하여 치료된 대상체의 집단의 사망률을 감소시킬 수 있다. 암을 치료하는 것은 본 발명의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 프로드럭, 대사물질, 유사체 또는 유도체가 아닌 약물에 의한 단일치료를 받는 집단과 비교하여 치료된 대상체의 집단의 사망률을 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 사망률은 2% 초과만큼; 더 바람직하게는, 5% 초과만큼; 더 바람직하게는, 10% 초과만큼; 가장 바람직하게는, 25% 초과만큼 감소한다. 치료된 대상체의 집단의 사망률의 감소는 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단의 사망률의 감소는 예를 들어 활성 화합물에 의한 치료의 개시 후 집단에 대해 단위 시간당 질환 관련 사망의 평균 수를 계산함으로써 측정될 수 있다. 집단의 사망률의 감소는 또한 예를 들어 활성 화합물에 의한 1회차의 치료의 완료 후 집단에 대해 단위 시간당 질환 관련 사망의 평균 수를 계산함으로써 측정될 수 있다.

[0521] 암을 치료하는 것은 종양 성장 속도를 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 성장 속도는 치료 전의 수에 비해 적어도 5%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 종양 성장 속도는 적어도 10%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 20%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 30%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 40%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 50%만큼 감소하고; 훨씬 더 바람직하게는, 적어도 50%만큼 감소하고; 가장 바람직하게는, 적어도 75%만큼 감소한다. 종양 성장 속도는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 성장 속도는 단위 시간당 종양 직경의 변화에 따라 측정될 수 있다.

[0522] 암을 치료하는 것은 종양 재성장을 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 종양 재성장은 5% 미만이고; 더 바람직하게는, 종양 재성장은 10% 미만이고; 더 바람직하게는, 20% 미만; 더 바람직하게는, 30% 미만; 더 바람직하게는, 40% 미만; 더 바람직하게는, 50% 미만; 훨씬 더 바람직하게는, 50% 미만; 및 가장 바람직하게는, 75% 미만이다. 종양 재성장은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 재성장은 예를 들어 치료 뒤에 이어지는 과거의 종양 수축 후에 종양의 직경의 증가를 측정함으로써 측정된다. 종양 재성장의 감소는 치료가 중단된 후 재발생하는 종양의 실패에 의해 표시된다.

[0523] 세포 증식성 장애를 치료하거나 예방하는 것은 세포 증식의 속도를 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 세포 증식의 속도는 적어도 5%; 더 바람직하게는, 적어도 10%; 더 바람직하게는, 적어도 20%; 더 바람직하게는, 적어도 30%; 더 바람직하게는, 적어도 40%; 더 바람직하게는, 적어도 50%; 훨씬 더 바람직하게는, 적어도 50%; 가장 바람직하게는, 적어도 75%만큼 감소한다. 세포 증식의 속도는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 세포 증식의 속도는 예를 들어 단위 시간당 조직 샘플에서의 분열 세포의 수를 측정하여 측정된다.

[0524] 세포 증식성 장애를 치료하거나 예방하는 것은 증식 세포의 비율을 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 증식 세포의 비율은 적어도 5%; 더 바람직하게는, 적어도 10%; 더 바람직하게는, 적어도 20%; 더 바람직하게는, 적어도 30%; 더 바람직하게는, 적어도 40%; 더 바람직하게는, 적어도 50%; 훨씬 더 바람직하게는, 적어도 50%; 가장 바람직하게는, 적어도 75%만큼 감소한다. 증식 세포의 비율은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될

수 있다. 바람직하게는, 증식 세포의 비율은 예를 들어 조직 샘플에서의 비분열 세포의 수에 대해 분열 세포의 수를 정규화함으로써 측정된다. 증식 세포의 비율은 유사분열 지수와 동등할 수 있다.

[0525] 세포 증식성 장애를 치료하거나 예방하는 것은 세포 증식의 부위 또는 구역의 크기를 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 세포 증식의 부위 또는 구역의 크기는 치료 전의 이의 크기에 비해 적어도 5%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 10%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 20%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 30%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 40%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 50%만큼 감소하고; 훨씬 더 바람직하게는, 적어도 50%만큼 감소하고; 가장 바람직하게는, 적어도 75%만큼 감소한다. 세포 증식의 부위 또는 구역의 크기는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 세포 증식의 부위 또는 구역의 크기는 세포 증식의 부위 또는 구역의 직경 또는 폭으로서 측정될 수 있다.

[0526] 세포 증식성 장애를 치료하거나 예방하는 것은 비정상 외관 또는 형태를 갖는 세포의 수 또는 비율을 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 치료 후, 비정상 형태를 갖는 세포의 수는 치료 전의 이의 크기에 비해 적어도 5%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 10%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 20%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 30%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 40%만큼 감소하고; 더 바람직하게는, 적어도 50%만큼 감소하고; 훨씬 더 바람직하게는, 적어도 50%만큼 감소하고; 가장 바람직하게는, 적어도 75%만큼 감소한다. 비정상 세포 외관 또는 형태는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 비정상 세포 형태는 예를 들어 도립 조직 배양 현미경을 사용하여 현미경검사에 의해 측정될 수 있다. 비정상 세포 형태는 핵 다형태성의 형태를 취할 수 있다.

[0527] **키트 및 제조 물품**

[0528] 본 개시내용은 본원에 기재된 조작된 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 및 벡터, 및 본원에 기재된 조작된 수용체를 포함하는 면역 세포를 포함하는 키트 및 제조 물품을 제공한다. 일부 실시형태에서, 키트는 물품, 예컨대 바이알, 주사기 및 사용 설명서를 포함한다.

[0529] 일부 실시형태에서, 키트는 본 개시내용의 하나 이상의 조작된 수용체를 암호화하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 포함한다.

[0530] 일부 실시형태에서, 키트는 본원에 기재된 것과 같은 조작된 수용체를 포함하는 복수의 면역 세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 복수의 면역 세포는 복수의 T 세포를 포함한다.

[0531] **실시예**

[0532] **실시예 1: 활성화인자 표적 리간드의 선택**

[0533] 본 발명자들은 활성화인자 리간드에 대한 GTex 유전자 발현 데이터베이스(gtexportal.org/home/)를 살펴보았다. 활성화인자 리간드는 하기 특징을 가져야 한다: 처음에, 하나의 유형의 활성화인자 리간드는 큰 활성화 신호를 전달하는 가능성을 부여하는 높은 표면 발현을 가져야 한다. 대안적으로, MiHA와 같은 활성화인자는 세포 표면에서 낮은 밀도를 가질 수 있다. 둘째로, 활성화인자 리간드는 필수 세포 기능을 가져야 하고, 이는 활성화인자 리간드의 대립유전자가 종양 세포에서의 이수성으로 인해 소실되는 방지하고, 이들이 종양의 전개 동안 돌연변이유발을 덜 겪게 한다. 마지막으로, 활성화인자 리간드는 모든 종양 세포에 존재해야 한다. 억제제 리간드가 또한 표적 세포를 제외한 모든 세포에서 발현되면 활성화인자 리간드는 모든 세포에서 발현될 수 있다. 활성화인자는 또한 암 세포에서 발현되어야 한다. 활성화인자는 억제제와 조합되어 사용될 때 예를 들어 모든 세포에서 널리 발현될 수 있다.

[0534] 도 4a는 트랜스페린 수용체(TFRC)인 예시적인 활성화인자 리간드의 RNA 발현 프로파일을 보여준다. 도 4a에서 볼 수 있는 것처럼, RNA 수준에서의 TFRC의 발현은 편재하고 비교적 고르다. 추가로, TFRC는 필수 유전자이다: 기능 동형접합성 TFRC 돌연변이의 소실은 마우스에서 배아 치사이다.

[0535] 도 4b는 후보 차단제, HLA-A 및 후보 활성화인자, HLA-B의 발현 프로파일을 보여준다. 도 4b에서 볼 수 있는 것처럼, 후보 활성화인자 및 차단제 HLA 클래스 I 발현은 함께 추적하여 활성화인자와 차단제 쌍의 최적화의 도전을 쉽게 한다.

[0536] **실시예 2: 암 세포에서 소실된 억제제 표적 리간드의 선택**

[0537] 이형접합성 소실

[0538] 억제제 리간드의 하나의 가능한 풀은 이형접합성 소실로 인해 종양 세포에서 소실된 리간드이다. 26개의 조직학

적 유형에 걸친 3131개의 종양 샘플의 분석에서, Beroukhi 등은 통상적인 종양에서, 게놈의 25%가 아암 수 단일 카피 수 변경(중복 및 결실)에 의해 영향을 받고, 게놈의 10%가 2% 오버랩으로 병소 단일 카피 수 변경에 의해 영향을 받는다는 것을 발견하였다. (Beroukhi et al, Nature 463:899-905 (2010)). 추가로, 많은 LOH 영역은 종양 유형들 사이에 중첩하고, 영역의 불과 22%는 하나의 종양 유형에 고유하다. 예를 들어, Beroukhi 등은 증폭 피크의 80% 및 결실 피크의 78%가 17개의 가장 대표적인 종양 유형에 흔하다는 것을 발견하였다. 이와 같이, 억제제 LBD에 의해 선택적으로 결합될 수 있는 LOH로 소실된 대립유전자는 표적 세포에 의해 발현되지 않은 잠재적인 억제제 표적이다.

[0539] 본 발명자들은 이형접합성 소실을 통해 암에서 소실된 잠재적인 억제제 리간드에 대해 Cancer Genome Atlas Program (<http://portals.broadinstitute.org/tcga/home>)을 조사하였다. 데이터세트인 all_cancers dataset(모든_암)는 33개의 암 유형으로부터의 10,844개의 암으로 이루어졌다. 하나의 유형의 억제제 리간드는 하기 특징을 가져야 한다: 처음에, 억제제 리간드는 조직에 걸쳐 높은 균질한 표면 발현을 가져야 한다. 이는 큰 공평한 억제 신호를 전달하는 능력을 부여한다. 억제제 리간드는 많은 종양에서 부재하거나 다형성이어야 한다. 추가로, 항체 균주 또는 유전 분석과 같은 종래의 방법을 통해 종양 세포에서 억제제 리간드의 소실을 구별하는 것이 쉬워야 한다. MiHA와 같은 다른 유형의 억제제 리간드는 낮은 표면 발현을 가질 수 있다.

[0540] 억제제 리간드의 하나의 풀은 암 세포에서 LOH를 통해 소실된 주요 조직적합 복합체(MHC) 대립유전자이다. 억제제 리간드로서의 이 대립유전자의 사용은 펩타이드 MHC 표적(pMHC)을 요하지 않고, 예를 들어 pan HLA-A*02 대립유전자가 사용될 수 있다.

[0541] Y 염색체의 소실

[0542] 성인 남성 발현된 Y 염색체 유전자는 Y 염색체의 소실을 통한 잠재적인 억제제 리간드이다. Y 염색체에서 적어도 60개의 단백질 코딩 유전자가 있다. 몇몇 Y 염색체 유전자는 성인 남성에서 광범위하게 발현되고, Y 염색체 소실로 인해 암에서 소실될 수 있다. 몇몇 다른 광범위하게 발현된 세포질 단백질은 pMHC 억제제 후보(예를 들어, TMSB4Y, EIF1AY)이다. NLGN4Y는 광범위하게 남성에서 그리고 또한 후보에서 발현된 I형 내재성 막 단백질이다.

[0543] **실시예 3: 쌍을 지은 A 수용체 및 B 수용체를 갖는 표면 항원이 결합된 세포의 표적화**

[0544] 본 발명자들은 이형접합성 소실에 대한 표적화 시스템이 시험관내 및 마우스 암 모델에서 작동한다는 것을 보여준다.

[0545] 정상 세포와 종양 세포 사이의 구별은 2개의 기능에 따라 달라진다: (i) 종양에서 또한 보유된 정상 세포의 표면 상의 에피토프를 인식하는 활성화인자("A") 수용체; 및 (ii) 종양 세포로부터 소실된 대립유전자 생성물에서의 제2 표면 에피토프를 인식하는 차단제("B") 수용체. 이 실시예에서, 본 발명자들은 A 및 B 둘 다에 대해 펩타이드-MHC(pMHC) 표적을 사용하였다(도 5a 참조):

[0546] • A 수용체로서의 HLA-A*02-MAGE-A3(FLWGPRALV) pMHC에 대한 scFv를 포함하는 키메라 항원 수용체; 및

[0547] • B 수용체로서의 HLA-A*02-NY-ESO-1(SLLMWITQC/V)에 결합하는 scFv를 포함하고, PD-1 세포내 도메인(ICD), CTLA-4 세포내 도메인(ICD) 또는 LILRB1(LIR1) 세포내 도메인(ICD)을 포함하는 키메라 항원 수용체.

[0548] PD-1 ICD 또는 CTLA-4-ICD를 갖는 각각의 차단제(B) 수용체는 자극으로서 T2 세포에 로딩된 펩타이드의 적정에 의해 측정된 것처럼 10x 미만의 저카트 세포에서의 활성화의 EC50의 이동을 매개하였다(도 5b). 놀랍게도, NY-ESO-1 LBD 및 LIR-1의 세포내 도메인, 막관통 도메인 및 힌지 도메인(LILRB1) 수용체를 포함하는 B 수용체는 5,000x 초과 EC50 이동을 매개하였다(또한 도 5b). SLLMWITQC/V 이외의 비관련된 대조군 HLA-A*02-결합 펩타이드의 적정은 통상적으로 10x 미만의 총 이동에 대한 기여인 이용 가능한 HLA 분자에 대해 T2 세포에 대한 로딩된 펩타이드의 경쟁에 의해 야기된 이동의 추정치를 제공하였다(도 8). 본원에 보고된 EC50 이동 값에 대해, 본 발명자들은 통상적으로 활성화인자 단독 자체물의 EC50을 비교한다.

[0549] 4개의 상이한 pMHC 표적에 대해, 총 6개의 상이한 scFv는 10 내지 1,000x 범위의 EC50으로 LIR-1 매개된 급격한 이동에 일을 하였다(도 5c). EC50 이동의 정도(즉, 차단 강도)는 표준 CAR에 융합될 때 scFv의 EC50과 상관되었다(데이터 비도시). LIR-1 B 신호전달은 다수의 A 표적 및 scFv로부터의 A 신호전달을 차단하였다(도 5d, 도 26). 봉쇄는 리간드 의존적이었다(도 9). LBD를 갖지만, ICD가 결합되거나 ICD의 중요한 요소에서 돌연변이를 함유하는 대조군 B 수용체는 A 수용체 신호에 의해 활성화를 차단하지 않는다. (도 10). A 수용체 및 B 수용

체를 갖는 조작된 T 세포는 다수의 표적 항원 및 항원 결합 도메인(즉, LBD 서열)에 걸쳐 작용한다.

- [0550] LIR-1 ICD는 또한 3개의 상이한 pMHC 표적에 의해 T 세포 수용체(TCR) 세포의 도메인에 융합될 때 작용한다(방법 참조). MAGE-A3으로부터 2개 및 HPV로부터의 1개인 3개의 상이한 pMHC 표적에 대한 TCR을 분석하였다. 모든 경우에, LIR-1 기반 B 수용체는 활성화 EC50을 1,000 내지 10,000x의 범위로 다량 이동시켰다. NY-ESO-1 TCR 가변 도메인 LBD "ESO(Ftcr)"가 이것에 융합된 LIR-1 기반 B 수용체는 또한 CAR 또는 TCR에 의한 활성화를 차단할 수 있었다. 이는 하기 수용체 쌍을 포함하였다.
- [0551] 1.MAGE-A3_{FLWGPRLV} 펩타이드:MHC 복합체에 결합하는 TCR LBD를 포함하는 활성화인자(A) TCR("MP1-TCR")은 scFv NY-ESO-1 scFv LBD("ESO") 및 LIR-1 ICD를 포함하는 B 수용체에 의해 차단되었고, 이는 활성화 EC50을 다량 이동시켰다(도 5e);
- [0552] 2.MAGE-A3_{MPKVAELVHFL} 펩타이드:MHC 복합체에 결합하는 제2 TCR LBD를 포함하는 A TCR("MP2-TCR")은 scFv NY-ESO-1 scFv LBD("ESO") 및 LIR-1 ICD를 포함하는 B 수용체에 의해 차단되었고, 이는 활성화 EC50을 다량 이동시켰다(도 5e);
- [0553] 3.HPV_{THTDIIIECV} 펩타이드:MHC 복합체에 결합하는 TCR LBD를 포함하는 A TCR("HPV E6-TCR")은 scFv NY-ESO-1 scFv LBD("ESO") 및 LIR-1 ICD를 포함하는 B 수용체에 의해 차단되었고, 이는 활성화 EC50을 다량 이동시켰다(도 5e);
- [0554] 4.MAGE-A3_{FLWGPRLV} 펩타이드:MHC 복합체에 결합하는 TCR LBD를 포함하는 A TCR("MP1-TCR")은 NY-ESO-1 TCR LBD("ESO(Ftcr)") 및 LIR-1 ICD를 포함하는 B 수용체에 의해 차단되었다, 이 차단제는 활성화 EC50을 다량 이동시켰다(도 5f);
- [0555] 5.MAGE-A3_{FLWGPRLV} 펩타이드:MHC 복합체에 결합하는 scFv LBD를 포함하는 A CAR("MP1-CAR")은 TCR NY-ESO-1 TCR 가변 도메인 LBD("ESO(Ftcr)") 및 LIR-1 ICD를 포함하는 B 수용체에 의해 차단되었다. 이 차단제는 활성화 EC50을 다량 이동시켰다(도 5f).

[0556] 시스 효과의 확인

[0557] 조작된 효과기 세포는 오직 A+인 잠재적인 표적 세포를 구별해야 하고, 즉 이중 A+ 및 B+인 것으로부터 활성화인자를 오직 디스플레이해야 한다. 의도된 것처럼 본 발명자들의 수용체 시스템 작업을 단언하기 위해, 대략 세포 크기(*d* 약 2.8 μm)의 표적 로딩된 비드가 A 수용체 및 B 수용체를 갖는 조작된 효과기 세포(저카트 세포)에 의해 시험되었다(도 5g). A+ 비드가 총 비드의 불과 20%를 포함할 때에도 효과기 세포는 확실히 A+ 비드와 B+ 비드의 혼합물에 의해 활성화되었다. 이는 효과기 세포가 (B+ 비드에 의해 표시된) 정상 세포를 포함하는 혼합 집단에서 (A+ 비드에 의해 표시된) 이형접합성 소실을 갖는 표적을 인식할 수 있다는 것을 확인시켜준다.

[0558] 표적 농도 독립성의 확인

[0559] 환자에서, 표적 밀도는 A 표적 및 B 표적의 발현 수준에 따라 변할 것이다. 본 발명자들은 상기 시스템이 A 표적 밀도가 변할 때(데이터 비공개) 및 B 표적 밀도가 변할 때(도 5h)인 둘 다에 고밀도 표적 및 저밀도 표적 둘 다로 작동한다는 것을 확인하였다. 도 5h에서, 펩타이드 독립적 방식으로 B 세포 마커 CD19 또는 HLA-A*02에 결합된 scFv가 시험되었다. 이 비-pMHC 표적은 100,000개의 에피토프/세포의 범위로 연장될 수 있는 표면 항원을 나타낸다. 이 경우에, A 대 B 모듈 발현의 비는 일시적 형질주입 검정에서 상이한 DNA 농도를 사용하여 변했다. 10x 초과 Emax 이동이 관찰되었다. 이 실험은 pMHC 표적에 관찰된 이중 수용체 시스템의 특성이 고밀도 표적에 대해 일반적으로 동일하다는 것을 보여주었다.

[0560] 1차 T 세포에서의 B 수용체 기능

[0561] 세포 생존능력에 대한 판독정보로서 루시페라제에 의해 표적 펩타이드의 적정이 로딩된 레닐라 루시페라제(Biosettia)를 발현하는 MCF7 종양 세포는 표적 세포로서 사용되었다. 1차 T 세포는 A 수용체로서의 HPV TCR("HPV E7 TCR") 및 LIR-1 힌지, 막관통 도메인 및 ICD에 융합된 항-NY-ESO-1 scFv를 포함하는 B 수용체("ESO-LIR-1")에 의해 형질도입되거나, 형질도입되지 않는다("비형질도입됨"). 형질도입된 T 세포는 B 수용체 LBD에 결합하는 HLA-A*02 사합체에 커플링된 비드를 사용하여 물리적 선택을 통해 농후화된다. 표적 농도를 변화시키기 위해, 표적 세포는 다양한 양의 HPV 펩타이드가 로딩되었다. 1차 T 세포는 용량 의존적 방식으로 활성화되었다. B 수용체의 발현은 EC50 곡선을 약 100x만큼 이동시켰다(도 6a). 저카트 세포에서 (다양한 활성화인자

: 차단제 DNA 비를 형질주입하여 달성된) A 수용체 대 B 수용체의 다양한 비에서 항-HLA-A*02 LBD 및 LIR-1 힌지, 막관통 도메인 및 ICD를 포함하는 B 수용체와 쌍을 이룬 항-NY-ESO-1 CAR A 수용체에 대해 유사한 결과를 얻었다(도 6b). 이 결과는 T 세포에서 HLA-A*02 차단제와 쌍을 이룬 CD19 CAR 활성화인에 의해 확인되었다(도 6c). 이와 같이, 활성화인자 및 차단제 수용체 쌍의 기본 기능은 이의 복합함, 이질성 및 공여자-대-공여자 가변성에도 불구하고 1차 T 세포에서 재현되었다.

[0562] **실시예 4: 쌍을 이룬 A 및 B 수용체에 의한 이형접합성 소실의 표적화**

[0563] HLA 유전자좌는 오직 HLA-A*02 대립유전자를 갖는 집단의 하위집단으로 다형이다. 로딩된 펩타이드에 독립적인 HLA*02 대립유전자의 MHC에 결합하는 리간드 결합 도메인("pan HLA-A*02" LBD)은 종양 세포에서 HLA에 이형접합성이고 HLA-A*02 대립유전자의 LOH를 갖는 대상체에서 종양을 표적화하도록 사용될 수 있다.

[0564] HLA-A*02-특이적 scFv는 LIR-1 모듈에 융합되고, 저카트 세포에서 pMHC 의존적 활성화인자(ESO-CAR, 도 6b)의 존재 하에 차단제로서 기능하는 것으로 나타났다. 게다가, 항-CD19 scFv를 포함하는 A 수용체 및 HLA-A*02-특이적 scFv 및 LIR-1 LBD를 포함하는 B 수용체 둘 다를 발현하는 1차 T 세포에서, B 수용체는 A 수용체를 원하는 대로 차단하였다(도 6c).

[0565] CD19+이고 HLA-A*02에 음성인 라지 표적 세포는 LOH를 통해 소실된 HLA-A*02를 갖는 종양 세포를 모델링하도록 사용될 수 있다. HLA-A*02를 안정하게 발현하는 동일한 세포주는 정상 세포의 모델로서 사용될 수 있다. 라지 표적 세포가 오직 CD19를 발현하면 라지 세포주는 CD19 CAR 및 HLA-A*02 LIR-1 차단제를 발현하는 저카트 효과기 세포를 활성화하였다. 라지 표적 세포가 HLA-A*02를 발현하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 형질주입될 때, 저카트 효과기 세포의 활성화가 차단되었다(도 11).

[0566] 상기 기재된 것처럼, A 수용체 결합 CD19 및 B 수용체 결합 HLA-A*02는 1차 T 세포뿐만 아니라 저카트 세포에서 작동하였다. 조작된 T 세포는 HLA-A*02 발현의 부재 하에 CD19 발현 라지 세포를 사멸하였다(도 6c, 상부 패널). CD19 및 HLA-A*02 둘 다를 발현한 라지 세포는 오직 활성화 모듈을 발현하는 T 세포에 의해 사멸되었지만, 활성화인자 및 차단제 모듈 둘 다를 발현하는 T 세포에 의해 동시배양될 때 감마-인터페론(IFN γ) 분비(데이터 비도시) 및 세포독성 둘 다로부터 차단되었다(도 6c, 중간 패널). 활성화인자 및 차단제 모듈을 보유하는 1차 T 세포는 혼합된 배양에서 CD19+/HLA-A*02+ "정상" 세포(도 6c, 오른쪽 패널)로부터 CD19+ "종양"(도 6c, 하부 패널)을 구별하였다.

[0567] 활성화인자 및 차단제 기전에 기초한 T 세포 치료제는 가역적으로 작용할 수 있어야 하고, 즉 봉쇄의 상태에서부터 활성화로 그리고 다시 봉쇄로 사이클링할 수 있어야 한다. 효과기 세포를 CD19+ 또는 D19+/HLA-A*02+ 중 어느 하나인 여러 회차의 라지 세포와 동시배양하였고, 이들은 회차들 사이의 배양으로부터 제거되었다. 원하는 것처럼, 표적 세포 노출의 차단-사멸-차단 프로그램(도 6d) 및 사멸-차단-사멸 프로그램(도 6e) 둘 다에 대해 정상 세포에 노출된 효과기 세포는 라지 표적 세포에 노출될 때 활성화되지 않았다. 효과기 T 세포는 이들이 노출된 표적 세포에 따라 차단의 상태로부터 세포독성으로 그리고 다시 사이클링할 수 있었다.

[0568] **실시예 5: 쌍을 지은 A 및 B 수용체에 의한 이형접합성 소실의 생체내 표적화**

[0569] 본 발명자들은 생체내 실험에 대해 준비하기 위해 1차 T 세포에서 조작된 CD19/HLA-A*02 활성화인자/차단제 쌍이 표준 CD3/CD28 자극을 사용하여 많은 수로 시편관내 확장이 가능하게 되었다는 것을 보여주었다(도 7a). 이와 같이, 세포 산물은 치료제로서 환자에서 사용하기 위한 충분한 분량으로 제조될 수 있다.

[0570] 면역손상된 (NGS-HLA-A2.1) 마우스의 옆구리로 라지 표적 세포를 주사함으로써 CD19+/HLA-A*02+ 또는 CD19+/HLA-A*02- 종양 세포 마우스 이종이식편이 생성되었다(도 7b). 라지 세포를 2e6개 또는 1e7개의 T 세포인 2의 용량에서 주사하고, 시간에 걸쳐 종양 성장 및 이식된 T 세포의 지속성을 분석하였다. 오직 CD19+/HLA-A*02- 종양 세포는 전달된 T 세포 수에 의해 추적된 마우스 및 종양 대조군에서 사멸되어서 숙주 마우스의 생존을 촉진한다(도 7c 내지 도 7e 및 도 12). 정상 세포를 모델링하도록 설계된 정상 CD19+/HLA-A*02+ 세포는 치료에 의해 영향을 받지 않는다.

[0571] **요약**

[0572] 본 발명자들은 LOH로부터 유래된 암 표적의 광범위한 새로운 종류의 이점을 취할 수 있는 합성 신호 통합 시스템을 개발하였다. 상기 시스템은 부당한 실험 없이 LOH를 갖는 환자에 대한 세포 치료의 요건을 충족한다. 상기 시스템은 저카트 세포, 1차 T 세포 및 생체내에서 튼튼히 작동한다. 이 시스템은 또한 (i) 모듈식 및 가요성이고, 상이한 표적 밀도로 CAR 및 TCR 양상에 걸쳐 작동하고; (ii) 차단제 및 활성화인자 표적에 의해 침묵화될 때

소수의 세포가 오직 활성인자를 발현할 때가 아니라 시스에서 하나의 표면에 존재하고; (iii) 신체에 걸쳐 종양 세포를 사냥할 필요성과 일치하여 가역적으로 상태를 스위칭한다.

[0573] **실시예 6: 실시예 3 내지 실시예 5를 위한 방법**

[0574] 세포 배양

[0575] BPS Bioscience로부터 NFAT 루시퍼라제 리포터를 암호화하는 저카트 세포를 얻었다. ATCC로부터 이 연구에서 사용된 모든 다른 세포주를 얻었다. 배양에서, 저카트 세포를 10% FBS, 1% Pen/Strep 및 0.4mg/mL G418/제네티신이 보충된 RPMI 배지에서 유지했다. ATCC에 의해 제시된 것처럼 T2, MCF7 및 라지 세포를 유지시켰다. 5의 MOI에서 라지 세포를 HLA-A*02 렌티바이러스(커스텀 렌티바이러스, Alstem)로 형질도입함으로써 "정상" 라지 세포를 제조하였다. FACSMelody Cell Sorter(BD)를 사용하여 HLA-A*02-양성 라지 세포를 분류하였다.

[0576] 플라스미드 작제

[0577] 힌지, 막관통 영역, 및/또는 백혈구 면역글로불린 유사 수용체 하위패밀리 B 구성원 1, LILRB1(LIR-1), 예정 세포사 단백질 1, PDCD1(PD-1) 또는 세포독성 T 림프구 단백질 4, CTLA4(CTLA-4)의 세포내 도메인을 포함하는 수용체의 도메인에 NY-ESO-1 scFv LBD를 융합함으로써 NY-ESO-1-반응성 억제 작제물이 생성되었다. 유전자 분절은 Golden Gate 클로닝을 사용하여 조합되고, 렌티바이러스 발현 플라스미드에 함유된 인간 EF1 α 프로모터의 하류에 삽입되었다.

[0578] 저카트 세포 형질주입

[0579] 3 펄스, 1500 V, 10 msec의 설정을 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 100 μ L 형식 Neon 전기천공 시스템(Thermo Fisher Scientific)을 통해 저카트 세포를 일시적으로 형질주입하였다. 동시형질주입을 1e6개의 세포당 1 내지 3 μ g의 활성인자 CAR 또는 TCR 작제물 및 1 내지 3 μ g의 scFv 또는 Fcr 차단제 작제물 또는 빈 벡터로 수행하고, 20% 열 불활성화된 FBS 및 0.1% Pen/Strep가 보충된 RPMI 배지에서 회수하였다.

[0580] 저카트-NFAT-루시퍼라제 활성화 연구

[0581] Genscript에 의해 펩타이드, MAGE-A3(MP1; FLWGPRALV), MAGE-A3(MP2; MPKVAELVHFL), HPV E6(TIHDIIIECV), HPV E7(YMLDLQPET) 및 변형된 NY-ESO-1 ESO(ESO; SLLMWITQV)를 합성하였다. 활성화 펩타이드는 50 μ M에서 시작하여 연속 희석되었다. 차단제 펩타이드인 NY-ESO-1은 (달리 표시되지 않는 한) 50 μ M으로 희석되었고, 이것은 활성화 펩타이드 연속 희석액에 첨가되고 후속하여 1% BSA 및 0.1 % Pen/Strep가 보충된 15 μ L의 RPMI 중에 1e4 T2 세포에 로딩되고, Corning® 384웰 Low Flange White Flat Bottom Polystyrene TC-treated Microplates에서 항온처리되었다. 다음날, 1e4 저카트 세포를 10% 열 불활성화된 FBS 및 0.1% Pen/Strep가 보충된 15 μ L의 RPMI에 재현탁시키고, 펩타이드 로딩된 T2 세포에 첨가하고, 6시간 동안 동시배양하였다. 저카트 발광을 평가하도록 ONE-Step Luciferase Assay System(BPS Bioscience)이 사용되었다. 기술적 중복으로 검정이 수행되었다.

[0582] 1차 T 세포 형질도입, 확장 및 농후화

[0583] 동결된 PBMC를 37°C 수욕에서 해동하고, 1% 인간 혈청을 갖는 LymphoONE(Takara)에서 1e6개의 세포/mL로 배양하고, IL-15(10ng/mL) 및 IL-21(10ng/mL)이 보충된 1:100의 T 세포 TransAct(Miltenyi)를 사용하여 활성화하였다. 24시간 후, 렌티바이러스를 5의 MOI에서 PBMC에 첨가하였다. 세포가 TransAct 자극 하에 확장하게 하도록 PBMC를 추가 2일 내지 3일 동안 배양하였다. 확장 후, 제조사의 지시에 따라 항-PE 마이크로비드(Miltenyi)를 사용하여 활성인자 및 차단제 형질도입된 1차 T 세포는 농후화되었다. 간단히, 1차 T 세포를 MACS 완충액(PBS 중의 0.5% BSA + 2 mM EDTA)에서 4°C에서 30분 동안 1:100 희석으로 CD19-Fc(R&D Systems)와 항온처리하였다. 세포를 MACS 완충액 중에 3회 세척하고, MACS 완충액 중에 4°C에서 30분 동안 2차 항체(1:200) 중에 항온처리하였다. 이후, 세포를 항-PE 마이크로비드에서 항온처리하고, LS 칼럼(Miltenyi)을 통해 통과시켰다.

[0584] 1차 T 세포 시험관내 세포독성 연구

[0585] pMHC 표적에 의한 세포독성 연구를 위해, 농후화된 1차 T 세포를 48시간 동안 3:1의 효과기:표적 비로 상기 기재된 것처럼 표적 펩타이드의 적정으로 로딩된 레닐라 루시퍼라제(Biosettia)를 발현하는 2e3개의 MCF7 세포와 항온처리하였다. Renilla Luciferase Reporter Assay System(Promega)을 사용하여 살아 있는 루시퍼라제 발현 MCF7 세포를 정량화하였다. 비-pMHC 표적에 의한 세포독성 연구를 위해, 농후화된 1차 T 세포를 6일 이하 동안 3:1의 효과기:표적 비로 2e3개의 WT 라지 세포("종양" 세포) 또는 HLA-A*02 형질도입된 라지 세포("정상" 세

포)와 항온처리하였다. GFP 및 레닐라 루시페라제(Biosettia)를 안정하게 발현하는 WT "중양" 라지 세포 또는 HLA-A*02 "정상" 라지 세포는 안정하게 발현하는 RFP이고, 반딧불이 루시페라제(Biosettia)는 IncuCyte 생 세포 영상화기를 사용하여 비표지된 1차 T 세포와 함께 영상화하였다. IncuCyte 영상화 소프트웨어를 사용하여 시간에 걸쳐 생 라지 세포의 형광 강도를 정량화하였다. 가역성 연구를 위해, 농후화된 1차 T 세포를 3일 동안 "정상" 또는 "중양" 라지 세포와 유사하게 동시배양하고 영상화하였다. 3일 후, T 세포를 CD19 음성 선택을 사용하여 남은 라지 세포로부터 분리하고, 기재된 것처럼 새로운 "정상" 또는 "중양" 라지 세포로 제시되었다. 별개의 웰에서, Dual-Luciferase Reporter Assay System(Promega)을 사용하여 생 루시페라제 발현 라지 세포를 정량화하였다.

[0586] 마우스 이중이식 연구

[0587] 동결된 PBMC를 37°C 수욕에서 해동하고, 활성화 전에 무혈청 TexMACS 배지(Miltenyi)에서 밤새 휴지시켰다. IL-15(20ng/mL) 및 IL-21(20ng/mL)이 보충된 T 세포 TransAct (Miltenyi) 및 TexMACS 배지를 사용하여 PBMC를 1.5e6개의 세포/mL에서 활성화하였다. 24시간 후, 렌티바이러스를 5의 MOI에서 PBMC에 첨가하였다. 세포가 TransAct 자극 하에 확장하게 하도록 PBMC를 추가 8일 내지 9일 동안 배양하였다. 확장 후, 생체내 주사 전에 스트렙타비딘-PE-HLA-A*02-pMHC에 대해 항-PE 마이크로비드(Miltenyi)를 사용하여 T 세포는 A2-LIR-1(LIR-1 힌지, TM 및 ICD에 융합된 pMHC HLA-A*02 ScFv)에서 농후화되었다.

[0588] The Jackson Labs로부터 5주령 내지 6주령 암컷 NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(HLA-A/H2-D/B2M)1Dvs/SzJ (NSG-HLA-A2/HHD) 마우스를 구입하였다. 동물을 연구의 개시 전 적어도 3일 동안 수용 환경에 순응시켰다. 동물을 오른쪽 옆구리에서 피하로 100 μ L의 부피로 2e6개의 WT 라지 세포 또는 HLA-A*02 형질도입된 라지 세포로 주사하였다. 종양이 70 mm^3 의 평균에 도달할 때($V = L \times W \times W/2$), 동물을 5개의 그룹으로 무작위화하고($n=7$), 2e6개(데이터 비기재) 또는 1e7개의 T 세포를 꼬리 정맥을 통해 투여하였다. T 세포 주사 후, 종양 측정을 매주 3회 수행하고, 유동 분석 후 10일 및 17일에 혈액을 수집하였다. RBC 용해 후, 세포를 항-hCD3 항체, 항-hCD4 항체, 항-hCD8 항체, 항-msCD45 항체(Biolegend)에 의해 염색하였다.

[0589] **실시예 7:**

[0590] 이전에 기재된 것처럼 NFAT-루시페라제 리포터 시스템을 사용하여 EGFR 항원 결합 도메인(CT479)과 함께 활성인자 CAR을 발현하는 저카트 세포의 활성화를 차단하는 HLA-A-A*02 항원 결합 도메인 및 LIR-1 ICD(C1765)를 갖는 차단제 수용체의 능력을 분석하였다. EGFR+ 및 HLA-A*02-인 야생형 HeLa 종양 세포를 표적 세포로서 사용하였다. 활성인자 및 차단제 항원 둘 다를 발현하는 표적 세포로서 사용하기 위해 EGFR+ /HLA-A*02+ HeLa 세포를 생성하기 위해 HLA-A*02+를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 EGFR+/ HLA-A*02- HeLa 세포를 또한 형질도입하였다.

[0591] 도 13에 도시된 것처럼, EGFR CAR을 발현하는 저카트 세포에서의 HLA-A*02 LIR-1 차단제의 발현은 차단제를 발현하지 않는 저카트 세포의 CAR E_{MAX} 와 비교하여 5배 초과만큼 CAR E_{MAX} 를 이동시킨다.

[0592] 게다가, 표적 세포에서 더 낮은 HLA-A2 발현 수준에 의해 더 낮은 차단이 관찰되었다. 야생형 HCT116 세포는 EGFR+ 및 HLA-A*02이다. EGFR 및 HLA-A*02의 수준은 항-EGFR 항체 및 항-HLA-A*02 항체(BB7.2)를 사용하여 HLA-A*02 폴리뉴클레오타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 형질도입된 HCT116 세포 및 HeLa 세포에서 분석된 후 FACs 분류가 되었다. 도 14a 및 도 14b에 도시된 것처럼, HCT116 세포는 형질도입된 HeLa 세포보다 차단제 HLA-A*02 항원의 더 낮은 수준을 갖는다. EGFR CAR 및 HLA-A*02 LIR-1 차단제를 발현하는 저카트 세포가 EGFR 및 HLA-A*02 항원을 발현하는 HCT116 표적 세포에 의해 제시될 때, HLA-A*02 LIR-1 차단제의 존재는 EGFR CAR의 E_{MAX} 를 1.8배 이동시켰다(도 15b). 이와 반대로, 더 높은 수준의 HLA-A*02 항원을 발현한 형질도입된 HeLa 세포는 5배 초과 EGFR CAR E_{MAX} 이동을 매개할 수 있었다(도 13). 대조군으로서, EGFR 넥아웃 HCT116 세포에 의한 최소 활성화가 있었다(도 15a).

[0593] EGFR CAR 및 HLA-A*02 LIR-1 차단제를 사용하여 50% 차단을 달성하는 데 필요한 차단제 대 활성인자의 비는 비드 기반 시스템을 사용하여 분석되었고, 이는 도 16a 및 도 16b에 도시되어 있다.

[0594] 활성인자 항원의 EC50을 결정하기 위해, 활성인자 비드를 상이한 농도에서 활성인자 항원으로 코팅하였다. 비관련 단백질은 총 단백질 농도가 동일하도록 각각의 농도로 첨가되었고, 일정한 양의 비드는 EGFR CAR을 발현하는 저카트 효과기 세포에 첨가되었다(도 16a).

- [0595] 차단제 항원 IC50을 결정하기 위해, 비드를 (도 16a에서 결정된) EC50 농도에서 활성인자 항원으로 코팅하고, 상이한 농도에서 차단제 항원으로 코팅하였다. 비관련 단백질은 총 단백질 농도가 동일하게 있도록 각각의 농도에서 첨가되었고, 일정한 양의 비드는 EGFR CAR 또는 EGFR CAR 및 HLA-A*02 LIR-1 차단제를 발현하는 저카트 효과기 세포에 첨가되었다(도 16b).
- [0596] **실시예 8: LIR-1 기반 차단제는 고휘 종양 세포주를 사용하여 TCR 신호전달을 억제할 수 있다**
- [0597] 상이한 농도의 활성인자 및 차단제 펩타이드가 로딩된 A375 표적 세포를 사용하여 MAGE-A3 활성인자 TCR 및 NY-ESO-1 scFv LIR-1 기반 억제 수용체(LIR-1 힌지, TM 및 ICD를 포함)를 발현하는 저카트 효과기 세포를 분석하였다. 저카트 세포 활성화는 NFAT 루시퍼라제 검정을 사용하여 분석되었다(실시예 6 참조). 도 17에 도시된 것처럼, 50 μM NY-ESO-1 펩타이드에 의한 A375 세포의 로딩은 활성인자 TCR E_{MAX}를 10배 초과로 이동시켰다. A375 세포 대 T2 표적 세포에서 펩타이드 로딩 효율의 약 100x 차이가 추정되었다. 펩타이드 로딩은 명확한 치료학적 지수에 원인일 수 있다.
- [0598] **실시예 9: HLA-A*02 LIR-1 기반 차단제는 B 세포 백혈병 세포주를 사용하여 CAR 신호전달을 억제할 수 있다**
- [0599] NALM6 표적 세포를 사용하여 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체(LIR 힌지, TIM 및 ICD를 포함)의 동시발현이 있거나 없는 비-pMHC, 고밀도 CD19 특이적 활성인자(CD19 scFv CAR 활성인자)를 발현하는 저카트 효과기 세포를 분석하였다. 저카트 세포 활성화는 NFAT 루시퍼라제 검정(실시예 6 참조)을 사용하여 분석되었고, 효과기 대 표적 세포(E:T) 비가 변했다.
- [0600] 도 18에 도시된 것처럼, 저카트 세포에 의한 차단제의 발현은 CAR의 E_{MAX}를 5배 초과만큼 이동시킬 수 있었다.
- [0601] **실시예 10: HLA-A*02 LIR-1 기반 차단제는 용량 의존적 방식으로 CAR 신호전달을 억제할 수 있다**
- [0602] 변하는 양의 펩타이드가 로딩된 T2 표적 세포를 사용하여 NY-ESO-1 scFv CAR 및 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체를 발현하는 저카트 효과기 세포를 분석하였다(주목, 이 경우에 활성인자 및 차단제 ScFv 둘에 의해 동일한 펩타이드가 인식된다). 저카트 세포 활성화는 NFAT 루시퍼라제 검정을 사용하여 분석되었다(실시예 6 참조). 저카트 세포에 의해 발현된 수용체의 비를 변화시키도록 활성인자 대 차단제 DNA의 다양한 비, 즉 1:1, 1:2 및 1:3의 활성인자 대 차단제에 의해 저카트 세포를 형질주입하였다.
- [0603] 도 19에서 볼 수 있는 것처럼, 1:1의 비로 활성인자 및 차단제 수용체 DNA에 의해 형질주입된 저카트 세포에 의해서도, MHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체(차단제)는 활성인자 CAR에 의해 저카트 세포의 활성화를 억제할 수 있었다. 게다가, 억제 수용체가 활성화를 차단하는 정도는 저카트 세포 형질주입에서 사용된 활성인자 수용체 DNA와 비교하여 억제 수용체 DNA의 증가된 양에 의해 증가하였다.
- [0604] **실시예 11: HLA-A*02 LIR-1 기반 차단제는 조정 가능한 강도로 보편적 (pan HLA 클래스 I) 활성인자를 억제할 수 있다**
- [0605] HLA-A*02 양성 T2 세포를 사용하여 pan HLA 항체 W6/32에 기초한 3개의 상이한 scFv 결합 도메인을 갖는 pan HLA scFv CAR, 및 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체를 발현하는 저카트 효과기 세포의 활성화를 분석하였다. 도 20으로부터 볼 수 있는 것처럼, 각각의 활성인자 scFv는 HLA-A*02-음성 저카트 세포에서 상이한 기능적 신호를 지지하였다. 저카트 세포가 1:2의 E:T 비에서 HLA-A*02-양성 T2 표적 세포와 접촉될 때 pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체는 모든 3개의 pan HLA scFv CAR로부터 기능적 신호를 차단할 수 있었다. 게다가, pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1 기반 억제 수용체는 25배까지 활성인자를 억제할 수 있었다.
- [0606] **실시예 12: HLA-A*02 LIR-1 기반 억제 수용체는 MSLN CAR 활성인자에 의해 활성화를 차단할 수 있다**
- [0607] 실시예 6에 기재된 것과 같은 NFAT 루시퍼라제 검정을 사용하여 MSLN CAR 활성인자 및 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체를 발현하는 저카트 효과기 세포의 활성화를 분석하였다.
- [0608] 저카트 세포를 1:4의 비의 활성인자:차단제 DNA에 의해 형질주입하고, 무세포 비드 기반 검정에서 활성화를 분석하였다(도 21a). 비드를 활성인자 항원, 또는 활성인자 및 차단제 항원으로 로딩하고, 비드 대 저카트 세포의 비가 변했다. 무세포 비드 기반 검정에서, pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체는 세포가 시스로 pMHC HLA-A*02 차단제 및 MSLN 활성인자를 보유하는 비드와 접촉할 때 저카트 세포의 활성화를 차단할 수 있었다. 비드에서의 pMHC HLA-A*02 차단제의 존재는 12X 이상만큼 MSLN CAR의 E_{MAX}를 이동시킬 수 있었다(도 21a).
- [0609] 만성 골수성 백혈병 세포주 K562를 사용하여 활성화에 대해 1:4 DNA 비의 동일한 활성인자 및 차단제에 의해 형

질주입된 활성화 저카트 세포를 분석하였다. K562는 MSLN인 활성화인자 항원을 발현한다. 활성화인자 및 차단제 항원(MSLN+ HLA-A*02+) 둘 다를 발현하도록 HLA-A*02에 의해 형질도입된 K562 세포 및 차단제 항원이 아니라 활성화인자를 발현한 비형질도입된 K562 (MSLN+ HLA-A*02-)에 대한 저카트 효과기 세포의 반응을 분석하였다. 도 21b로부터 볼 수 있는 것처럼, K562 세포에 의한 HLA-A*02+의 발현은 MSLN CAR E_{MAX}를 5X 초과만큼 이동시킬 수 있었다.

[0610] 실시예 6에서 라지에 기재된 것처럼 효과기 1차 T 세포 및 SiHa 또는 HeLa 표적 세포를 사용하여 MSLN ScFv CAR을 통해 활성화를 차단하는 pMHC HLA-A*02 억제 수용체의 능력을 또한 분석하였다. SiHa 및 HeLa 세포는 MSLN을 내인성으로 발현하고, HLA-A*02 억제 수용체 표적을 발현하도록 형질도입되었다. IFN γ 의 배수 유도를 살펴보아 1차 효과기 T 세포의 활성화를 분석하였다. 도 22에 도시된 것처럼, pMHC HLA-A*02 LIR-1 억제 수용체는 1차 T 세포가 HLA-A*02를 발현하는 SiHa 또는 HeLa 표적 세포에 의해 제시될 때 1차 T 세포의 활성화를 차단할 수 있었다(각각 10X 및 5X 억제를 초과).

[0611] T 세포가 HLA-A*02가 아니라 MSLN을 발현한 SiHa 세포에 의해 제시될 때, pMHC HLA-A*02 억제 수용체는 또한 MSLN ScFv CAR 및 pMHC HLA-A*02 LIR-1 억제 수용체 둘 다를 발현하는 T 세포에 의한 사멸을 억제할 수 있었다(도 23).

[0612] **실시예 13: HLA-A*02 LIR-1 기반 억제 수용체는 EGFR CAR 활성화인자에 의해 활성화를 차단할 수 있다**

[0613] 실시예 6에 기재된 것과 같은 NFAT 루시퍼라제 검정을 사용하여 EGFR CAR 활성화인자 및 pMHC HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체(LIR-1 힌지, 막관통 및 ICD를 포함)를 발현하는 저카트 효과기 세포의 활성화를 분석하였다.

[0614] 저카트 세포를 활성화인자 및 차단제 수용체 DNA에 의해 형질주입하고, 무세포 비드 기반 검정에서 활성화를 분석하였다(도 24). 비드는 활성화인자 항원, 차단제 항원, 또는 활성화인자 및 억제제 항원이 로딩되고, 비드 대 저카트 세포의 비가 변했다. 무세포 비드 기반 검정에서, HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체는 HLA-A*02 차단제 및 EGFR 활성화인자가(상이한 비드에서) 트랜스일 때가 아니라 세포가 스스로 HLA-A*02 차단제 및 EGFR 활성화인자를 보유하는 비드와 접촉할 때 저카트 세포의 활성화를 차단할 수 있었다. 비드에서의 HLA-A*02 차단제의 존재는 9X 이상만큼 EGFR CAR의 E_{MAX}를 이동시킬 수 있었다(도 24).

[0615] 표적 세포로서 HeLa 및 SiHa 세포를 사용하여 EGFR CAR 활성화인자 및 HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체를 발현하는 저카트 세포의 활성화를 또한 분석하였다. 야생형 HeLa 및 SiHa 세포주는 HLA-A*02(SiHa WT 및 HeLa WT)가 아니라 EGFR을 발현하지만, HLA-A*02 억제 수용체 표적(SiHa A02 및 HeLa A02)을 발현하도록 형질도입되었다. 도 25a 내지 도 25b로부터 볼 수 있는 것처럼, HLA-A*02 ScFv LIR-1 기반 억제 수용체는 SiHa 표적 세포를 사용하여 4X 초과(도 25a) 및 HeLa 표적 세포를 사용하여 5X 초과(도 25b)만큼 EGFR E_{MAX}를 이동시킬 수 있었다.

[0616] **실시예 14: 활성화인자 및 차단제 쌍은 KRAS 대립유전자 사이를 구별할 수 있다**

[0617] MiHA는 대립유전자 사이의 비동의 차이를 함유하는 단백질로부터 유래된 펩타이드이다. MiHA에 대한 모델로서 KRAS를 사용하여, 활성화인자 및 차단제 쌍은 KRAS G12V 및 KRAS G12D 돌연변이에 특이적인 항원 결합 도메인을 사용하여 상이한 KRAS 변이체를 구별하고 이에 반응할 수 있었다.

[0618] 실시예 6에 기재된 저카트-NFAT-루시퍼라제 활성화 연구 및 T2 표적 세포를 사용하여, 활성화인자 KRAS CAR 또는 TCR에 의해 매개된 활성화를 억제하는 KRAS ScFv 또는 Fc γ R 억제 LIR-1 기반 수용체의 능력이 분석되었다.

[0619] 도 27은 KRAS G12V ScFv 차단제가 KRAS G12D TCR(C-891)에 의해 저카트 세포의 활성화를 억제하고 KRAS G12D E_{MAX}를 14X만큼 이동시킬 수 있다는 것을 보여준다. 도 28은 KRAS G12D ScFv 차단제 및 KRAS G12V TCR 활성화인자(C-913)인 상호적 쌍에 의한 유사한 결과를 보여주고, 여기서 억제제는 KRAS G12V E_{MAX}를 8X만큼 이동시킬 수 있었다.

[0620] 도 29는 KRAS G12V Fc γ R 차단제가 KRAS G12D TCR을 억제할 수 있었다는 것을 보여준다. 억제제는 50X 초과만큼 KRAS G12D E_{MAX}를 이동시킬 수 있었다. 이 경우에, LIR-1 막관통 도메인 및 세포내 도메인을 갖는 작제물은 억제 TCR의 알파 및 베타 사슬 둘 다(알파 및 베타에서 LIR-1), 오직 TCR 알파 사슬(오직 알파에서 LIR-1), 오직 TCR 베타 사슬(오직 베타에서 LIR-1)에 포함되었고, LIR-1 ICD가 없는 버전은 대조군으로서 포함되었다(LIR-1 무).

상호적 실험에서, KRAS G12D F_{tc}r 차단제는 KRAS G12V 활성인자 TCR를 억제할 수 있어서, KRAS G12V E_{Max}를 500X 초과만큼 이동시켰다.

[0621] 마지막으로, 비관련 ScFv 도메인을 갖는 억제 수용체와의 쌍이 활성인자 E_{MAX}에 대한 적은 효과를 가지면서 이 효과는 특이적 리간드 결합 도메인에 의존적이었다(도 31a 내지 도 31b).

[0622] 표 14는 KRAS ScFv 및 F_{tc}r 서열을 열거한다. 모든 ScFv는 LIR-1 힌지, TM 및 ICD에 융합되었다. 모든 F_{tc}r은 LIR-1 TM 및 ICD에 융합되었다.

표 14

KRAS ScFv 및 F_{tc}r 서열.

C-02256 (Kp33A1101_H125_scFv): QVQLVESGGGLVKFGGSLRLSCAASGFTFSYMSWIRQAPGKLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARDFTIRDYDDYMDVWVGKGTITVSSGGGGSGGGSGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 232)	C-02256 (Kp33A1101_H125_scFv) DNA 서열: 서열 번호 233
C-02257 (K14A11:01_V001_scFv): QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMCSVSWIRQPPGKALEWLALIDWDDKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARSYDELYYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 234)	C-02257 (K14A11:01_V001_scFv) DNA 서열: 서열 번호 235
C-002300 (K14A11:01_H001/L004_scFv): QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMCSVSWIRQPPGKALEWLALIDWDDKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARSYDELYYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIWTSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQSYSTPLTFGGGKVEIK (서열 번호 236)	C-002300 (K14A11:01_H001/L004_scFv) DNA 서열: 서열 번호 237
C-002301 (K14A11:01_H001/L010_scFv): QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMCSVSWIRQPPGKALEWLALIDWDDKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARSYDELYYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQSYSTRLTFGGGKVEIK (서열 번호 238)	C-002301 (K14A11:01_H001/L010_scFv) DNA 서열: 서열 번호 239
C-002365 [pLenti 1 K33A1101_V002 TCRa T48C (G12D TRAV4-4/DV10*01)]: MQRNLAGVLGILWVQICWVRGDQVEQSPSALSHEGTDALRCNFTTMRVQWFRQNSRGLISLFLYASGTKEENGLKSAFDSKERRYSTLHIRDAQLEDSTGYFCAADSNVTGYQNFYFGKGTSLTVIPNIQNPFAVYQLKDRSQDSTLCLFDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSKNGAIAWSNQTSTFCQDIFKETNATYPSSDVPCDAITLTKSPETDMNLNFQNL (서열 번호 240)	C-002365 [pLenti 1 K33A1101_V002 TCRa T48C (G12D TRAV4-4/DV10*01)] DNA 서열: 서열 번호 241
C-002367 [pLenti 1 K33A1101_V002 TCRb S51C (TRBV12-2*01)]: MSNTAFPPDPANWNTLLSWVALFLLGTSSANSVGVQSPRYIIKKGERSILKCIPISGHLSVAWYQQTQGGQELKFFIQHYDKMERDKGNLPSRFSVQQFDYHSEMMSALELEDSAVYFCASSLTDPLDSYTFGSGTRLLVIEDLRNVTTPKVSLEFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPVNHFRQVQFHGLSEEDKWPVQVQNIQSAEAWGRADCGITSASYQQGVLS (서열 번호 242)	C-002367 [pLenti 1 K33A1101_V002 TCRb S51C (TRBV12-2*01)] DNA 서열: 서열 번호 243
C-002368 [pLenti 1 K33A1101_V002 TCRb S51C (TRBV12-2*01)]:	C-002368 [pLenti 1 K33A1101_V002

[0623]

MSNTAFDPDAWNTLLSWVALFLLGTSSANGVQSPRYIIKGGKERSILKCIPISGHLSSVAWYQQTQGQELK FFIQHYDKMERDKGNLPSRFVSVQFDDYHSEMNSALELEDSAVYFCASSLTDPLDSDYTFGSGTRLLVIEDL RNVTPPKVSLPEPESKAEIANKQKATLVCLARGFPDHDVLSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRL RVSATFWHNRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSFKPVQNI SAEAWGRADCGITSASYQQGVLS (서열 번호 244)	TCRb S51C (TRBV12-2*01)] DNA 서열: 서열 번호 245
C-002369 [pLenti 1 Kp514A1101_V001 TCRA T48C (G12 V TRAV3-3*01)]: MKTVTGFLFLCFWLQNCVSRGEQVEQRPHLSVREGDSAVITCTYTDPNSSYFFWYKQEPGASLQLLMKVFS STEINEGGQFTVLLNKKDKRLSLNLTAHPGDSAAVFCVSSGNTSAGNKLTPGIGTRVLVRPDIQNPEPAVY QLKDPQRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNAT YPSSDVPCDAILTEKSFETDMNLFQNL (서열 번호 246)	C-002369 [pLenti 1 Kp514A1101_V001 TCRa T48C (G12 V TRAV3-3*01)] DNA 서열: 서열 번호 247
C-002371 [pLenti 1 Kp514A1101_V001 TCRb S51C (TRBV4*01)]: MGRLLSCVAFCLLIGIPLETAVFQTPNYHVTQVGNVSNFCKQTLGHDIMYWKQDSKLLKIMFSYNNKQL IVNETVPRRFSPQSSDKAHLNLRIRKSVPEPDSAVYLCASSRDWGPAEQFFGPGTRLTVELEDRNVTPPKVSLF EPSKAEIANKQKATLVCLARGFPDHDVLSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNR NHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSFKPVQNI SAEAWGRADCGITSASYHQGVLS (서열 번호 248)	C-002371 [pLenti 1 Kp514A1101_V001 TCRb S51C (TRBV4*01)] DNA 서열: 서열 번호 249
C-002372 [pLenti 1 Kp514A1101_V001 TCRb S51C (TRBV4*01)]: MGRLLSCVAFCLLIGIPLETAVFQTPNYHVTQVGNVSNFCKQTLGHDIMYWKQDSKLLKIMFSYNNKQL IVNETVPRRFSPQSSDKAHLNLRIRKSVPEPDSAVYLCASSRDWGPAEQFFGPGTRLTVELEDRNVTPPKVSLF EPSKAEIANKQKATLVCLARGFPDHDVLSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNR NHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSFKPVQNI SAEAWGRADCGITSASYHQGVLS (서열 번호 250)	C-002372 [pLenti 1 Kp514A1101_V001 TCRb S51C (TRBV4*01)] DNA 서열: 서열 번호 251

[0624]

표 15

대조군으로서 LIR-1 TM 에 융합되고 ICD 에 융합되지 않은 Fcr 서열.

C-002366 [pLenti 1 K33A1101_V002 TCRA T48C (G12D TRAV4-4/DV10*01)]: MQRNLGAVLGILWVQICWVRGDQVEQSPSALSHEGTDALRCNFTTMRVSVQWFRQNSRGLISLFLYASGT KENGRLKSAFDSKERRYSTLHIRDAQLEDSGYFCAADSSNTGYQNFYFGKGTSLTVIPNIQNPEPAVYQLKD PRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPS DVPCDAILTEKSFETDMNLFQNL (서열 번호 252)	C-002366 [pLenti 1 K33A1101_V002 TCRa T48C (G12D TRAV4- 4/DV10*01)] DNA 서열: 서열 번호 253
C-002370 [pLenti 1 Kp514A1101_V001 TCRA T48C (G12 V TRAV3-3*01)]: MKTVTGFLFLCFWLQNCVSRGEQVEQRPHLSVREGDSAVITCTYTDPNSSYFFWYKQEPGASLQLLMKVFS STEINEGGQFTVLLNKKDKRLSLNLTAHPGDSAAVFCVSSGNTSAGNKLTPGIGTRVLVRPDIQNPEPAVY QLKDPQRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNAT YPSSDVPCDAILTEKSFETDMNLFQNL (서열 번호 254)	C-002370 [pLenti 1 Kp514A1101_V001 TCRa T48C (G12 V TRAV3-3*01)] DNA 서열: 서열 번호 255

[0625]

[0626]

실시예 15: MiHA-Y를 인식하는 TCR의 규명

[0627]

Jb2.3 및 P2A 마우스 TCR로부터의 TCR 알파 및 베타 세포의 도메인을 활성인자 TCR 작제물로 클로닝하였다. 자 연적 마우스 또는 인간 불변 영역을 사용하였다. mH-Y H-2D^b 펩타이드 KCSRNRQYL(서열 번호 256)이 로딩된 EL5 세포는 MiHA-Y TCR이 형질주입된 저카트 세포의 활성화를 분석하도록 표적 세포로서 사용되었다(도 32). 도 32 로부터 볼 수 있는 것처럼, C-003121은 튼튼한 저카트 세포 활성화를 지지한다.

표 16

마우스 또는 인간 불변 영역을 갖는 마우스 miHA-Y TCR 서열

<p>C-003119 (H-Y TCR 알파 P2A TCR 베타 Jb2.3 마우스):</p> <p>MFPVTILLLSAFFSLRGNASQSVDPDAHVTLSSEGASLELRCSYSYSAAPYLFWVYQYVPGQSLQFLKYYITGDTVV KGTKGFEAEFRKSNSSFNLKKSPAHWSDSAKYFCALEGQDQGGSAKLI FGEGTKLTVSSPDIQNPEPAVYQLKDP SQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAMDSDKSNNGAI AWSNQTSFTCQDIFKETNATYVSSDVP ATLTEKSFETDMNLFQNL SVMGLRILLLLKAVGNLMLTLRLWSSRAKRSVSGGATNFSLLKQAGDVEENPGFMSNT AFPDPAWNTLLSVALFLLGTHMEAAVTQSPRNKVAVTGGKVTLSNQTNNHNNMYWYRQDTGHGLRL IHVSYG AGSTKGDIPDGYKASRPSQENFSL ILELATP'SQTSVYFCASGDNSAETLYFGPGTRLTVLEDLNRVTPPKVSLFE PSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELS WWWWNGKEVHSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNP CQVQFHGLSEEDKWPEGSFKPVTQNISAEAWGRADCGITSA SYHQVLSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAM VKKKNS (서열 번호 257)</p>	<p>C-003119 (H-Y TCR 알파 P2A TCR 베타 Jb2.3 마우스) DNA 서열: 서열 번호 258</p>
<p>C-003120 (H-Y TCR 알파 T48C P2A H-Y TCR 베타 Jb2.3 S57C 인간):</p> <p>MFPVTILLLSAFFSLRGNASQSVDPDAHVTLSSEGASLELRCSYSYSAAPYLFWVYQYVPGQSLQFLKYYITGDTVV KGTKGFEAEFRKSNSSFNLKKSPAHWSDSAKYFCALEGQDQGGSAKLI FGEGTKLTVSSPYIQNDPAVYQLRDSK SSDKSVCLFTDFDSQTNVSKSDSVYITDKCVLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFCANAFNNSI IPEDTFFPSPE SSCDVKLEKSFETDNLNFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMLTLRLWSSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGFMSNTA FPDPAWNTLLSVALFLLGTHMEAAVTQSPRNKVAVTGGKVTLSNQTNNHNNMYWYRQDTGHGLRL IHVSYGA GSTKGDIPDGYKASRPSQENFSL ILELATP'SQTSVYFCASGDNSAETLYFGPGTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEP SEAEI SHTQKATLVCLATGFYDPHVELS WWWWNGKEVHSGVCTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP HFRQCQVQYGLSENDEWTDRAKPVTVIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA LVMAMVKKKDSRG (서열 번호 259)</p>	<p>C-003120 (H-Y TCR 알파 T48C P2A H-Y TCR 베타 Jb2.3 S57C 인간) DNA 서열: 서열 번호 260</p>
<p>C-003121 (H-Y TCR 알파 P2A TCR 베타 Jb2.3L 마우스):</p> <p>MFPVTILLLSAFFSLRGNASQSVDPDAHVTLSSEGASLELRCSYSYSAAPYLFWVYQYVPGQSLQFLKYYITGDTVV KGTKGFEAEFRKSNSSFNLKKSPAHWSDSAKYFCALEGQDQGGSAKLI FGEGTKLTVSSPDIQNPEPAVYQLKDP SQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAMDSDKSNNGAI AWSNQTSFTCQDIFKETNATYVSSDVP ATLTEKSFETDMNLFQNL SVMGLRILLLLKAVGNLMLTLRLWSSRAKRSVSGGATNFSLLKQAGDVEENPGFMSNT AFPDPAWNTLLSVALFLLGTHMEAAVTQSPRNKVAVTGGKVTLSNQTNNHNNMYWYRQDTGHGLRL IHVSYG AGSTKGDIPDGYKASRPSQENFSL ILELATP'SQTSVYFCASGDNSAETLYFGPGTRLTVLEDLNRVTPPKVSLFE PSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELS WWWWNGKEVHSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNP CQVQFHGLSEEDKWPEGSFKPVTQNISAEAWGRADCGITSA SYHQVLSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAM VKKKNS (서열 번호 261)</p>	<p>C-003121 (H-Y TCR 알파 P2A TCR 베타 Jb2.3L 마우스) DNA 서열: 서열 번호 262</p>
<p>C-003122 (H-Y TCR 알파 T48C P2A H-Y TCR 베타 Jb2.3L S57C 인간):</p> <p>MFPVTILLLSAFFSLRGNASQSVDPDAHVTLSSEGASLELRCSYSYSAAPYLFWVYQYVPGQSLQFLKYYITGDTVV KGTKGFEAEFRKSNSSFNLKKSPAHWSDSAKYFCALEGQDQGGSAKLI FGEGTKLTVSSPYIQNDPAVYQLRDSK SSDKSVCLFTDFDSQTNVSKSDSVYITDKCVLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFCANAFNNSI IPEDTFFPSPE SSCDVKLEKSFETDNLNFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMLTLRLWSSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGFMSNTA FPDPAWNTLLSVALFLLGTHMEAAVTQSPRNKVAVTGGKVTLSNQTNNHNNMYWYRQDTGHGLRL IHVSYGA GSTKGDIPDGYKASRPSQENFSL ILELATP'SQTSVYFCASGDNSAETLYFGPGTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEP SEAEI SHTQKATLVCLATGFYDPHVELS WWWWNGKEVHSGVCTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP HFRQCQVQYGLSENDEWTDRAKPVTVIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA LVMAMVKKKDSRG (서열 번호 263)</p>	<p>C-003122 (H-Y TCR 알파 T48C P2A H-Y TCR 베타 Jb2.3L S57C 인간) DNA 서열: 서열 번호 264</p>

[0628]

[0629] 실시예 16: 부 조직접합 항원 HA-1 억제 수용체

[0630] HLA-A*02 및 A*11 클래스 I 대립유전자를 보유하는 T2 세포를 50 uM A*02-특이적 HA-1 차단제 펩타이드의 부재 또는 존재 하에 A*02-특이적 NY-ESO-1 펩타이드의 적정으로 로딩하였다. 상기 기재된 것처럼 NY-ESO-1 TCR 또는 NY-ESO-1 TCR 및 HA-1 Fcr을 발현하는 저카트 효과기 세포의 활성화를 분석하였다(실시예 6 참조). 도 33a는 차단제 펩타이드의 부재 하에 NY-ESO-1 TCR의 민감성이 HA-1 Fcr의 존재에 의해 영향을 받지 않는다는 것을 보여준다. HA-1(H) 차단제 펩타이드의 존재 하에, NY-ESO-1 및 HA-1(H) 펩타이드는 동일한 HLA-A*02 대립유전자에 대해 경쟁하여 약 30x의 EC50 오른쪽 이동을 야기한다(실선 정사각형 대 파선 정사각형). 그렇지만, 약 10x의 활성의 추가 오른쪽 이동이 HA-1 Fcr 차단제의 존재 하에 관찰된다(파선 정사각형 대 파선 원). 게다가, Emax는 1.5x 하향 이동하였다(고체 원대 파선 원). 도 33b는 비특이적인 대립유전자 변이체 HA-1(R) 차단제 펩타이드의 존재 하에, 본질적으로 차단이 관찰되지 않는다는 것을 보여주고, 이는 차단이 단일 아미노산에 특이적이라는 것을 제시한다. 일반적으로, NY-ESO-1이 HA-1(R)보다 더 효과적으로 HLA-A*02로 로딩하므로(도 35 참조),

HA-1(R) 차단제 펩타이드의 존재 하에 관찰된 3-5x 오른쪽 이동이 또한 있다(실선에서 파선).

[0631]

펩타이드 서열은 하기와 같았다:

[0632]

NY-ESO-1 = SLLMWITQV (서열 번호 265),

[0633]

HA-1(H) = VLHDDLLEA (서열 번호 191),

[0634]

HA-1(R) = VLRDDLLEA (서열 번호 266).

[0635]

HA-1 F₁cr은 또한 HA-1(H) 펩타이드의 존재 하에 KRAS TCR을 특이적으로 차단할 수 있다. HLA-A*02 및 A*11 클래스 I 대립유전자를 보유하는 T2 세포를 50 μM A*02-특이적 HA-1 차단제 펩타이드의 부재 또는 존재 하에 A*11-특이적 KRAS 펩타이드의 적정으로 로딩하였다. 상기 기재된 것처럼 NY-ESO-1 TCR 또는 NY-ESO-1 TCR 및 HA-1 F₁cr을 발현하는 저카드 효과기 세포의 활성화를 분석하였다(실시에 6 참조). 도 34a는 차단제 펩타이드의 부재 하에 KRAS TCR의 민감성이 HA-1 F₁cr의 존재에 의해 영향을 받지 않는다는 것을 보여준다. HA-1(H) 차단제 펩타이드의 존재 하에, HA-1 F₁cr은 활성에서 KRAS TCR을 약 5x만큼 차단한다(고체 원 대 파선 원). 게다가, E_{max}는 2.7x 하향 이동하였다(고체 원대 파선 원). 도 34b는 비특이적인 대립유전자 변이체 HA-1(R) 차단제 펩타이드의 존재 하에 본질적으로 차단이 관찰되지 않는다는 것을 보여주고, 이는 차단이 단일 아미노산에 특이적이라는 것을 제시한다. 일반적으로, KRAS 및 HA-1(H) 또는 HA-1(R)이 동일한 대립유전자로 로딩하지 않으므로, 차단제 펩타이드의 존재 하에 관찰된 유의미한 오른쪽 이동이 없다(실선 대 파선).

[0636]

펩타이드 로딩된 HLA-A*02 클래스 I 대립유전자 생성물을 특이적으로 인식하는 BB7.2 염색을 사용하여 T2 세포에 의한 NY-ESO, HA-1(H) 및 HA-1(R) 펩타이드의 로딩이 비교되고, 유세포분석법을 사용하여 정량화되었다. 도 35는 HLA-A*02-특이적 NY-ESO-1 및 HA-1(H) 펩타이드의 로딩이 T2 세포에서 매우 유사하다는 것을 보여준다. 대립유전자 변이체인 HA-1(R)은 HA-1(H) 및 NY-ESO-1 펩타이드보다 약간 덜 효율적으로 로딩한다.

[0637]

HA-1(H) F₁cr 서열은 표 10에 기재되어 있고, NY-ESO-1 및 KRAS TCR은 하기 표 17에 기재되어 있다.

표 17

NY-ESO-1 및 KRAS TCR 서열

<p>C-000063 pLenti 1 NY-ES01 1G4 TCR 알파 T95L,S96Y,T48C P2A TCR 베타 S57C:</p> <p>METLLGLL ILWLQLQWVSSKQEVETQIPAAALSVPEGENLVLNCSTFDSATYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQSSQREQ TSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCAVRPLYGGSYIPTFGRGTSLIVHPYIQNPDPFAVYQLRDSKSSD KSVCLTFDFDSQTNVVSQKSDSVYITDKCVLDMRMDPKNSAVAWSNKSDFAFANAFNNSIIPEDTFFPSPSSC DVKLVKSPFETDNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMLRLWSSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGFMSIGLLCC AALSLLWAGFVNAGVTQPKFQVLKTKGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHSVAGAGITDQGEVPGYN VSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSVYVGTGELFFGEGSRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKAT LVCLATGFYDPHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQLKBPALNDSRYCLSSRLRVSAATFWQPNRNFRCQVQFYGLS ENDEWTDRAKFPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYIEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRSDSRG (서열 번호 267)</p>	<p>C-000063 pLenti 1 NY- ES01 1G4 TCR 알파 T95L,S96Y,T4 8C P2A TCR 베타 S57C DNA 서열: 서열 번호 268</p>
<p>C-000891 pLenti 1 K33A1101_V002 TCR (G12D TRAV4-4/DV10*01/BV12-2*01):</p> <p>MQRNLGAVLGILWVQICWVRGDQVEQSPSALSHEGTDALRCNFTTMRVSVQWFRQNSRGLISLFLYASGTKEN GRLKSAFDSKERRYSTLHIRDAQLEDSTGYFCAADSSNTGYQNFYFGKGTSLTVIPNIQNPEPAVYQLKDPQRSQDS TLCLTFDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAMDSKNGAIAWSNQTSTFTCQDIFKETNATYPSDDVPCDATLT EKSPETDMNLFQNLVSMGLRILLKLVAGFNLLMLRLWSRAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGFMSNTAFPD PAWNITLLSWVALFLLGTSANSVGVQSPRYIIKGGERSILKCIPISGHLVAVWYQQTQGQELKFFIQHYDKMER DKGNLPFRFSVQFDDYHSEMNSALELEDSAVYFCASSLTDPLDSDYTFGSGTRLLVIEDLRNVTTPKVSLEFEP KAEIANKQKATLVCLARGFPDPHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQAYKESNYVCLSSRLRVSAATFWHNPVNFRCQ VQFHGLSEEDKWPEGSPKPVQNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYIEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVK RKNS (서열 번호 269)</p>	<p>C-000891 pLenti 1 K33A1101_V00 2 TCR (G12D TRAV4- 4/DV10*01/BV 12-2*01) DNA 서열: 서열 번호 270</p>

[0638]

[0639]

실시에 17: 활성인자 및 억제제 펩타이드의 비

[0640]

활성인자 및 차단제 펩타이드 로딩된 T2 세포에 의한 동시배양의 6시간 후 단독으로 또는 NY-ESO-1 ScFv LIR1 차단제와 조합되어 활성인자 MAGE-A3 CAR에 의해 형질도입된 저카드 세포의 NFAT-루시퍼라제 신호를 측정하였다. 도 36a는 적정된 양의 활성인자 MAGE-A3 펩타이드 및 고정된 농도의 차단제 NY-ESO-1 펩타이드가

로딩된 T2 세포와 동시배양된 저카트 세포의 반응을 보여준다. 도 36b는 적정된 양의 차단제 NY-ESO-1 펩타이드 및 Emax 농도(약 0.1 μM)보다 높은 고정된 농도의 활성인자 MAGE-A3 펩타이드가 로딩된 T2 세포에 대한 저카트의 반응을 보여준다. 도 36c는 각각의 곡선에 사용된 일정한 활성인자 MAGE 펩타이드 농도로 정규화되고 x축에 작도된 도 36b로부터의 x-값 차단제 NY-ESO-1 펩타이드 농도를 보여준다. 각각의 곡선에 대해 50% 차단(IC50)에 필요한 차단제 펩타이드 대 활성인자 펩타이드의 비가 표시된다. 필요한 B:A 펩타이드 비는 1 미만이어서, 활성인자 pMHC 항원을 차단하기 위해 표적 세포에서 활성인자 CAR 및 차단제의 이 쌍에 대해 유사한(또는 더 적은) 차단제 pMHC 항원이 필요하다는 것을 나타낸다. 활성화 pMHC CAR에서 반응을 생성하는 것과 유사한 pMHC 항원 밀도에서 차단이 가능하다.

[0641] **실시예 18: 특이적 수용체 쌍의 최적화**

[0642] EGFR ScFv CAR 활성인자(도 37에 표시된 것처럼 CT-479, CT-482, CT-486, CT-487 또는 CT-488), 또는 EGFR ScFv CAR 활성인자 중 어느 하나 및 HLA-A*02 PA2.1 ScFv LIR1 억제제(C1765)에 의해 형질주입된 T 세포를 HeLa 표적 세포와 동시배양하였다. 야생형 HeLa 세포주는 HLA-A*02가 아니라 EGFR을 발현하지만, HLA-A*02 억제 수용체 표적을 발현하도록 형질도입되었다. 세포를 효과기 대 표적(E:T)의 1:1 비로 동시배양하였다. 도 37의 하부 오른쪽에서, 효과기 세포 수용체 발현이 처음에 표시되지만, HeLa 세포 발현은 괄호 안에 있다. 도 37로부터 볼 수 있는 것처럼, 동일한 HLA-A*02 PA2.1 ScFv LIR1 억제제가 상이한 EGFR 활성인자 수용체와 사용될 때 상이한 정도의 차단이 관찰된다.

[0643] **실시예 19: 억제 수용체는 T 세포에서 활성인자 수용체의 표면 수준을 가역적으로 감소시킨다**

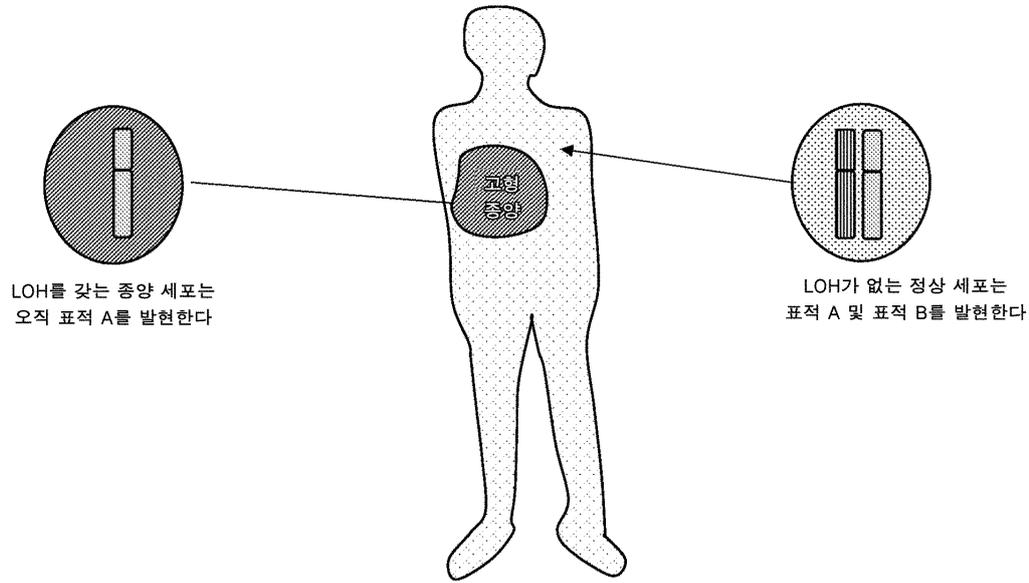
[0644] EGFR ScFv CAR 활성인자(CT-479, CT-482, CT-486, CT-487 또는 CT-488) 및 HLA-A*02 PA2.1 ScFv LIR1 억제제(C1765)에 의해 2개의 HLA-A*02 음성 공여자로부터의 1차 T 세포를 형질도입하였다. 형질도입된 세포는 차단제 및 활성인자 수용체에 대한 FACS 분류, 또는 차단제 및 활성인자 수용체에 대한 이중 칼럼 정제에 의해 농후화된다. 형질도입된 T 세포를 HeLa 표적 세포와 동시배양하였다. 야생형 HeLa 세포주는 HLA-A*02가 아니라 EGFR을 발현하지만, HLA-A*02 억제 수용체 표적을 발현하도록 형질도입되었다. 세포를 효과기 대 표적(E:T)의 1:1 비로 동시배양하였다. 활성인자 및 차단제 수용체를 결합시킨 표지된 펩타이드, 및 형광 활성 세포 분류를 사용하여 120시간 후 EGFR CAR 활성인자의 표면 발현을 분석하였다. 활성인자 및 차단제 리간드 둘 다를 발현하는 HeLa 세포에 의한 동시배양 후 활성인자 표면 수준의 변화는 표적 세포를 사멸하는 T 세포의 능력에 상응하였다(도 37 및 도 38을 비교).

[0645] CT-482 EGFR ScFv CAR 활성인자 및 HLA-A*02 PA2.1 ScFv LIR1 억제제(C1765) 조합을 발현하는 T 세포를 EGFR (표적 A), HLA-A*02(표적 B), 동일한 세포에서 EGFR 및 HLA-A*02의 조합(표적 AB), 상이한 세포에서 표적 A 및 표적 AB를 발현하는 HeLa 세포의 혼합 집단, 또는 상이한 세포에서 표적 B 및 표적 AB를 발현하는 HeLa 세포의 혼합 집단을 발현하는 HeLa 세포와 동시배양하였다(도 39a 내지 도 39b). T 세포를 1:1의 효과기 세포 대 표적 세포의 비로 HeLa 표적 세포와 배양하였다. T 세포를 HeLa 세포의 표적 A와 표적 AB 집단과 동시배양할 때, 활성인자의 수준은 감소되고, 이후 회수되었다(도 39a). 게다가, 활성인자 및 차단제 항원은 효과기 T 세포에서 활성인자 표면 발현 소실을 촉발하도록 동일한 세포에 함께 존재해야 한다. 활성인자와 반대로, 차단제 발현은 크게 변하지 않았다(도 39b).

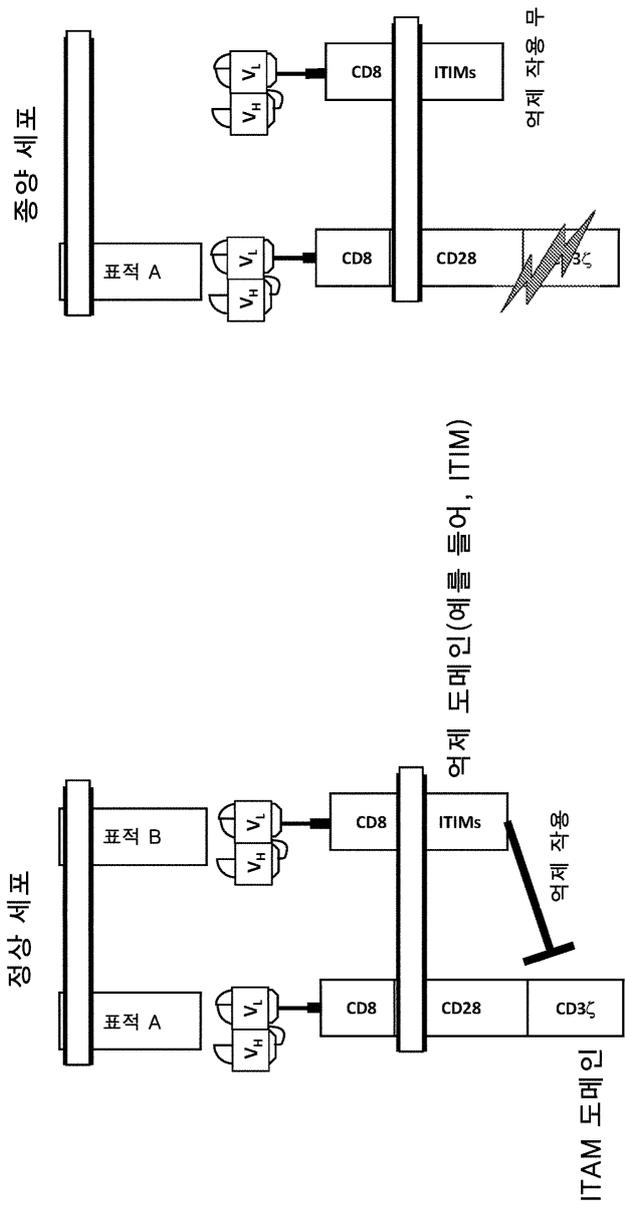
[0646] 도 40은 T 세포에 의한 활성인자 수용체의 발현 소실이 가역적인지를 결정하기 위한 실험에 대한 도식을 보여준다. EGFR ScFv CAR 활성인자 수용체(CT-487) 및 HLA-A*02 PA2.1 ScFv LIR1(C1765) 억제제 수용체를 발현하는 T 세포를 활성인자 및 차단제 수용체 표적(AB) 둘 다를 발현하는 HeLa 표적 세포와 동시배양하였다. 3일 동시배양 후, HeLa 세포를 항-EGFR 칼럼을 사용하여 제거하고, T 세포를 활성인자 및 억제제 수용체에 대해 염색하거나, 추가 3일 동안 오직 EGFR 활성인자 표적을 발현하는 HeLa 세포와 동시배양하였다. 추가 3일 동시배양 후, HeLa 세포를 항-EGFR 칼럼을 사용하여 다시 제거하고, T 세포를 활성인자 및 억제제 수용체에 대해 염색하거나, 염색 전에 오직 EGFR 활성인자 표적 또는 활성인자 및 차단제 표적(AB) 둘 다를 발현하는 HeLa 세포와 추가 3일 동안 동시배양하였다. T 세포를 표지된 EGFR 및 A2 프로브를 사용하여 활성인자 및 억제제 수용체(염색된)의 존재에 대해 분석하고, 형광 활성화 세포 분류를 사용하여 수용체 발현의 수준을 정량화하였다. 실험의 결과는 도 41a 내지 도 41b에 도시되어 있다. 도 41a 내지 도 41b에 도시된 것처럼, T 세포와 활성인자 및 억제제 표적 둘 다를 발현하는 HeLa 세포와의 동시배양은 EGFR 활성인자 염색을 감소시킨다(도 41a 내지 도 41b, 왼쪽 패널). T 세포가 2회차에서 활성인자(오직 표적 A)를 발현하는 HeLa 세포와 동시배양될 때, EGFR 활성인자의 발현은 증가한다. 이와 같이, 활성인자 표면 소실은 가역적이고, T 세포 세포독성에 의해 추적한다.

도면

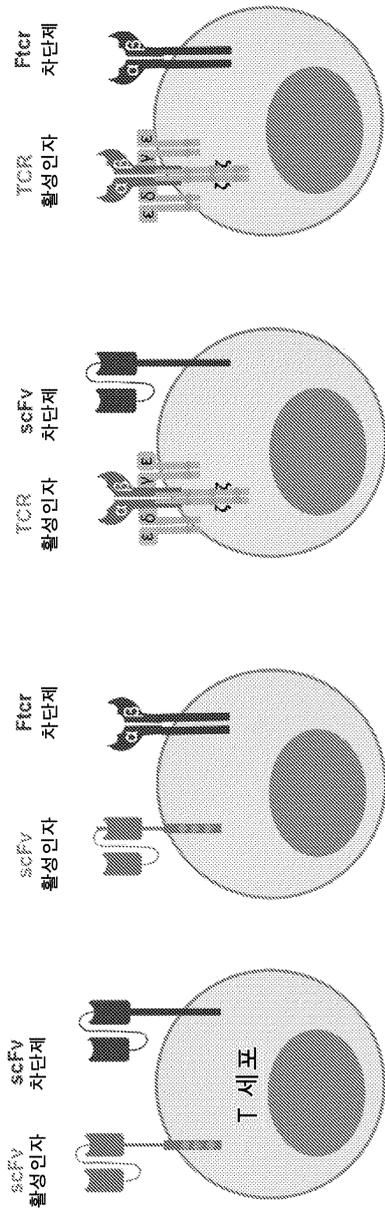
도면1



도면2a

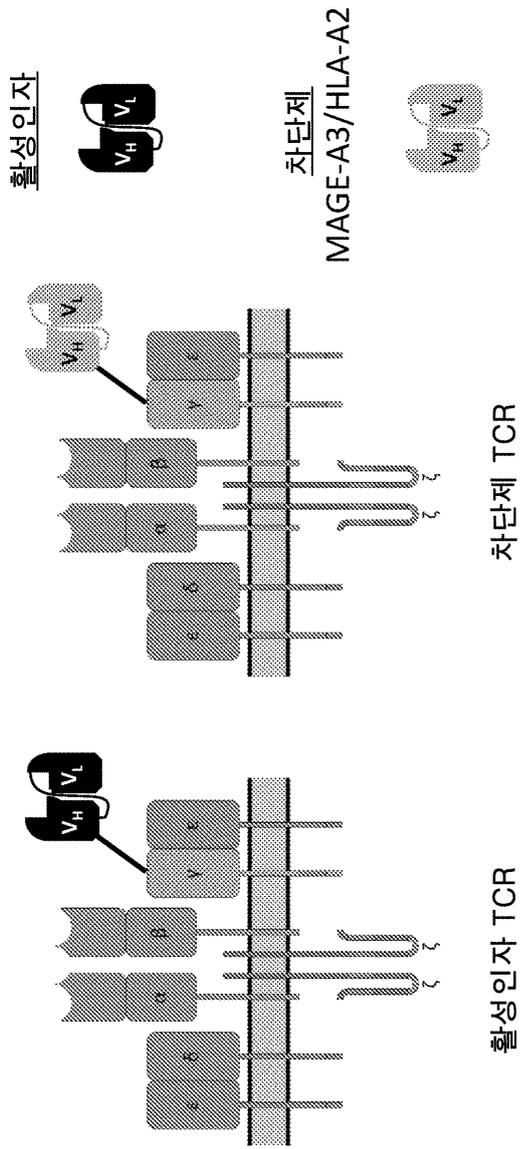


도면2b

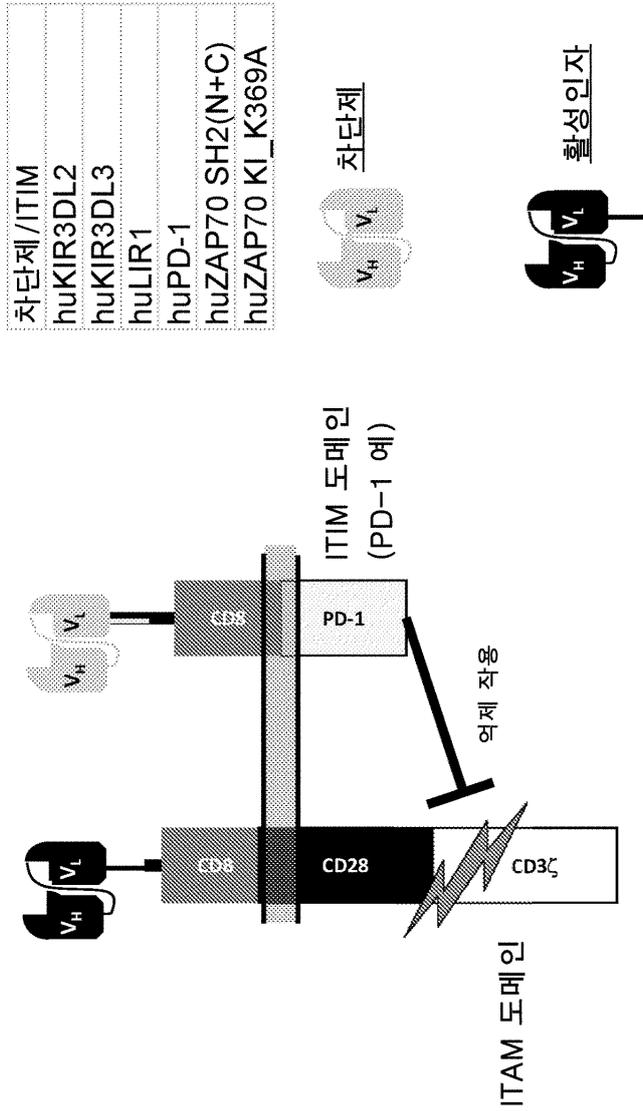


● HAM

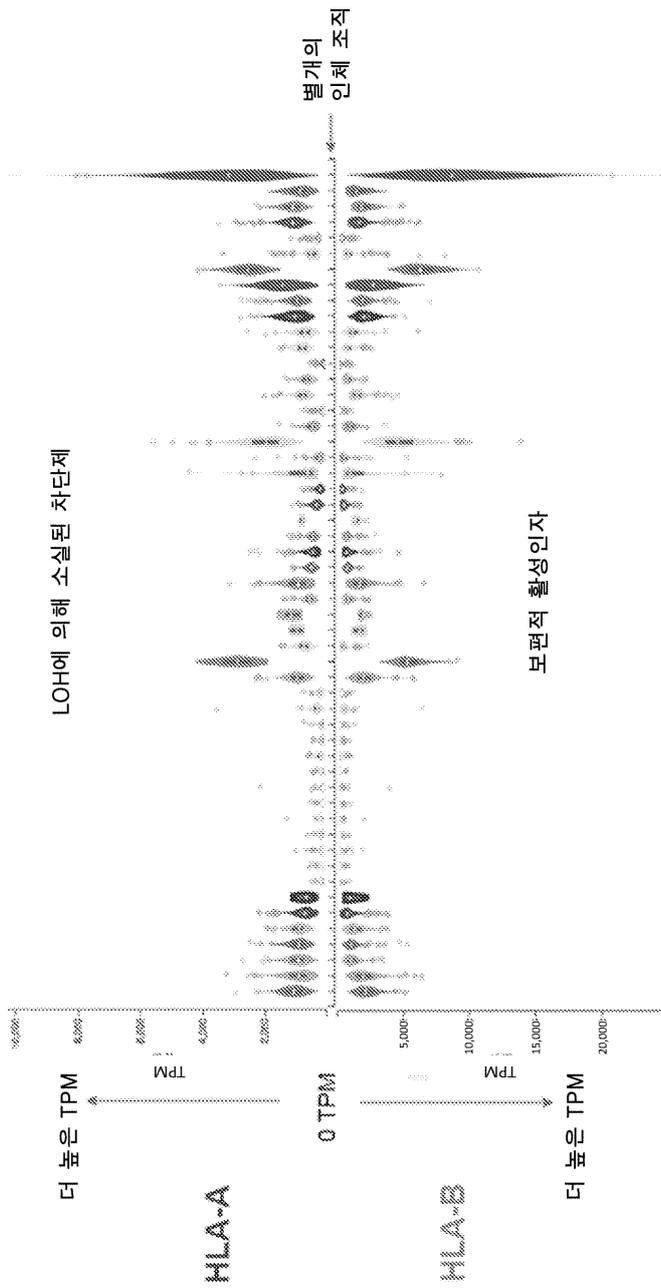
도면3a



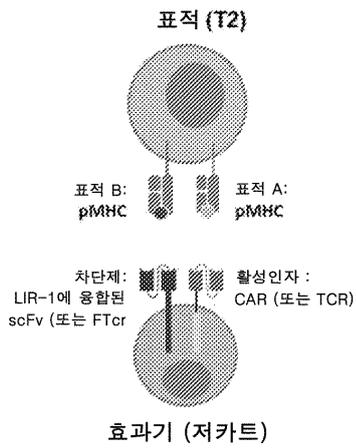
도면3b



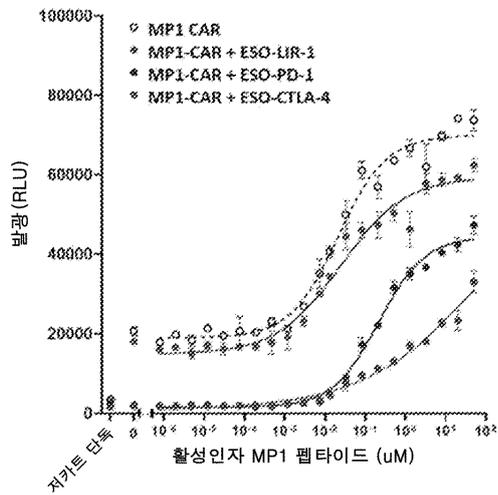
도면4b



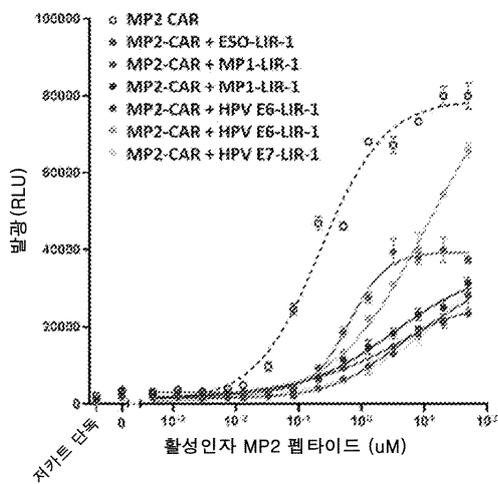
도면5a



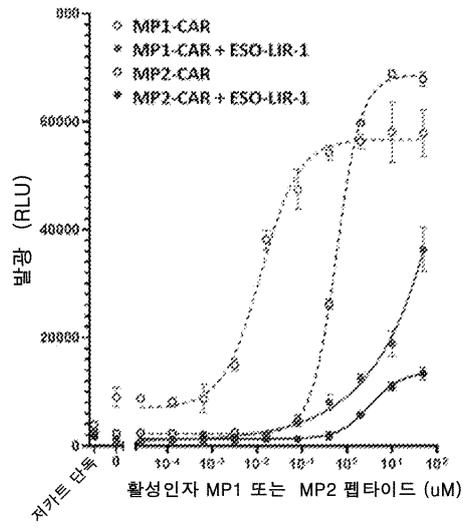
도면5b



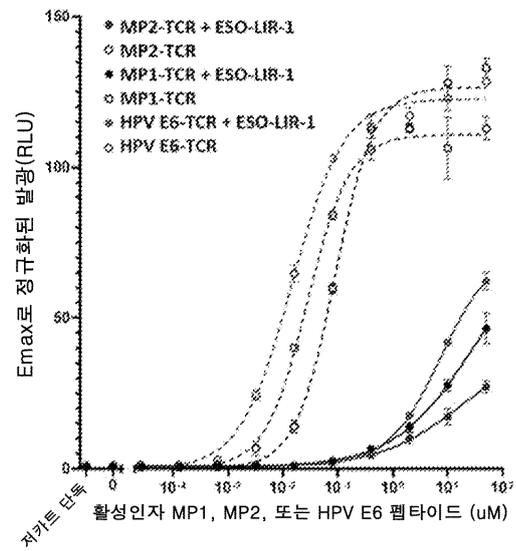
도면5c



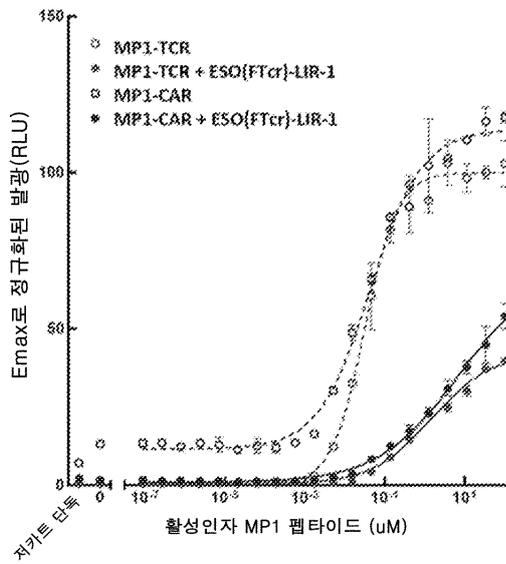
도면5d



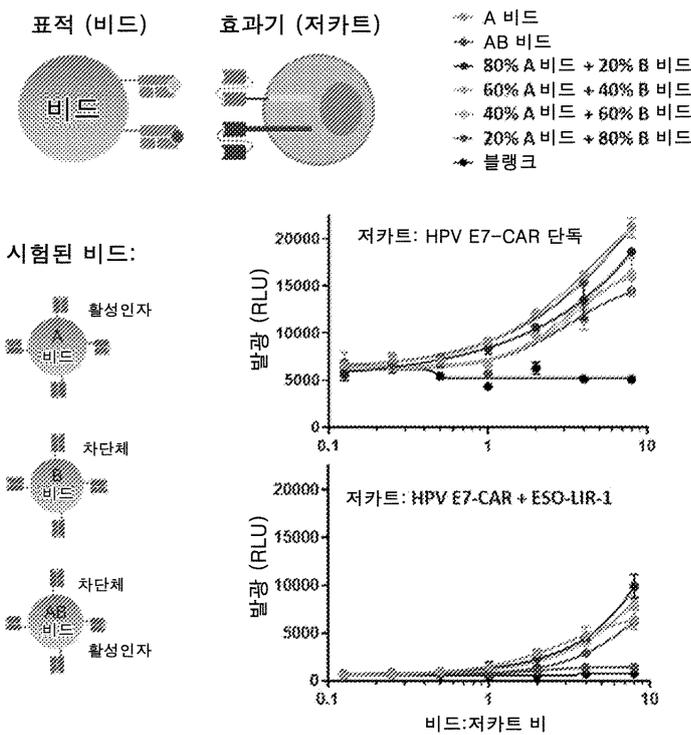
도면5e



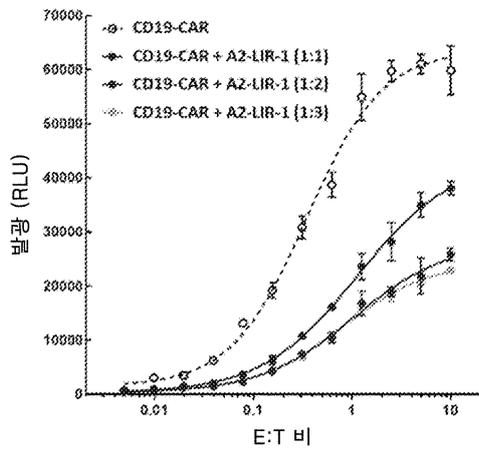
도면5f



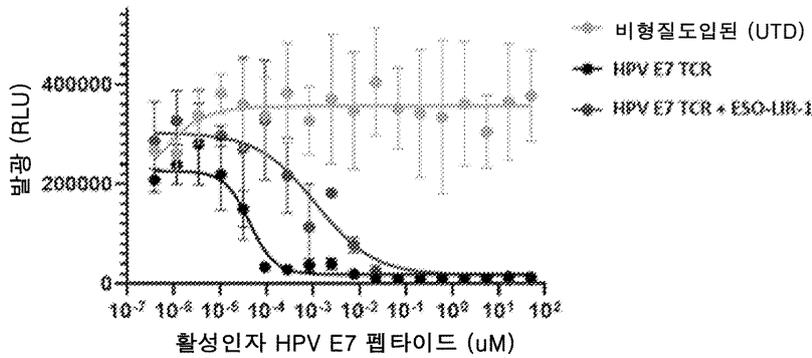
도면5g



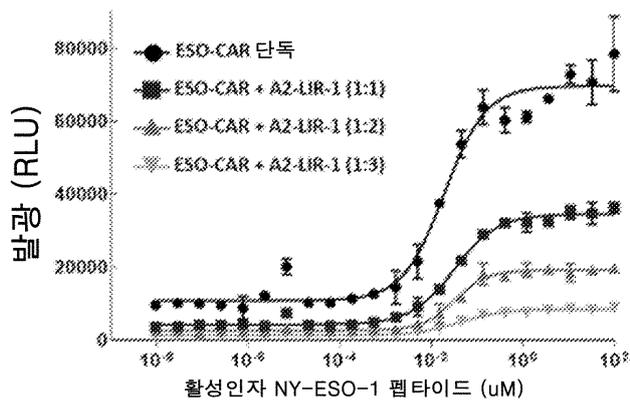
도면5h



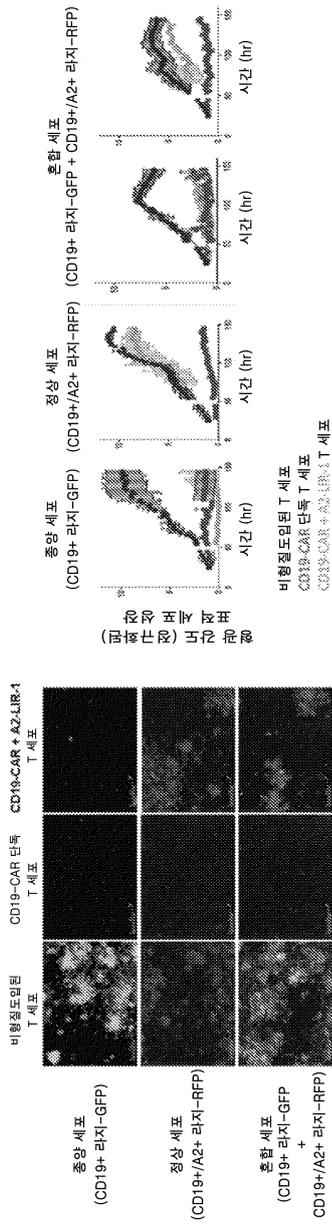
도면6a



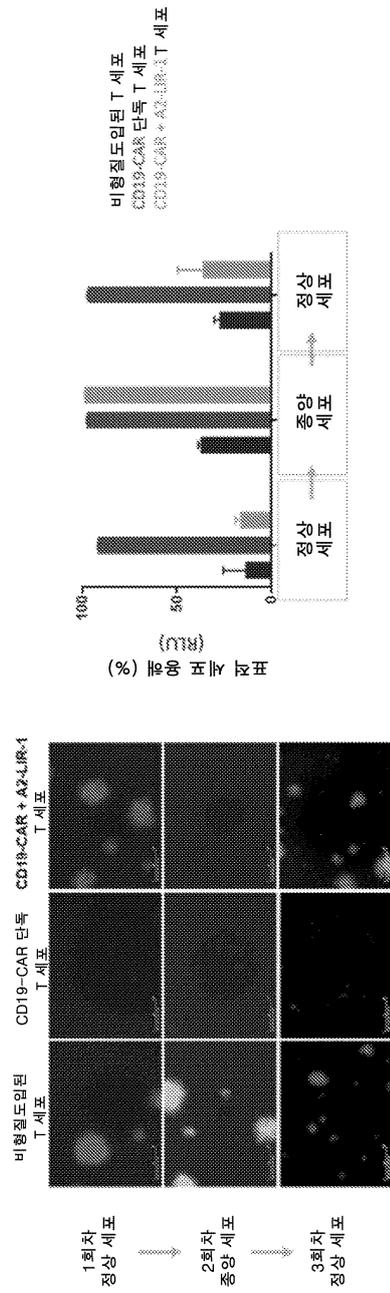
도면6b



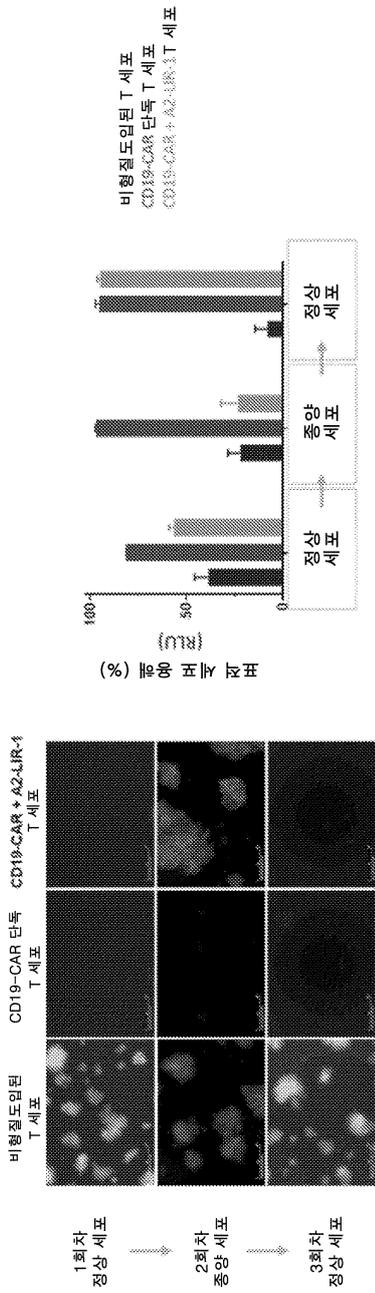
도면6c



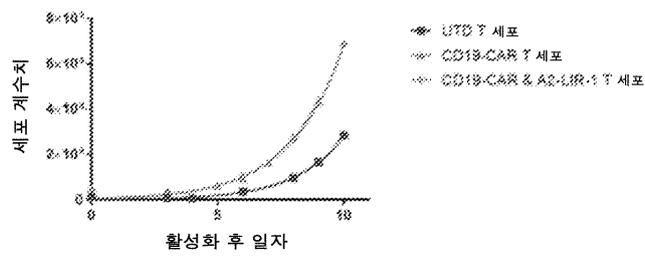
도면6d



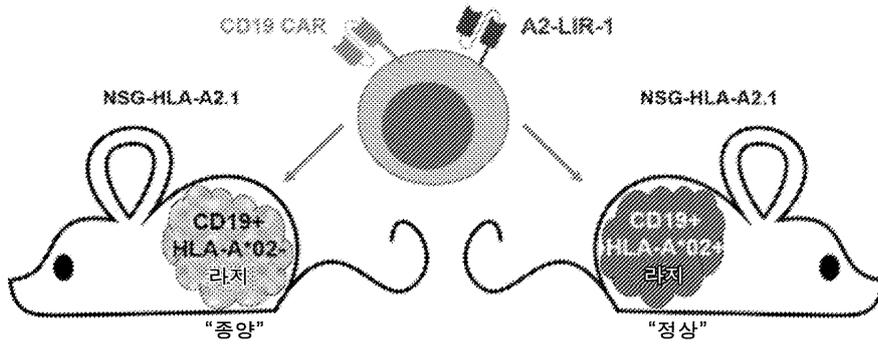
도면6e



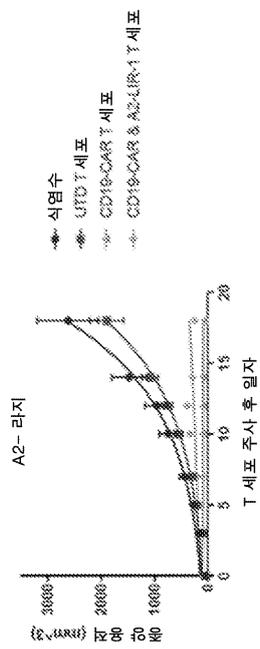
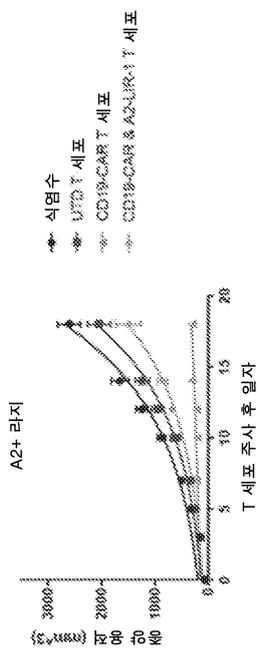
도면7a



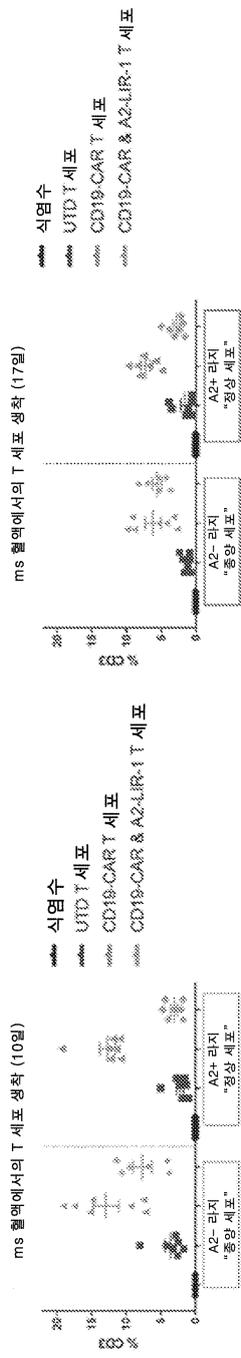
도면7b



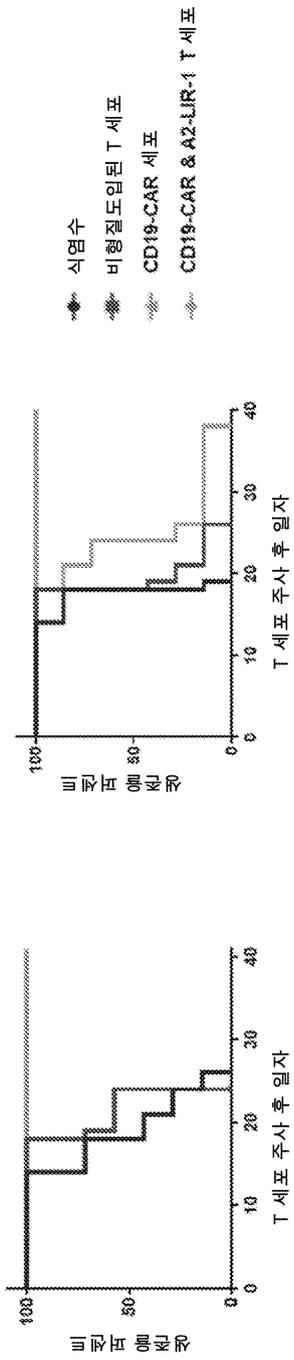
도면7c



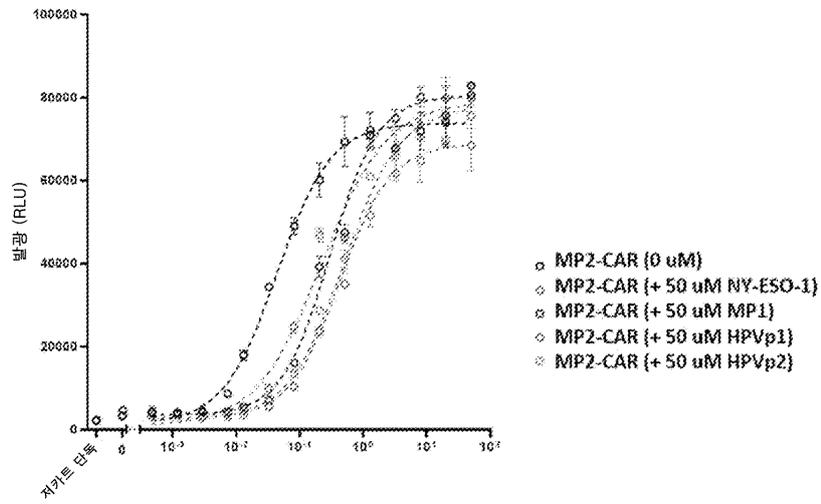
도면7d



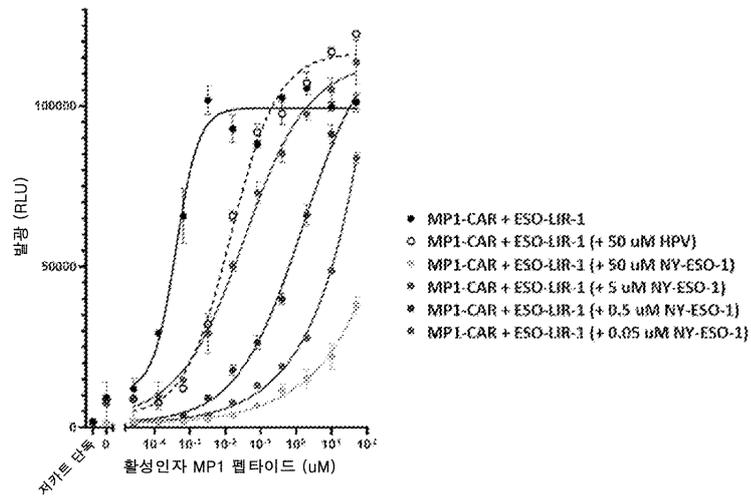
도면7e



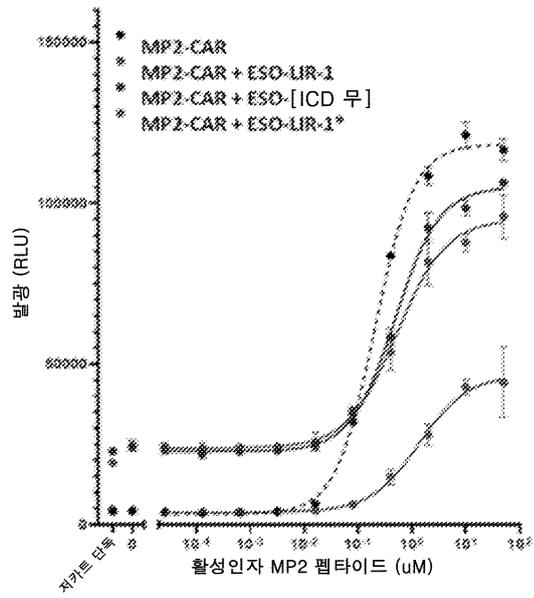
도면8



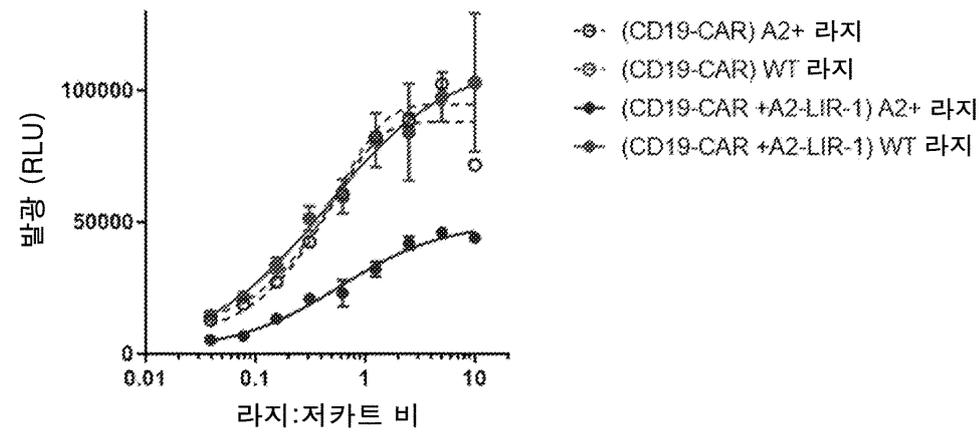
도면9



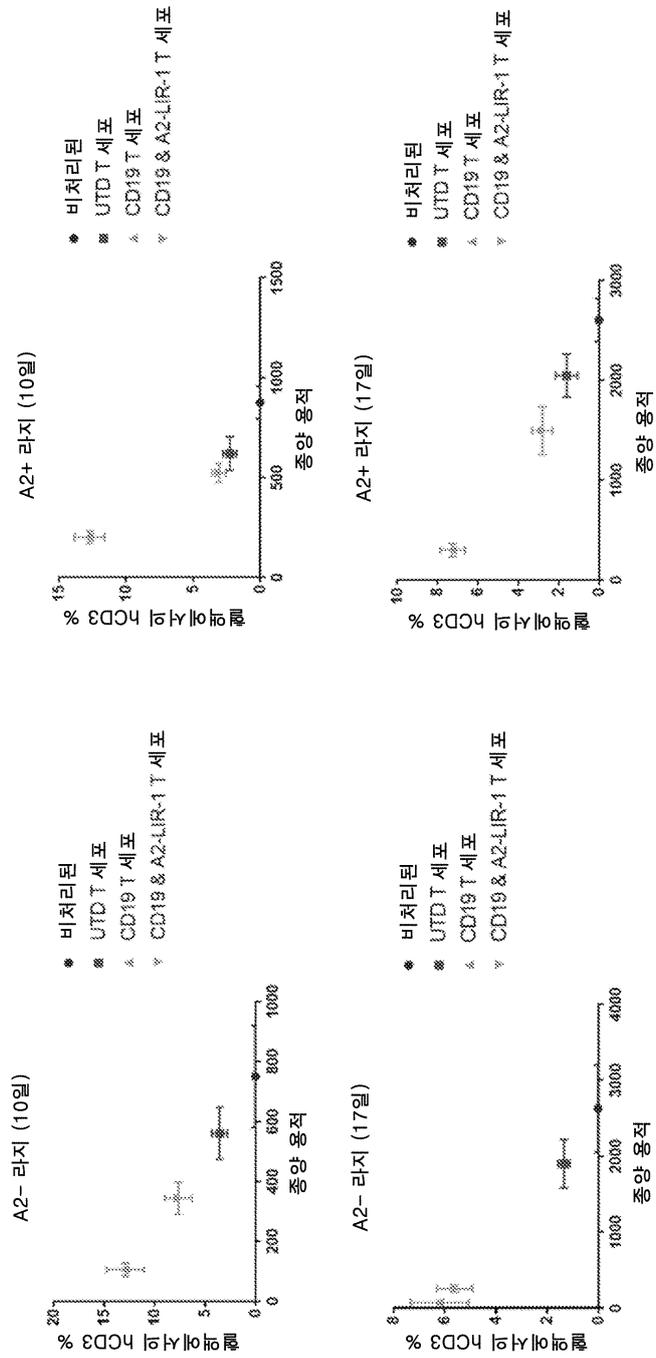
도면10



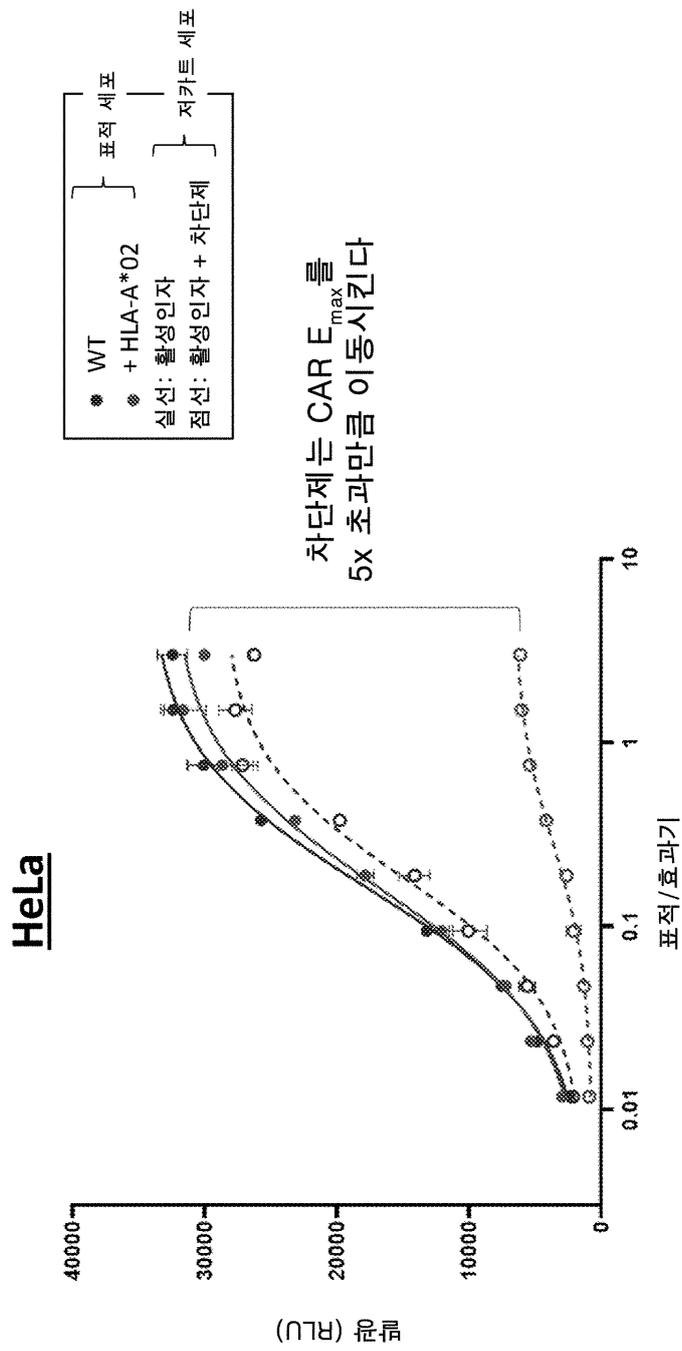
도면11



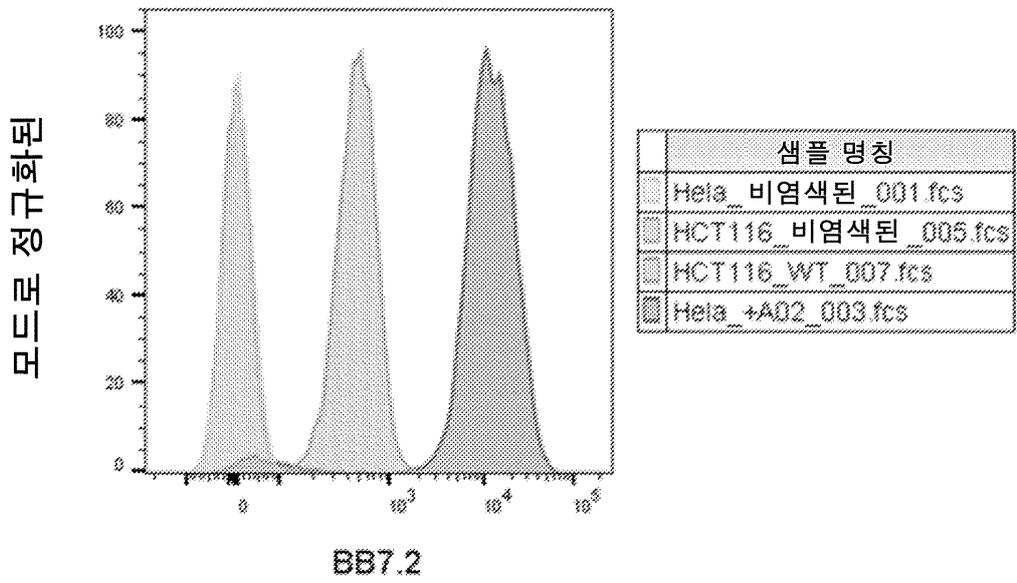
도면12



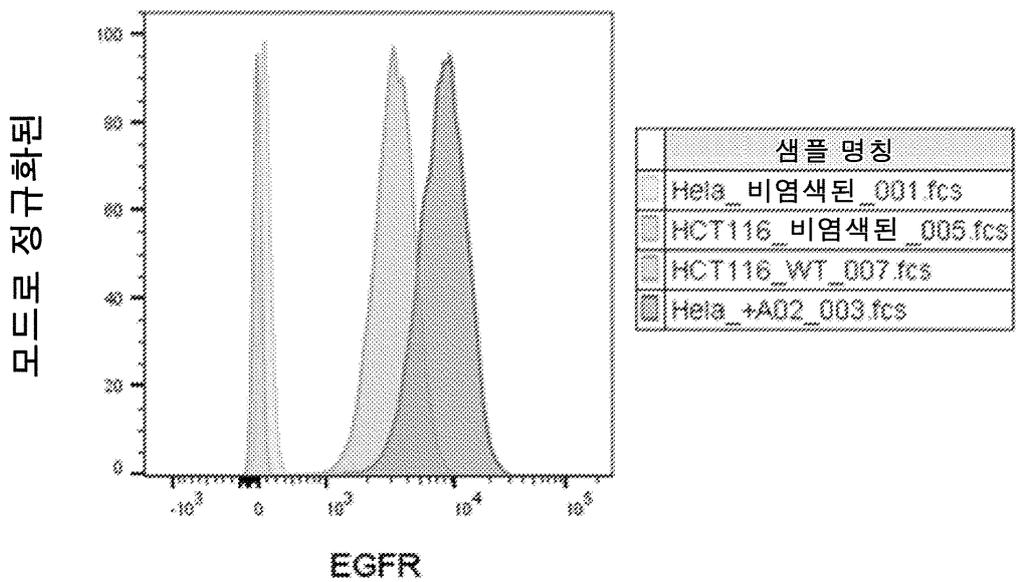
도면13



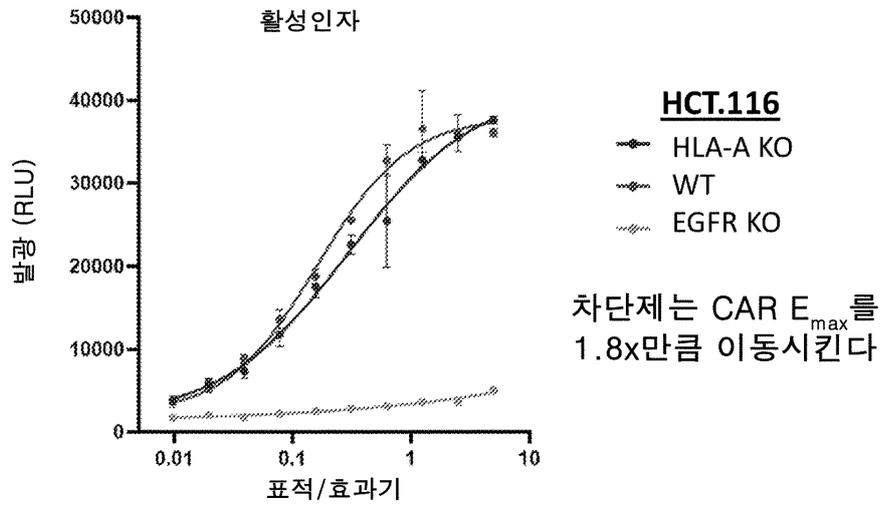
도면14a



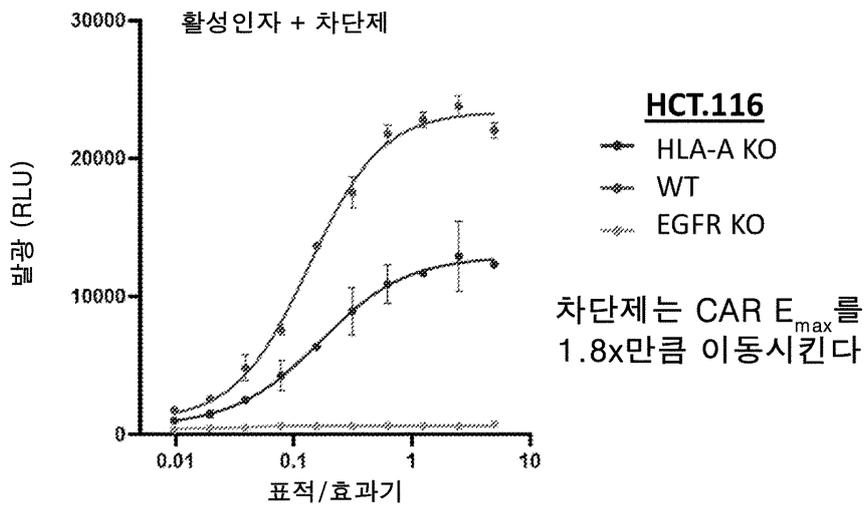
도면14b



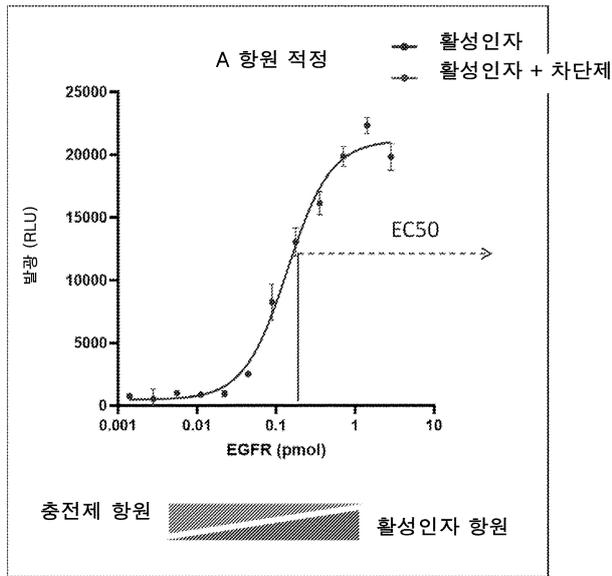
도면15a



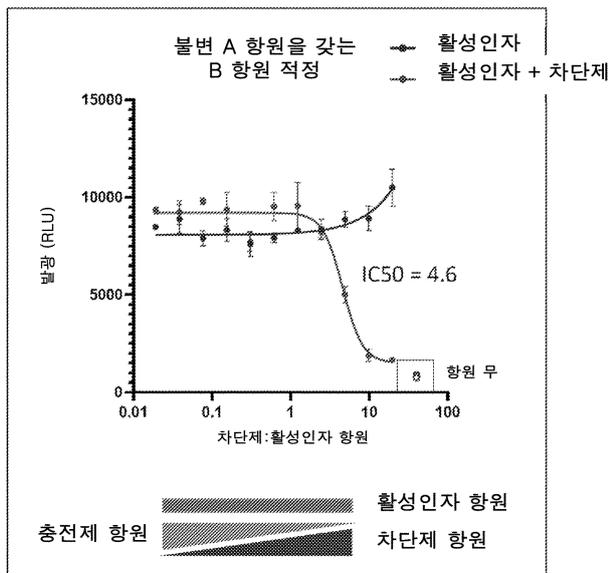
도면15b



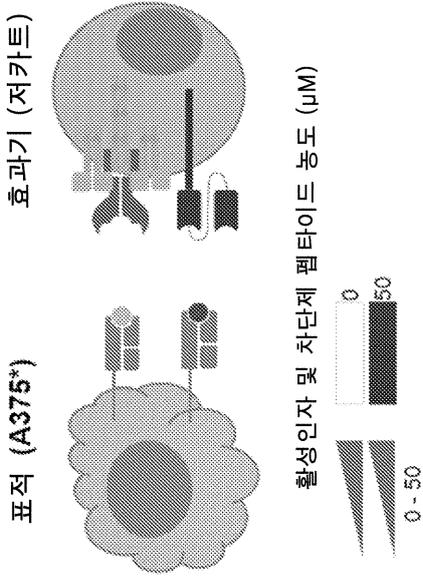
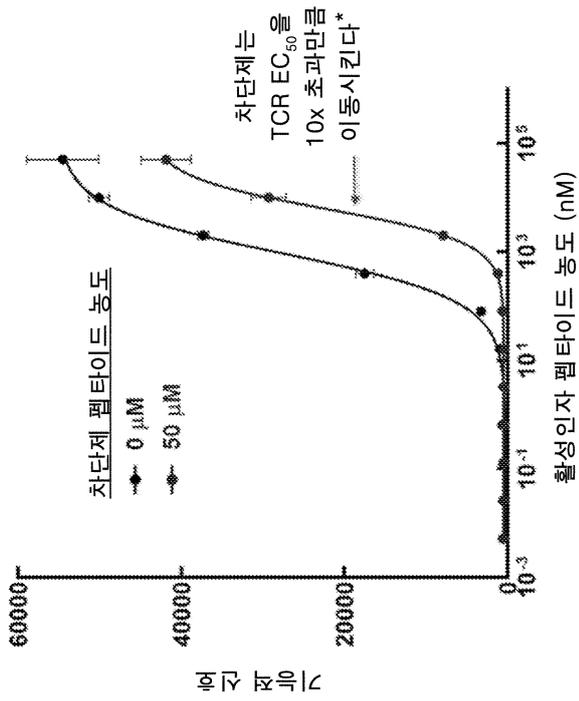
도면16a



도면16b



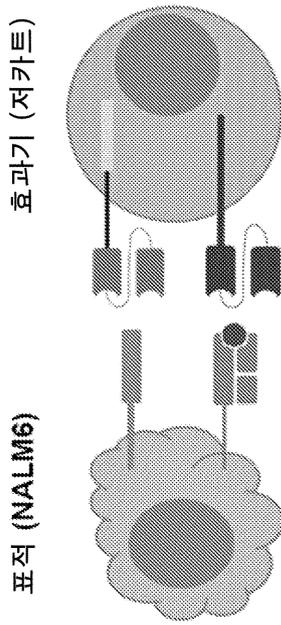
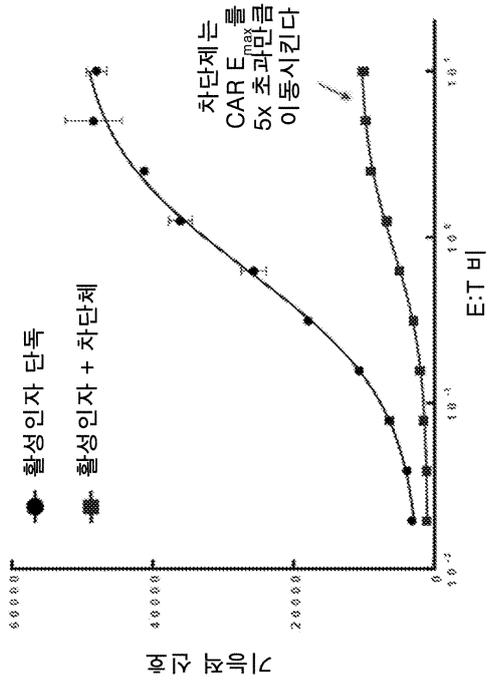
도면17



* T2에 비해 펩타이드-로딩 효율에서 추정치 약 100배 차이

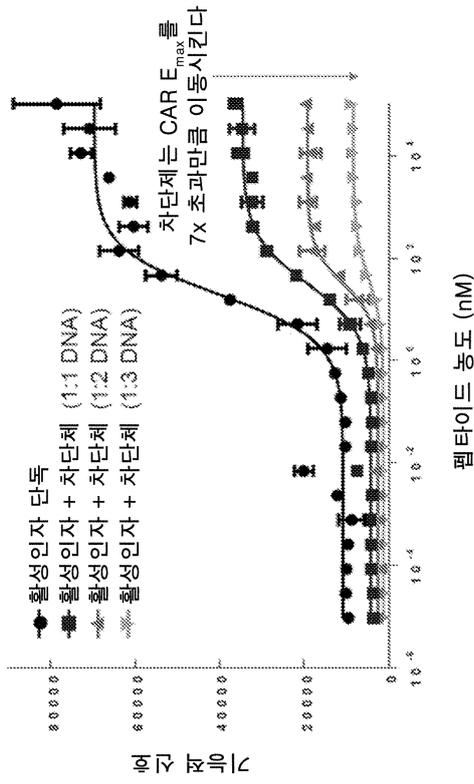
활성인자 = MP1 TCR; 차단제 = ESO-LIR-1

도면18



활성인자 = CD19 TCR; 차단체 = A2-LIR-1

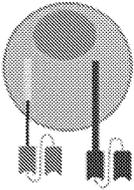
도면19



표적 (T2)



효과기 (저카트)

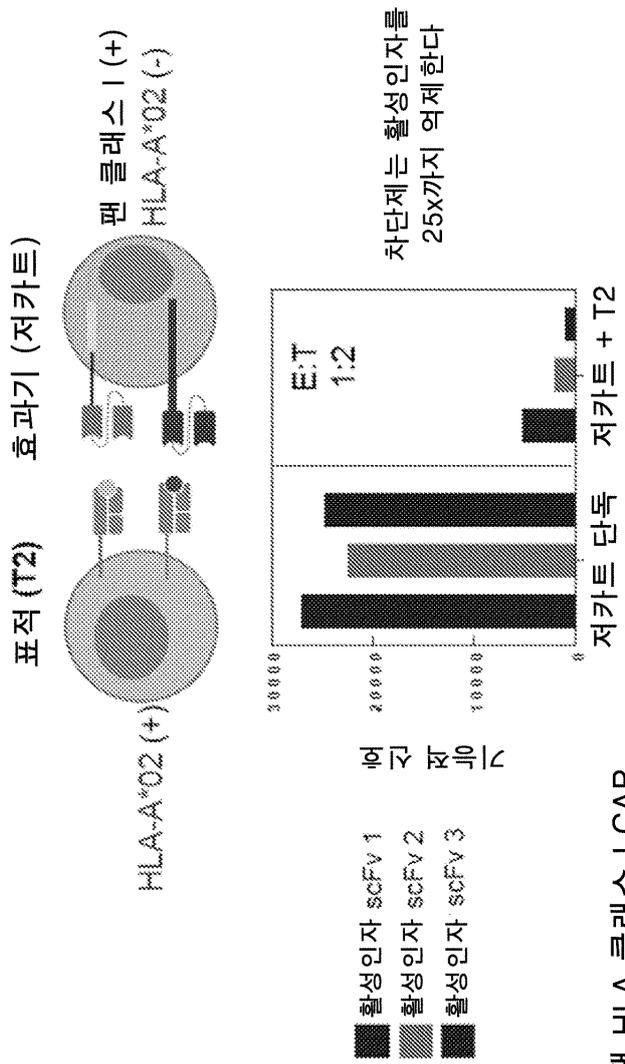


0 - 100 μM 펩타이드

활성인자와 차단제는 동일한 pMHC에 결합한다

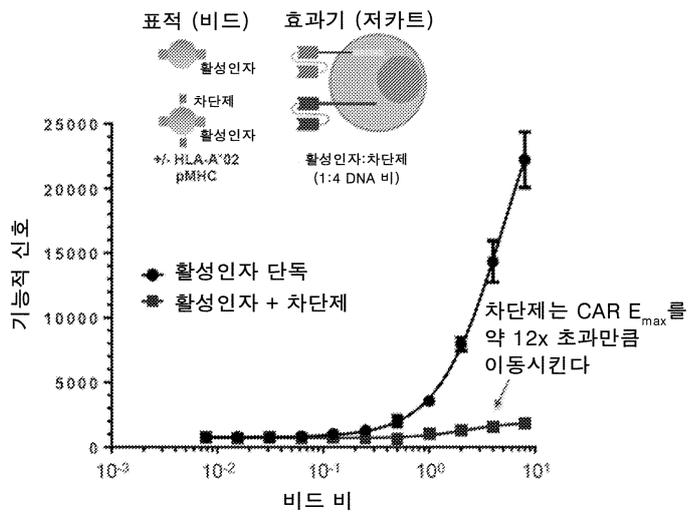
활성인자 = ESO CAR; 차단제 = A2-LIR-1

도면20



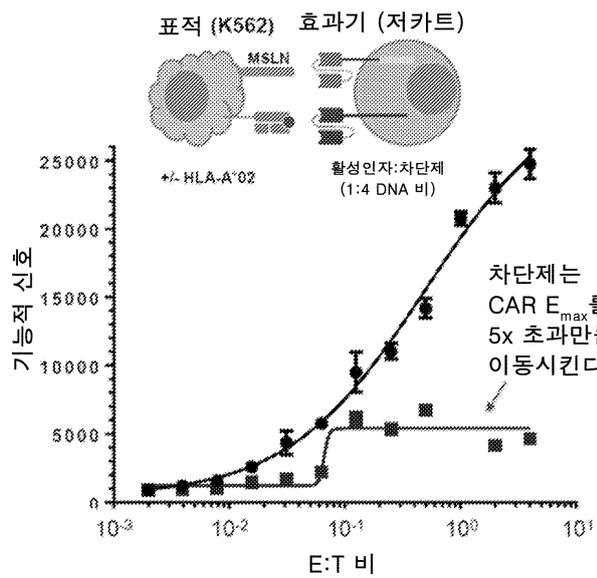
활성인자 = 팬 HLA 클래스 I CAR
차단제 = A2-LIR-1

도면21a



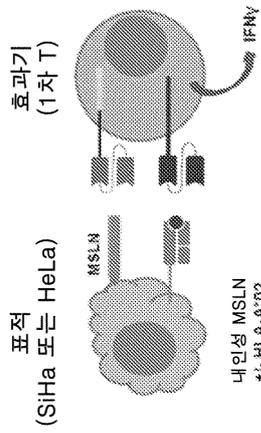
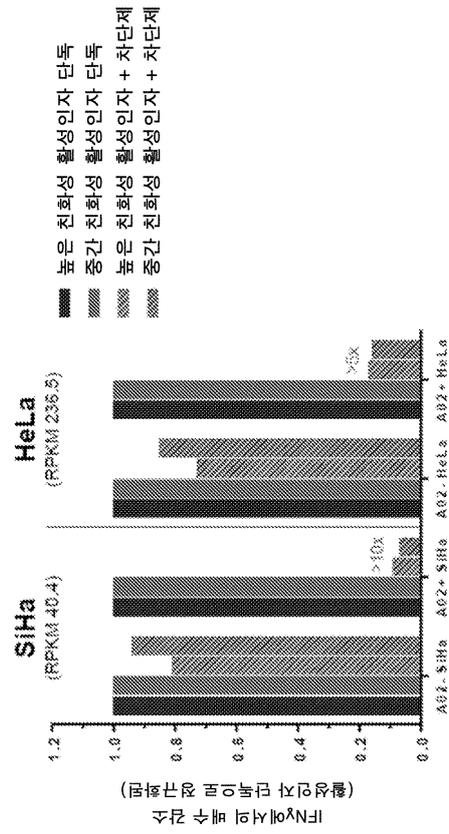
활성인자 = MSLN CAR; 차단제 = A2-LIR-1

도면21b



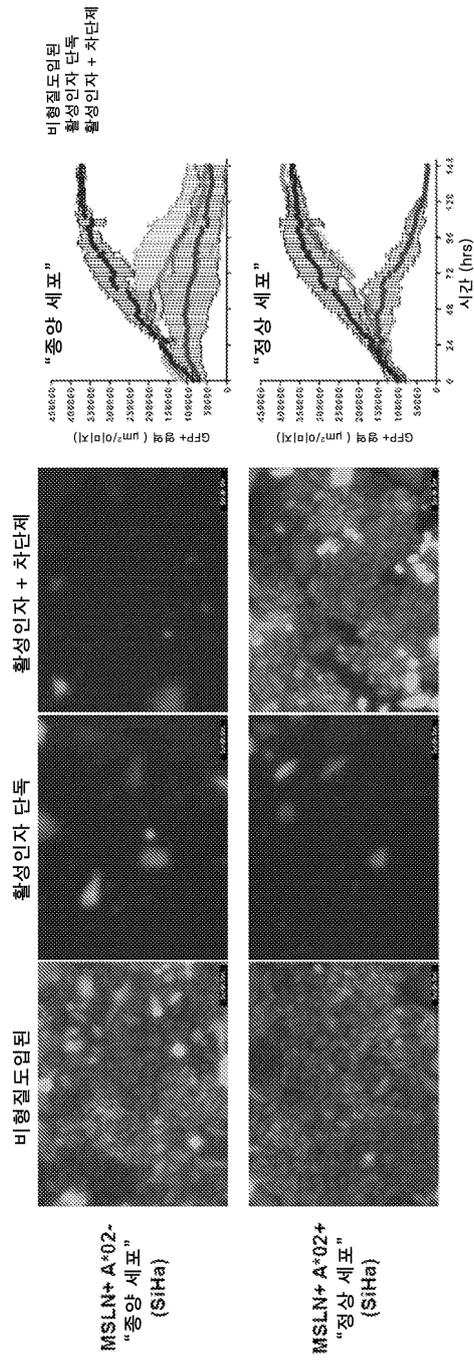
활성인자 = MSLN CAR; 차단제 = A2-LIR-1

도면22



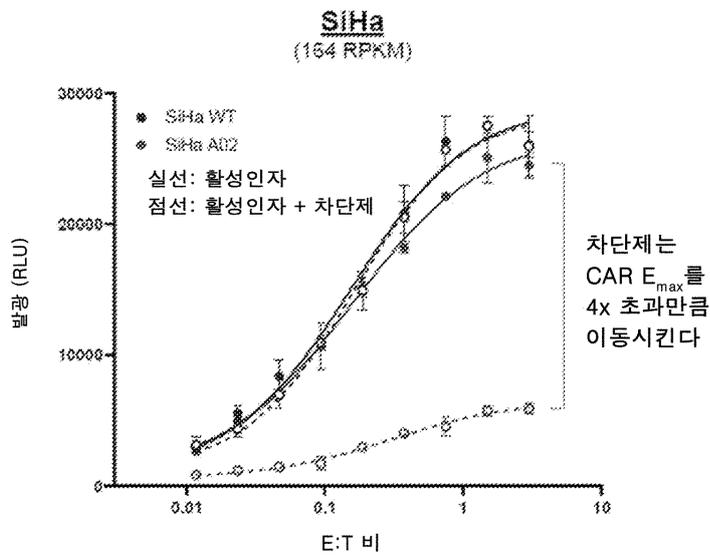
활성인자 = MSLN CAR; 차단체 = A2-LIR-1

도면23

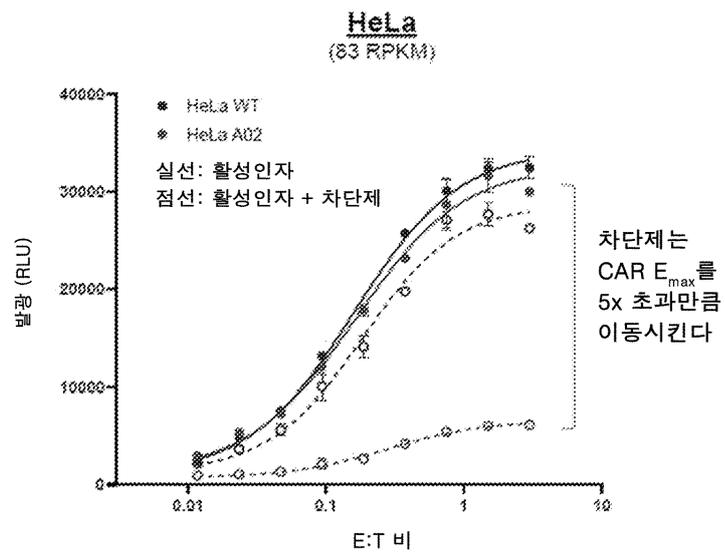


활성인자 = MSLN CAR; 차단제 = A2-LIR-1

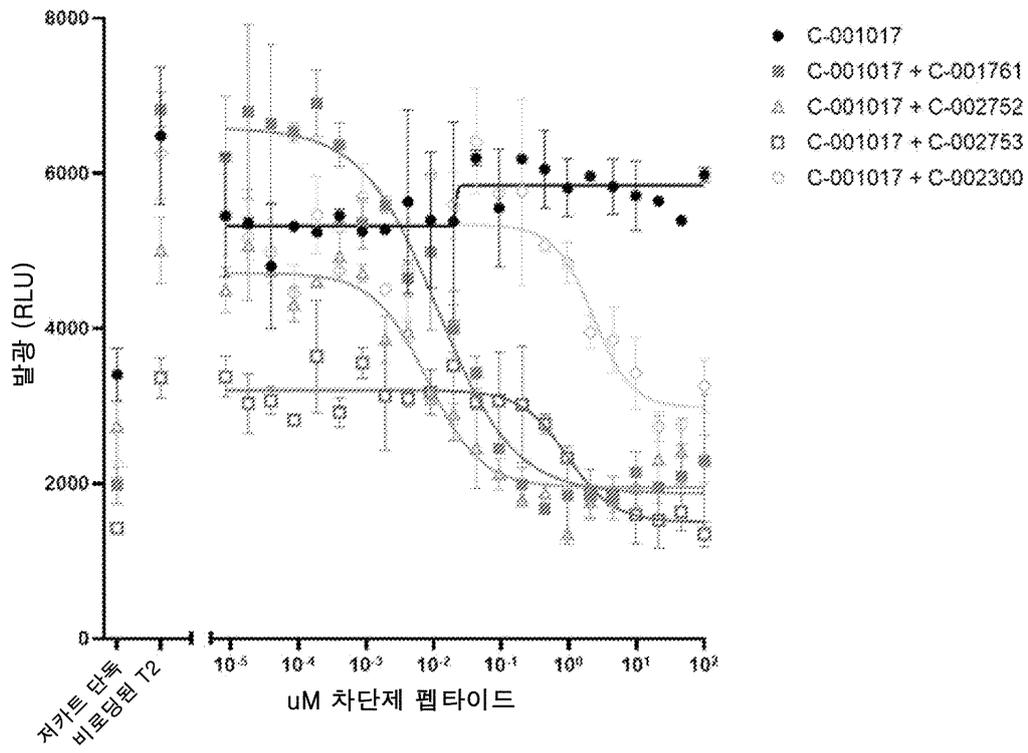
도면25a



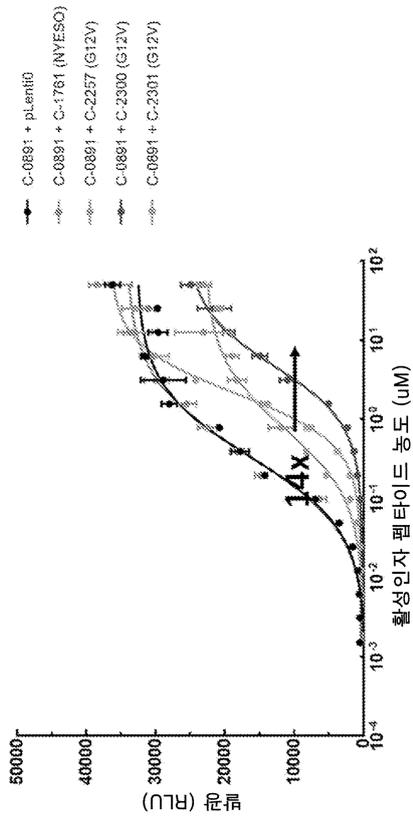
도면25b



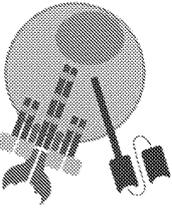
도면26



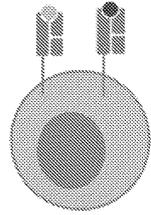
도면27



효과기 (저카트)



표적 (T2)

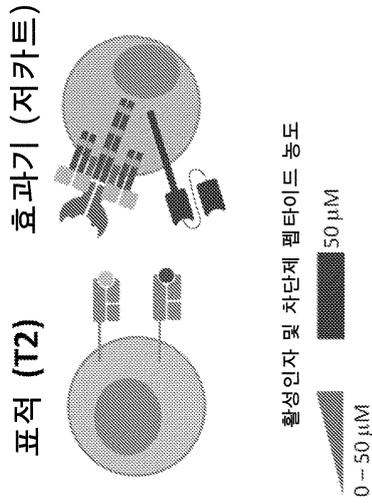
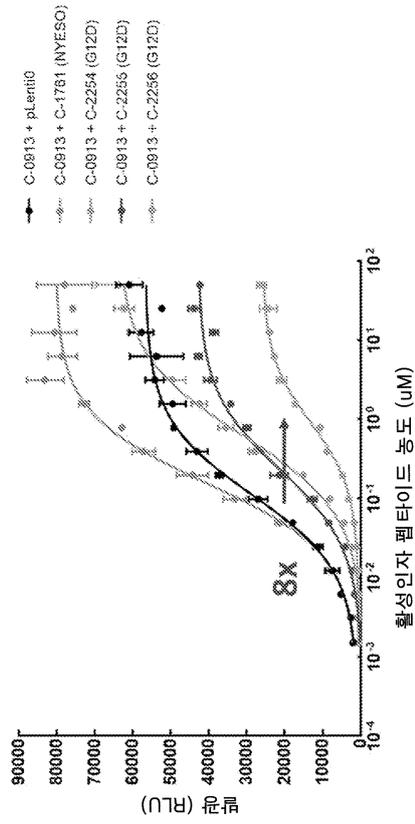


활성인자 및 차단제 펩타이드 농도

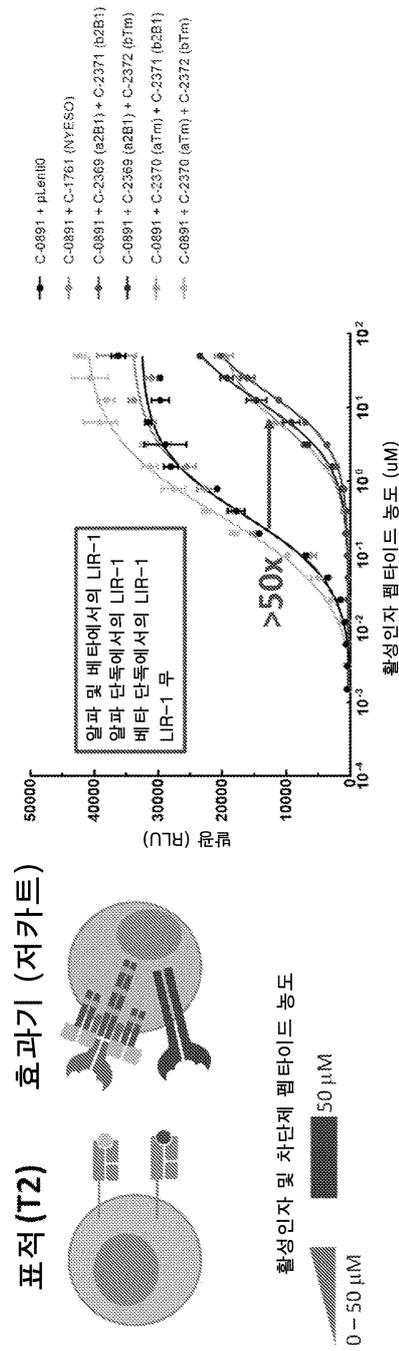
50 μ M

0-50 μ M

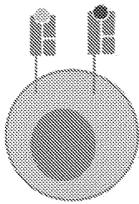
도면28



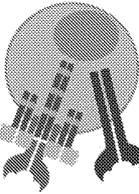
도면29



표적 (T2)



효과기 (저카트)

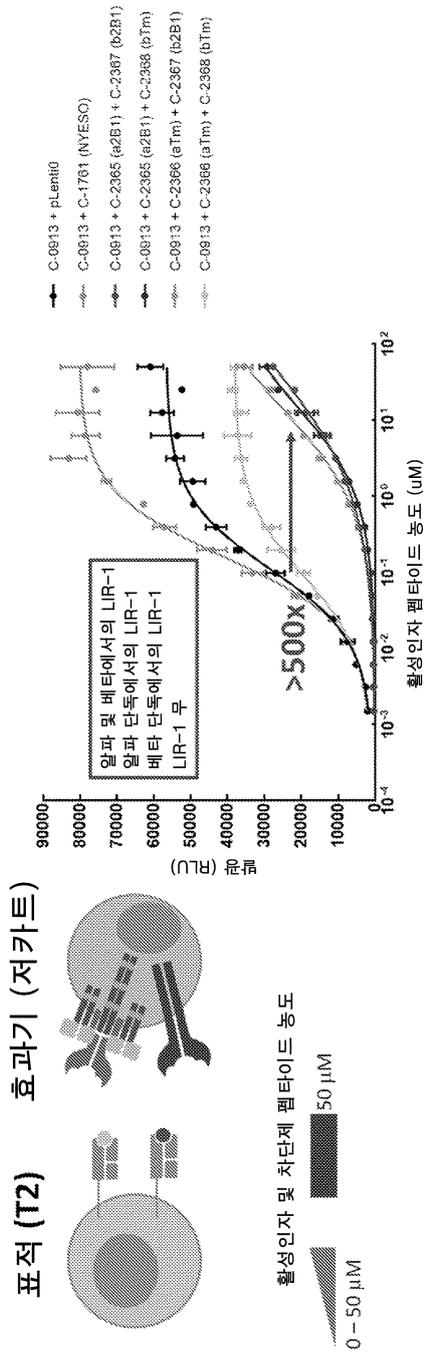


활성인자 및 차단제 펩타이드 농도

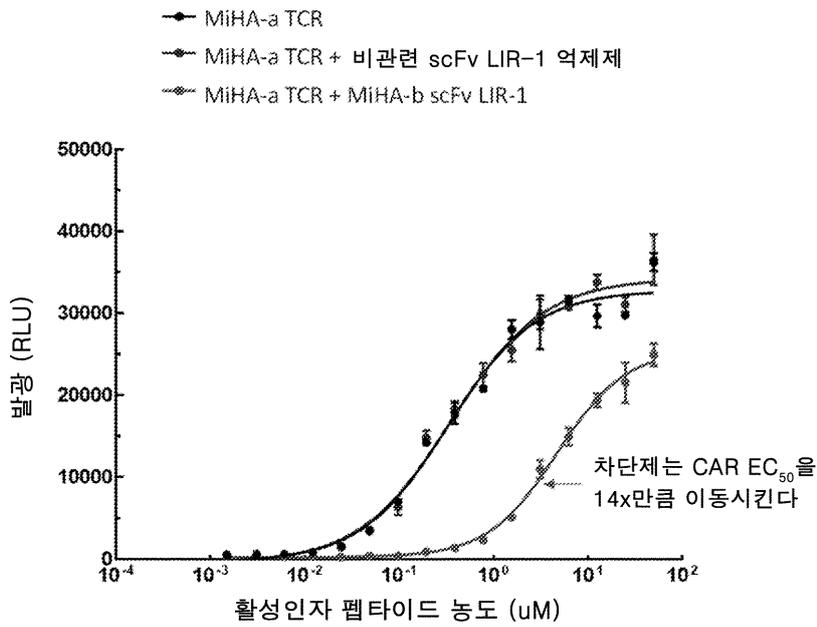
0 - 50 µM

50 µM

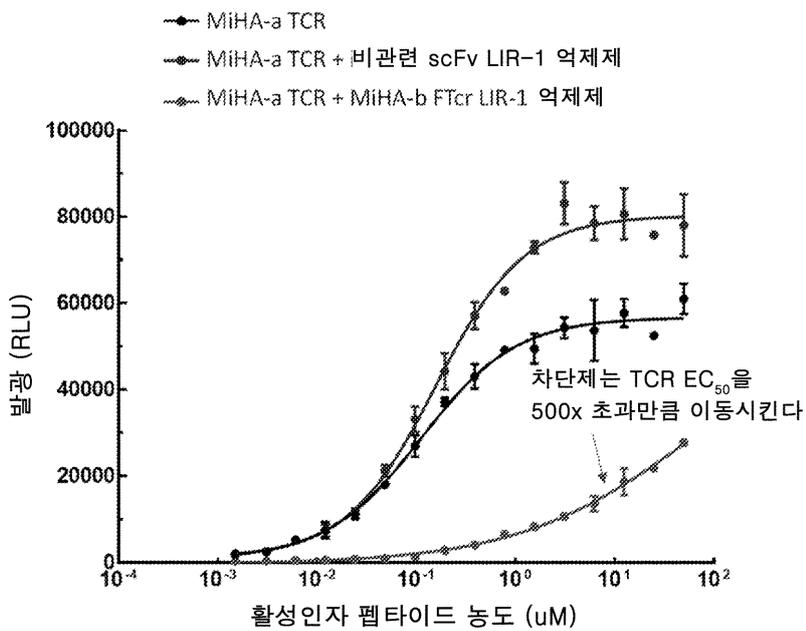
도면30



도면31a

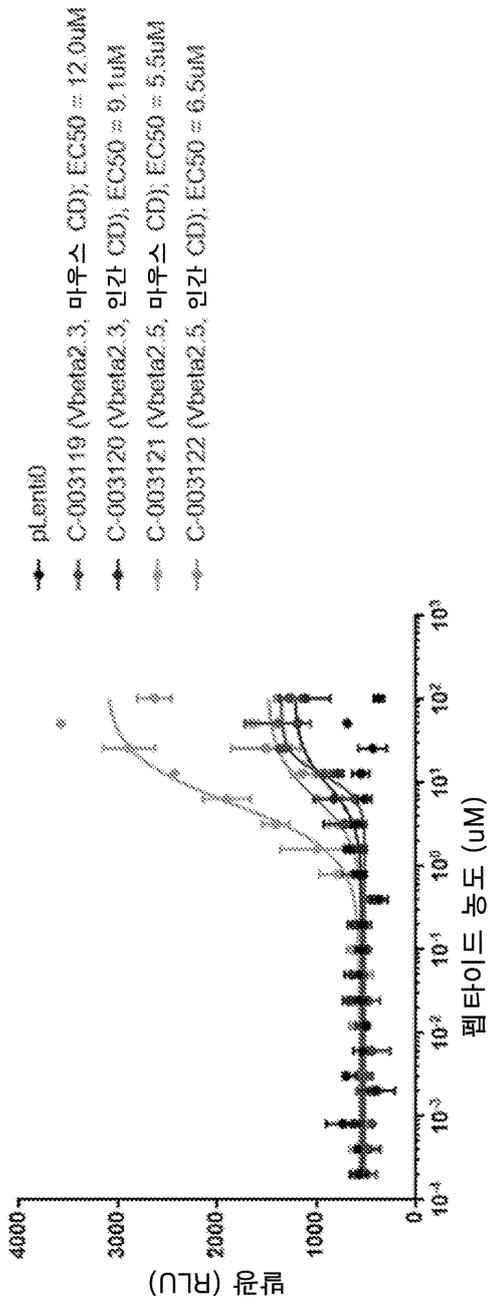


도면31b



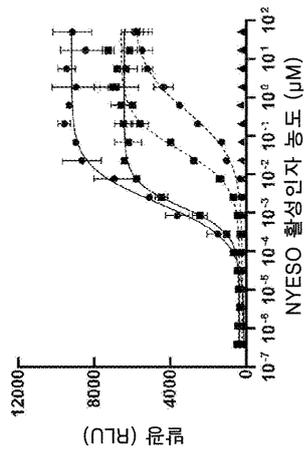
도면32

mH-Y 로딩된 EL4 세포
(H-2D^b의 맥락에서의 KCSRNRQYL)



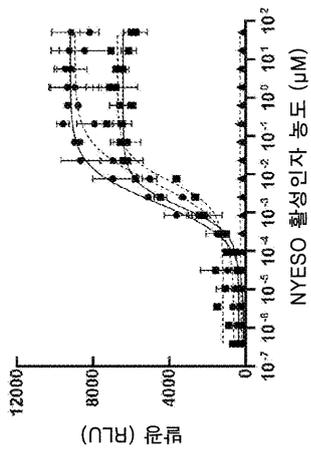
도면33a

민 벡터	차단제 무 (실선)	+ 50 μ M HA-1(H) 차단제 (점선)
NYESO TCR	0.0014 μ M	0.0420 μ M
NYESO TCR + HA-1 FTcr	0.0018 μ M	0.4168 μ M



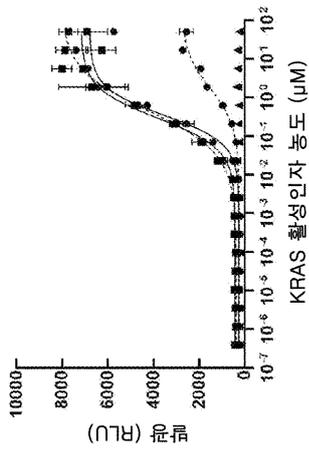
도면33b

민 벡터	차단제 무 (원신)	+50.0μM HA-1(R) 차단제 (원신)
▲ NYESO TCR	0.0014 μM	0.0065 μM
■ NYESO TCR + HA-1 FTcr	0.0018 μM	0.0059 μM



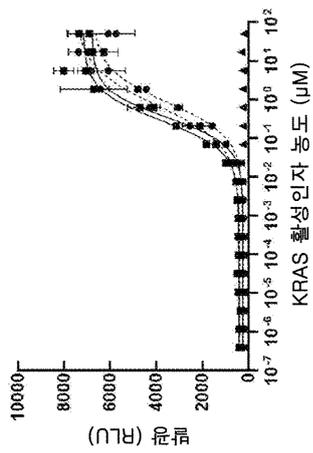
도면34a

▲ 빈 벡터 ■ KRAS TCR ● KRAS TCR + HA-1 FTcr	차단제 무 (실선)	+ 50 μ M HA-1(H) 차단제 (점선)
	0.2868 μ M	0.4436 μ M
	0.3407 μ M	1.7090 μ M

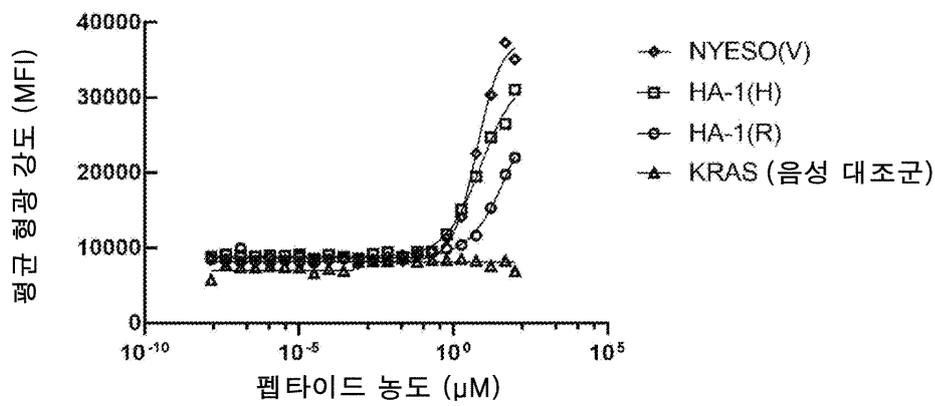


도면34b

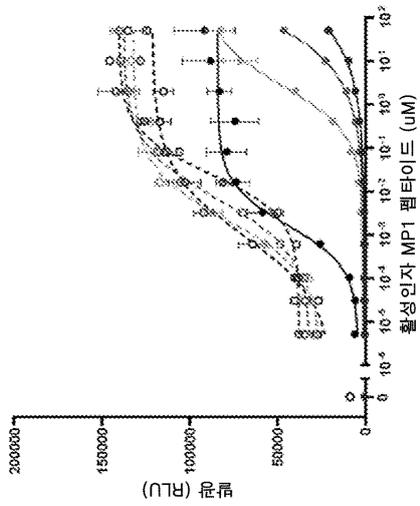
▲ 빈 벡터	차단제 무 (실선)	+ 50 μ M HA-1(R) 차단제 (점선)
■ KRAS TCR	0.2868 μ M	0.6942 μ M
● KRAS TCR + HA-1 FTcr	0.3407 μ M	0.8318 μ M



도면35

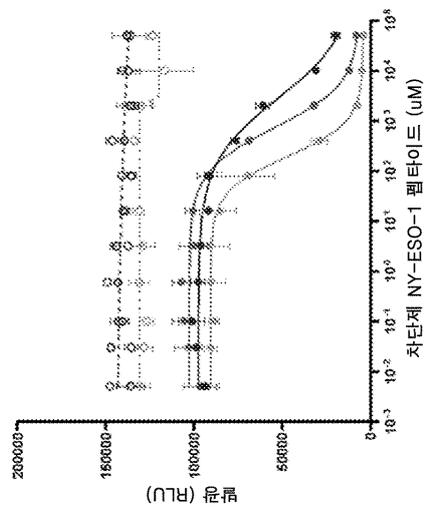


도면36a



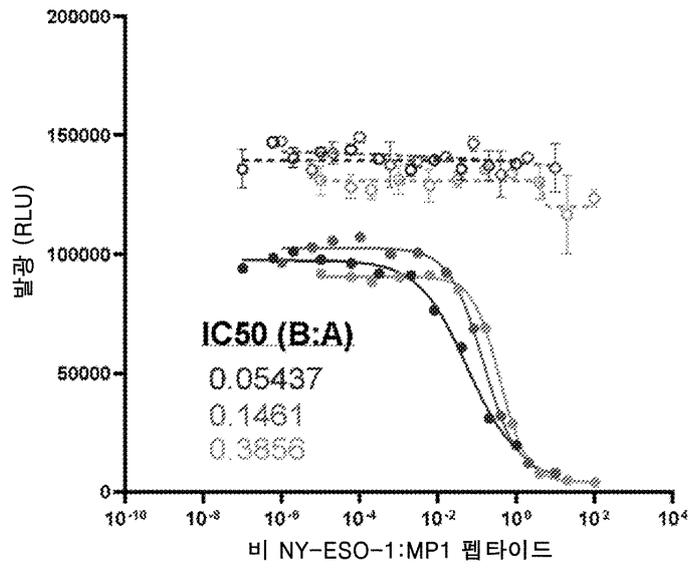
활성인자	차단제	차단제 ESO 펩타이드 (uM)
MP1-CAR	-	50
MP1-CAR	-	5
MP1-CAR	-	0.5
MP1-CAR	-	0
MP1-CAR	ESO-Tmod	50
MP1-CAR	ESO-Tmod	5
MP1-CAR	ESO-Tmod	0.5
MP1-CAR	ESO-Tmod	0

도면36b

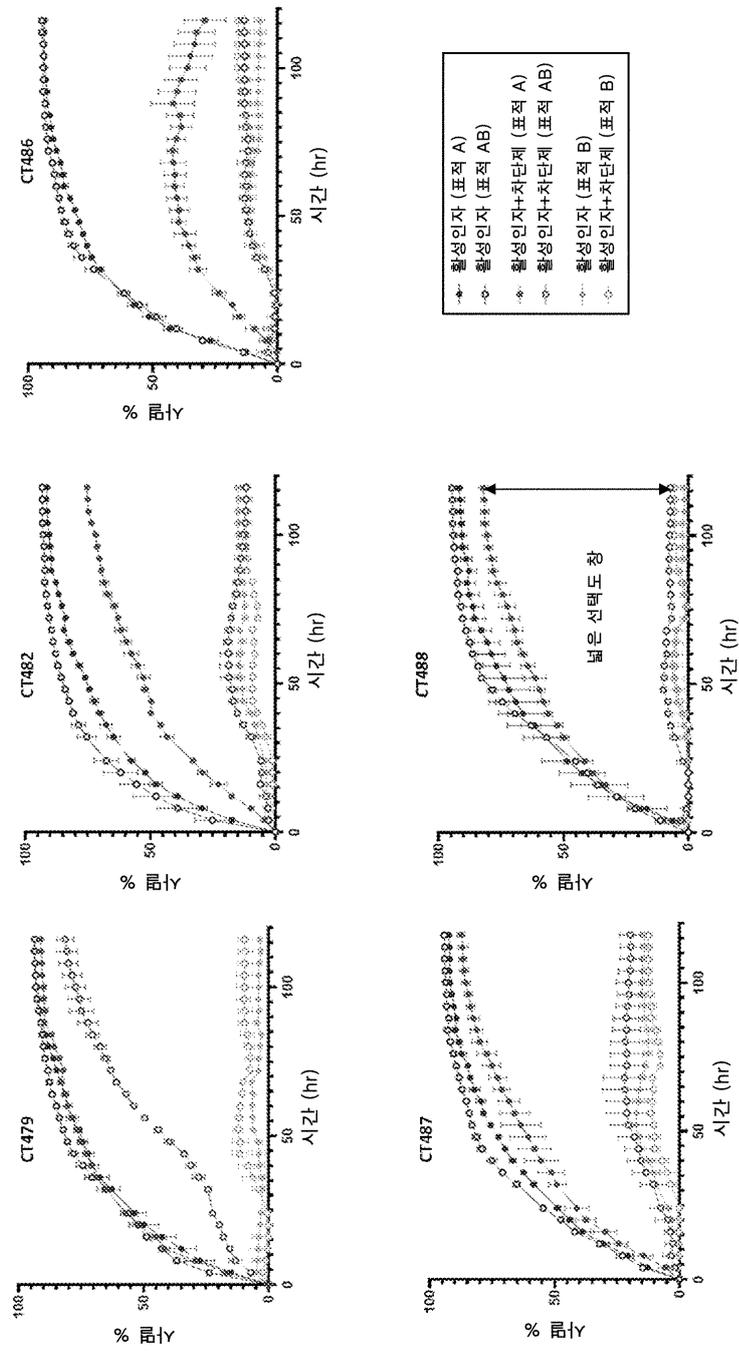


활성인자	차단제	활성인자 MP1 펩타이드 (uM)
MP1-CAR	-	50
MP1-CAR	-	5
MP1-CAR	-	0.5
MP1-CAR	ESO-Tmod	50
MP1-CAR	ESO-Tmod	5
MP1-CAR	ESO-Tmod	0.5

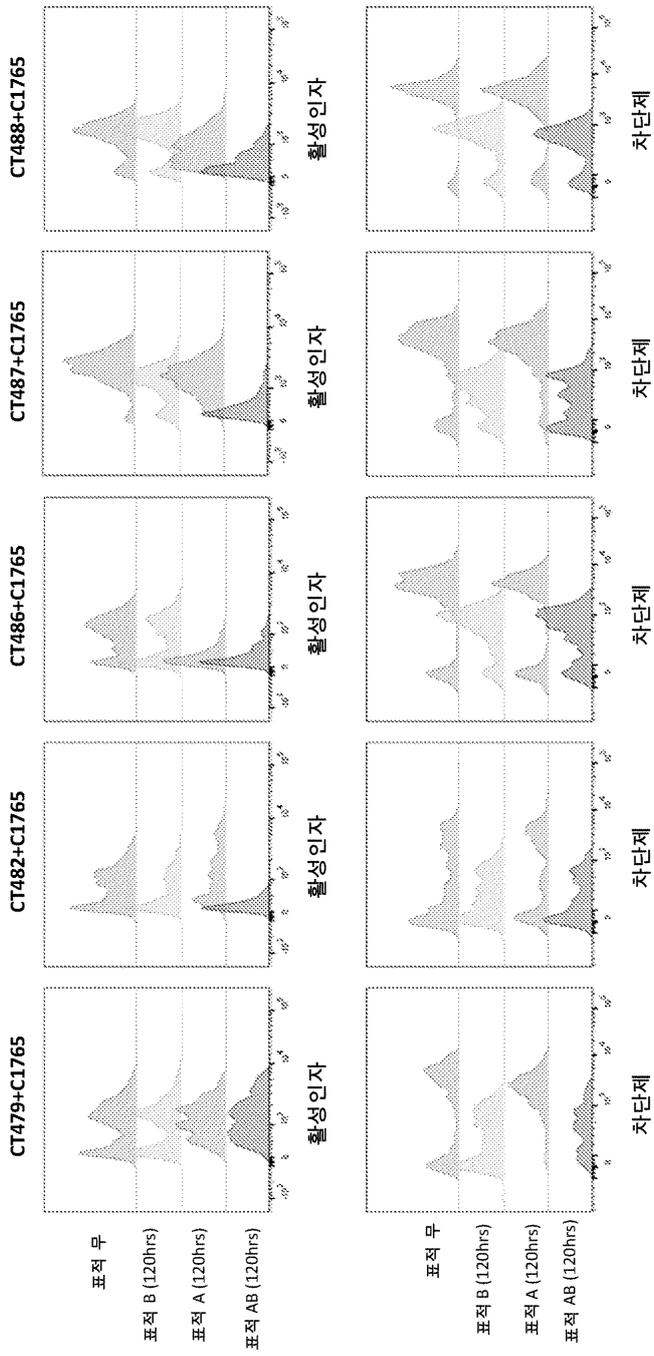
도면36c



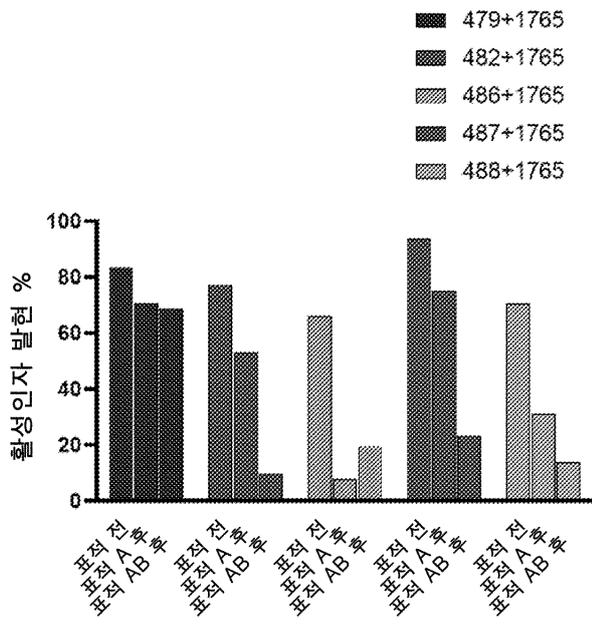
도면37



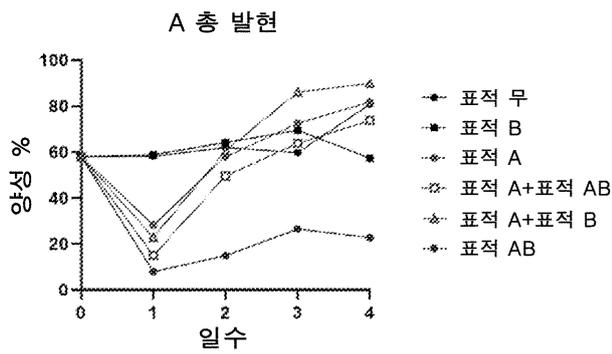
도면38a



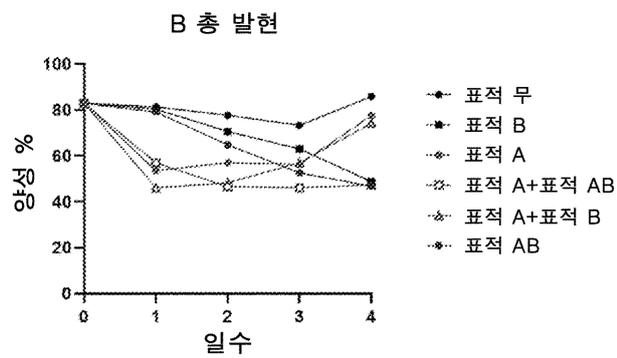
도면38b



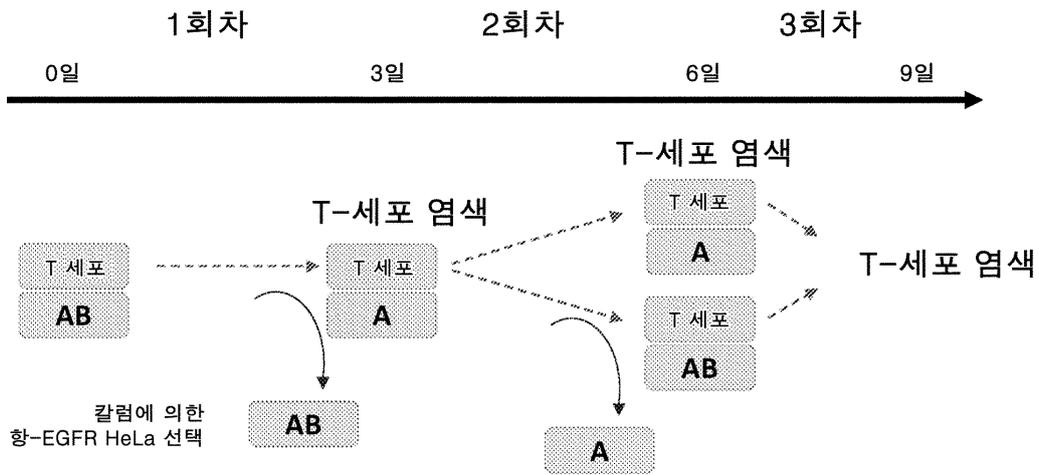
도면39a



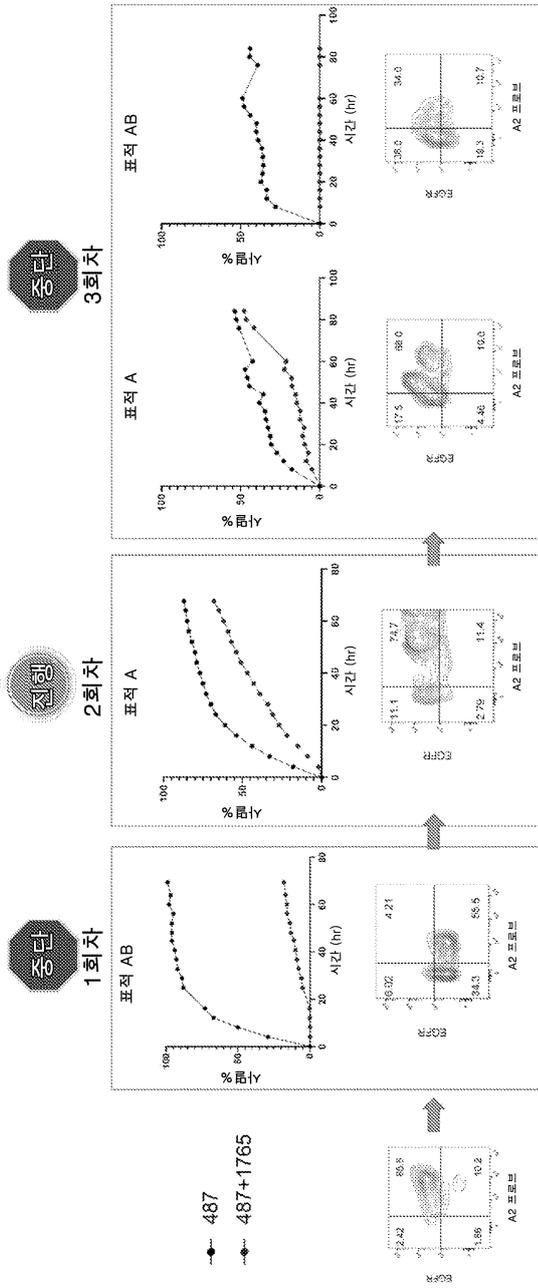
도면39b



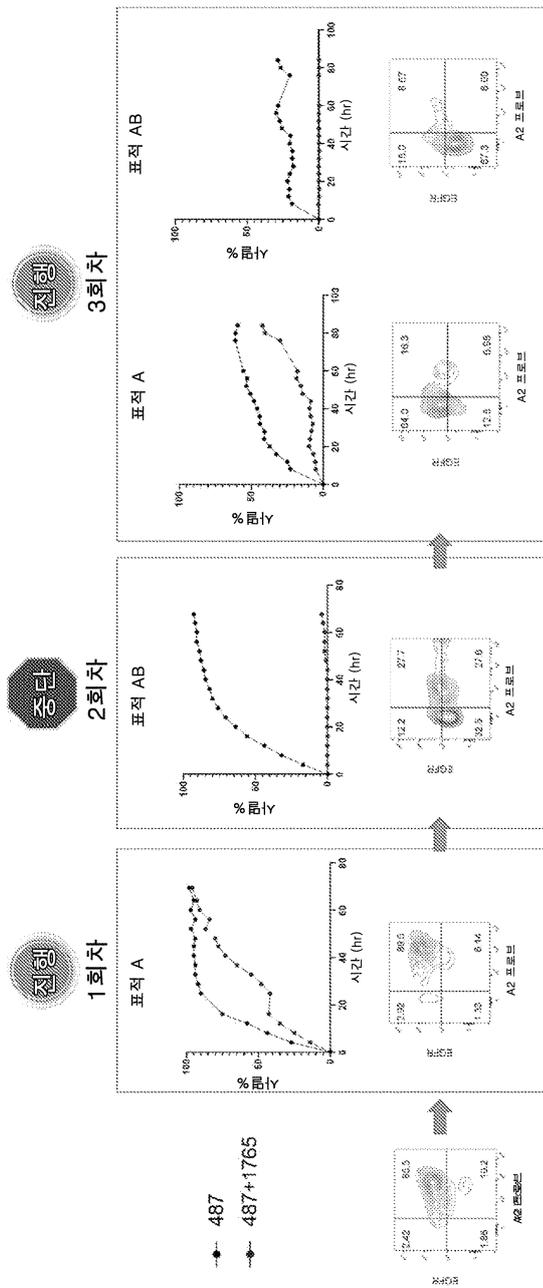
도면40



도면41a



도면41b



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> A2 Biotherapeutics, Inc.

<120> Cell Surface Receptors Responsive to Loss of Heterozygosity

<130> A2BI-009/03W0331656-2034

<150> 62/885,093

<151> 2019-08-09

<150> 63/005,670

20 25 30
 Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro
 35 40
 <210> 4
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220
 ><223> CD28 hinge
 <400> 4
 tgtaccattg aagttatgta tcctcctcct tacctagaca atgagaagag caatggaacc 60
 attatccatg tgaaggaa acaccttgt ccaagtcctc tatttcccg accttctaag 120
 ccc 123
 <210> 5
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD28 transmembrane domain
 <400> 5
 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
 20 25
 <210> 6
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD28 transmembrane domain
 <400> 6
 ttctgggtgc tggtcgttgt gggcggcgtg ctggcctgct acagcctgct ggtgacagtg 60
 gccttcatca tcttttgggt g 81
 <210> 7
 <211> 25
 <212> PRT

85 90 95
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 100 105 110
 <210> 10
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD3 zeta activation domain
 <400> 10
 agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttgacaa gcgtagaggc 120
 cgggacctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
 gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
 cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggactca gtacagccac caaggacacc 300
 tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336
 <210> 11
 <211> 43
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD3 zeta activation domain
 <400> 11
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 1 5 10 15
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 20 25 30
 Asp Val Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 35 40
 <210> 12
 <211> 129
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD3 zeta activation domain
 <400> 12

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttgacat gcaggcctg 120

ccccctcgc 129

<210> 13

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28 co-stimulatory domain

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 14

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28 co-stimulatory domain

<400> 14

aggagcaagc ggagcagact gctgcacagc gactacatga acatgacccc cggaggcct 60

ggccccacc ggaagcacta ccagccctac gccctccca gggatttcgc cgcctaccgg 120

agc 123

<210> 15

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-2-Rbeta intracellular domain

<400> 15

Asn Cys Arg Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn

1 5 10 15

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

65 70 75 80
 Ser Leu Gln Glu Leu Gln Gly Gln Asp Pro Thr His Leu Val
 85 90

<210> 16

<211> 282

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-2-Rbeta intracellular domain

<400> 16

aactgcagga acaccgggcc atggctgaag aaggtcctga agtgtaacac cccagacccc 60
 tcgaagtctt ttcccagct gagctcagag catggaggcg acgtccagaa gtggctctct 120
 tcgccttcc cctcatcgtc cttcagccct ggcggcctgg cacctgagat ctgccacta 180

gaagtctgg agagggacaa ggtgacgcag ctgctcccc tgaacactga tgcctacttg 240
 tctctccaag aactccaggg tcaggacca actcacttgg tg 282

<210> 17

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> STAT5 recruitment motif

<400> 17

Tyr Leu Ser Leu

1

<210> 18

<211> 760

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu
 1 5 10 15
 Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp
 20 25 30
 Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Val Asp Glu Glu Glu Asn Ala
 35 40 45
 Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Val Thr Lys Pro Lys Arg Cys Ser Gly
 50 55 60
 Ser Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Val Phe Phe Leu Ile Gly
 65 70 75 80
 Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr
 85 90 95
 Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Val Arg Glu Glu Pro
 100 105 110
 Gly Glu Asp Phe Pro Ala Ala Arg Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys
 115 120 125
 Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Ser Thr Asp Phe Thr Ser Thr Ile
 130 135 140
 Lys Leu Leu Asn Glu Asn Ser Tyr Val Pro Arg Glu Ala Gly Ser Gln
 145 150 155 160
 Lys Asp Glu Asn Leu Ala Leu Tyr Val Glu Asn Gln Phe Arg Glu Phe
 165 170 175
 Lys Leu Ser Lys Val Trp Arg Asp Gln His Phe Val Lys Ile Gln Val
 180 185 190
 Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Arg
 195 200 205
 Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys
 210 215 220
 Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys
 225 230 235 240

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp
 740 745 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe
 755 760

<210> 19
 <211> 300
 <212> DNA
 <213> CD3 epsilon intracellular domain
 <400> 19

aagaatagaa aggccaaggc caagcctgtg acacgaggag cgggtgctgg cggcaggcaa 60
 aggggacaaa acaaggagag gccaccacct gttccaacc cagactatga gcccatccgg 120

aaaggccagc gggacctgta ttctggcctg aatcagcgca gaatcggcgg aagcaggagc 180
 aagcggagca gactgctgca cagcactac atgaacatga cccccggag gcctggcccc 240
 acccggaagc actaccagcc ctacgccct cccagggatt tcgccgcta cggagctag 300

<210> 20
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial SEquence
 <220><223> TCR beta transmembrane domain
 <400> 20

accatcctct atgagatctt gctaggaag gccaccttgt atgccgtgct ggtcagtgcc 60
 ctcgtgctg 69

<210> 21

<211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ITAM motif
 <220><221> X
 <222> (2)..(3)
 <223> X can be any amino acid
 <400> 21

Tyr Xaa Xaa Leu

<210> 22
 <211> 270
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD3 gamma intracellular domain
 <400> 22
 ggacaggatg gagttcgcca gtcgagagct tcagacaagc agactctgtt gcccaatgac 60
 cagctctacc agccctcaa ggatcgagaa gatgaccagt acagccacct tcaaggaaac 120
 cagttgagga ggaatggcgg aagcaggagc aagcggagca gactgctgca cagcgactac 180

 atgaacatga cccccggag gcctggcccc acccggaagc actaccagcc ctacgccct 240
 cccagggatt tcgccgcta ccggagctag 270
 <210> 23
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> UTY peptide
 <220><221> X
 <222> (1)..(1)
 <223> X is R or G
 <220><221> X
 <222> (6)..(6)
 <223> X is E or A
 <220><221> X
 <222> (8)..(8)
 <223> X is V or P
 <400> 23
 Xaa Glu Ser Glu Glu Xaa Ser Xaa Ser Leu
 1 5 10
 <210>
 24
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> RPSY peptide

<220><221> X

<222> (8)..(8)

<223> X is V or L

<400> 24

Thr Ile Arg Tyr Pro Asp Pro Xaa Ile

1 5

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> UTY peptide

<220><221> X

<222> (5)..(5)

<223> X is H or R

<220><221> X

<222> (7)..(7)

<223> X is D or N

<400> 25

Leu Pro His Asn Xaa Thr Xaa Leu

1 5

<210> 26

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TCR alpha transmembrane domain

<400> 26

Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu

1 5 10 15

Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp

20

<210> 27

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TCR alpha transmembrane domain
 <400> 27
 gtgattgggt tccgaatcct ctcctgaaa gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg 60

cggctgtgg 69

<210> 28

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TCR beta transmembrane domain

<400> 28

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

1 5 10 15

Leu Val Ser Ala Leu Val Leu

20

<210> 29

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3 zeta transmembrane domain

<400> 29

Leu Cys Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu

1 5 10 15

Thr Ala Leu Phe Leu

20

<210> 30

<211> 89

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3 delta intracellular domain

<400> 30

Gly His Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu

1 5 10 15

Leu Arg Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala

20 25 30

Gln Tyr Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys Gly Gly Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

85

<210> 31

<211> 269

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3 delta intracellular domain

<400> 31

ggacatgaga ctggaaggct gtctggggct gccgacacac aagctctgtt gaggaatgac 60
 caggtctatc agccctccg agatcgagat gatgctcagt acagccacct tggaggaaac 120
 tgggctcgga acaagggcgg aagcaggagc aagcggagca gactgctgca cagcgactac 180
 atgaacatga cccccggag gcctggcccc acccgggaagc actaccagcc ctacgccct 240
 cccagggatt tcgccgcta ccggagcta 269

<210> 32

<211> 99

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> CD3 epsilon intracellular domain

<400> 32

Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala

1 5 10 15

Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro

20 25 30

Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser

35 40 45

Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile Gly Gly Ser Arg Ser Lys Arg Ser Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala

85 90 95

Tyr Arg Ser

<210> 33

<211> 89

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3 gamma intracellular domain

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly Asn Gln Leu Arg Arg Asn Gly Gly Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

85

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SMCY peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is S or A

<220><221> X

<222> (8)..(8)

<223> X is R or Q

<400> 34

Ser Pro Xaa Val Asp Lys Ala Xaa Ala Glu Leu

1 5 10

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TCR beta intracellular domain

<400> 35

Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg

1 5 10

<210> 36

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TCR beta intracellular domain

<400> 36

atggccatgg tcaagagaaa ggattccaga 30

<210> 37

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28 intracellular domain

<400> 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 35 40

<210> 38
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD28 intracellular domain
 <400> 38

aggagcaagc ggagcagact gctgcacagc gactacatga acatgacccc cggaggcct 60
 ggccccacc ggaagcacta ccagccctac gccctccca gggatttcgc cgcctaccgg 120

agc 123

<210> 39
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 4-1BB intracellular domain
 <400> 39

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

<210> 40
 <211> 126
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 4-1BB intracellular domain
 <400> 40

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag gccagtacaa 60
 actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt 120
 gaactg 126

<210> 41

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-L1

<400> 41

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 42

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-L2

<400> 42

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

1 5 10

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-L3

<400> 43

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr

1 5

<210> 44

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-H1

<400> 44

Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr His Ile His

1 5 10

<210> 45

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-H2

<400> 45

Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly Lys

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-H3

<400> 46

Glu Glu Ile Thr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 47

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-L1

<400> 47

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-L2

<400> 48

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

1 5 10

<210> 49

<211> 9

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-L3

<400> 49

Met Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr

1 5

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-H1

<400> 50

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr His Met His

1 5 10

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-H2

<400> 51

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 CDR-H3

<400> 52

Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 53

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 ScFv

<400> 53

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

Ser His Val Pro Arg Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ala Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser

145 150 155 160

Tyr His Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp

165 170 175

Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Glu Tyr Asn Glu Lys

180 185 190

Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala

195 200 205

Tyr Met His Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe

210 215 220

Cys Ala Arg Glu Glu Ile Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 54

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 ScFv

<400> 54

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Glu Ile Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser

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

 210 215 220
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 55

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 ScFv

<400> 55

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
 His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

 85 90 95
 Ala Arg Glu Glu Ile Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu
 130 135 140
 Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser

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

 210 215 220
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245
 <210> 56
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HLA-A*02 ScFv
 <400> 56
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
 His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe

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

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

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

 210 215 220
 Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245
 <210> 57
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HLA-A*02 ScFv
 <400> 57
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

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

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

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

 210 215 220
 Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gln
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
 245

<210> 58

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 ScFv

<400> 58

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

His Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Glu Ile Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Met Glu Trp Tyr

165 170 175

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

180 185 190

Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

195 200 205

Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala
 210 215 220
 Thr Tyr Tyr Cys His Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gln
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
 245
 <210> 59
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HLA-A*02 ScFv
 <400> 59
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 His Ile Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Leu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu
 130 135 140
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser

100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
 130 135 140
 Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser

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

 210 215 220
 Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Pro
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 245
 <210> 61
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HLA-A*02 ScFv
 <400> 61
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

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

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

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

 210 215 220
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 63

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 ScFv

<400> 63

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

His Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ser

145 150 155 160

Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr

165 170 175

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

180 185 190

Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala

210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly

225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 64

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 ScFv

<400> 64

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

His Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu

130 135 140

Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser

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

 210 215 220
 Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly Ser His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly
 225 230 235 240
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245
 <210> 65
 <211> 670
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 65
 Met Thr Pro Ile Leu Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Pro Arg Thr His Val Gln Ala Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp

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

 85 90 95
 Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp
 100 105 110

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

caatgcctga acicccagcc ccatgcccgt gggtcgtccc gcgccatctt ctccgtgggc 1140

cccgtgagcc cgagtcgcag gtgggtgttac aggtgctatg cttatgactc gaactctccc 1200

tatgagtggg ctctaccagc tgatctcctg gagctcctgg tcctaggtgt ttctaagaag 1260

ccatcactct cagtcagacc aggtcctatc gtggcccctg aggagaccct gactctgcag 1320

tgtggctctg atgctggcta caacagattt gttctgtata aggacgggga acgtgacttc 1380

cttcagctcg ctggcgcaca gccccagctt gggctctccc aggccaactt caccctgggc 1440

cctgtgagcc gctcctacgg gggccagtac agatgctacg gtgcacacaa cctctcctcc 1500

gagtggtcgg cccccagca cccctggac atcctgatcg caggacagtt ctatgacaga 1560

gtctcctctt cggtcagacc gggccccacg gtggcctcag gagagaacgt gaccctgctg 1620

tgtcagtcac agggatggat gcaaaacttc cttctgacca aggagggggc agctgatgac 1680

ccatggcgtc taagatcaac gtaccaatct caaaaatacc aggetgaatt ccccatgggt 1740

cctgtgacct cagccccatg ggggacctac aggtgctacg gctcacagag ctccaaacct 1800

tacctgctga ctacccccag tgacccccctg gagctcgtgg tctcaggacc gtctgggggc 1860

cccagctccc cgacaacagg ccccacctcc acatctggcc ctgaggacca gccctcacc 1920

cccaccgggt cggatcccca gagtggctcg ggaaggcacc tgggggttgt gatcggcatc 1980

ttggtggcgg tcatctact gctcctctc ctctctctcc tcttctcat ctctccgacat 2040

cgacgtcagg gcaaacactg gacatcgacc cagagaaagg ctgatttcca acatcctgca 2100

ggggctgtgg ggccagagcc cacagacaga ggctgcagt ggaggtccag cccagctgcc 2160

gatgcccagg aagaaaacct ctatgctgcc gtgaagcaca cacagcctga ggatggggtg 2220

gagatggaca ctcgagacc acacgatgaa gacccccagg cagt gacgta tgccgaggtg 2280

aaaacctcca gacctaggag agaaatggcc tctctctctt ccccactgtc tggggaatc 2340

ctggacacaa aggacagaca ggcggaagag gacaggcaga tggacactga ggctgctgca 2400

tctgaagccc cccaggatgt gacctacgc cagctgcaca gcttgaccct cagacgggag 2460

gcaactgagc ctctccatc ccaggaaggg ccctctccag ctgtgccag catctacgcc 2520

actctggcca tccactagcc caggggggga cgcagacccc aactccatg gactctggaa 2580

tgcattggag ctgcccccc agtggacacc attgacccc accagcctg gatctacccc 2640

aggagactct gggaaacttt aggggtcact caattctgca gtataaataa ctaatgtctc 2700

tacaattttg aaataaagca acagacttct caataatcaa tgaagtagct gagaaaacta 2760

agtcagaaaag tgcattaaac tgaatcacia tgtaaatatt acacatcaag cgatgaaact 2820

ggaaaactac aagccacgaa tgaatgaatt aggaaagaaa aaaagtagga aatgaatgat 2880
 ctggctttc ctataagaaa tttagggcag ggcacggtgg ctcacgcctg taattccagc 2940
 actttgggag gccgaggcgg gcagatcacg agttcaggag atcgagacca tcttggccaa 3000
 catggtgaaa ccctgtctct cctaaaaata caaaaattag ctggatgtgg tggcagtgcc 3060
 tgtaatccca gctatttggg aggctgaggc aggagaatcg cttgaaccag ggagtcagag 3120
 gtttcagtga gccaaagatcg caccactgct ctccagcctg gcgacagagg gagactccat 3180
 ctcaaattaa aaaaaaaaaa aaaaaagaaa gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3229

<210> 67

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM

<400> 67

Asn Leu Tyr Ala Ala Val

1 5

<210> 68

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM

<400> 68

Val Thr Tyr Ala Glu Val

1 5

<210> 69

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM

<400> 69

Val Thr Tyr Ala Gln Leu

1 5

<210> 70

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> ITIM

<400> 70

Ser Ile Tyr Ala Thr Leu

1 5

<210> 71

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM 1-2

<400> 71

Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys His Thr Gln Pro Glu Asp Gly Val Glu

1 5 10 15

Met Asp Thr Arg Ser Pro His Asp Glu Asp Pro Gln Ala Val Thr Tyr

20 25 30

Ala Glu Val

35

<210> 72

<211> 58

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM 2-3

<400> 72

Val Thr Tyr Ala Glu Val Lys His Ser Arg Pro Arg Arg Glu Met Ala

1 5 10 15

Ser Pro Pro Ser Pro Leu Ser Gly Glu Phe Leu Asp Thr Lys Asp Arg

20 25 30

Gln Ala Glu Glu Asp Arg Gln Met Asp Thr Glu Ala Ala Ala Ser Glu

35 40 45

Ala Pro Gln Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu

50 55

<210> 73

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM 3-4

<400> 73

Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Glu Ala Thr

1 5 10 15

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

 20 25 30

Tyr Ala Thr Leu

 35

<210> 74

<211> 87

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM 1-3

<400> 74

Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys His Thr Gln Pro Glu Asp Gly Val Glu

1 5 10 15

Met Asp Thr Arg Ser Pro His Asp Glu Asp Pro Gln Ala Val Thr Tyr

 20 25 30

Ala Glu Val Lys His Ser Arg Pro Arg Arg Glu Met Ala Ser Pro Pro

 35 40 45

Ser Pro Leu Ser Gly Glu Phe Leu Asp Thr Lys Asp Arg Gln Ala Glu

 50 55 60

Glu Asp Arg Gln Met Asp Thr Glu Ala Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gln

65 70 75 80

Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu

 85

<210> 75

<211> 88

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM 2-4

<400> 75

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

<210> 76

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM 1-4

<400> 76

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

Thr Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Gly Pro Ser Pro Ala Val Pro Ser
 100 105 110

Ile Tyr Ala Thr Leu
 115

<210> 77

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> D3D4 domain

<400> 77

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

1 5 10 15

Pro Leu Glu Leu
 20

<210> 78

<211> 43

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> short hinge

<400> 78

Val Val Ser Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ser Ser Pro Thr Thr Gly Pro

1 5 10 15

Thr Ser Thr Ser Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr Gly Ser
 20 25 30

Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly

35 40

<210> 79

<211> 86

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hinge- transmembrane

<400> 79

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

Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Glu Ala Thr
 130 135 140
 Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Gly Pro Ser Pro Ala Val Pro Ser Ile
 145 150 155 160
 Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His
 165

<210> 82

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LILRB1 hinge-transmembrane-intracellular domain

<400> 82

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

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

Asp Ala Gln Glu Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys His Thr Gln Pro
 130 135 140
 Glu Asp Gly Val Glu Met Asp Thr Arg Ser Pro His Asp Glu Asp Pro
 145 150 155 160

Gln Ala Val Thr Tyr Ala Glu Val Lys His Ser Arg Pro Arg Arg Glu
 165 170 175

Met Ala Ser Pro Pro Ser Pro Leu Ser Gly Glu Phe Leu Asp Thr Lys
 180 185 190

Asp Arg Gln Ala Glu Glu Asp Arg Gln Met Asp Thr Glu Ala Ala Ala
 195 200 205

Ser Glu Ala Pro Gln Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr
 210 215 220

Leu Arg Arg Glu Ala Thr Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Gly Pro Ser
 225 230 235 240

Pro Ala Val Pro Ser Ile Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His
 245 250

<210> 83

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LILRB1 hinge-TM-intracellular domain

<400> 83

Val Val Ser Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ser Ser Pro Thr Thr Gly Pro
 1 5 10 15

Thr Ser Thr Ser Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr Gly Ser
 20 25 30

Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile Gly Ile
 35 40 45

Leu Val Ala Val Ile Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Leu
 50 55 60

Ile Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr Gln Arg
 65 70 75 80

Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu Pro Thr
 85 90 95

Asp Arg Gly Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala Gln Glu

<210> 85

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LILRB1 transmembrane domain

<400> 85

Val Val Ile Gly Ile Leu Val Ala Val Ile Leu Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu

20

<210> 86

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MSLN binding domain

<400> 86

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Gly Trp Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Ser Ser Leu Ser Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

Arg Tyr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

165 170 175

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

180 185 190

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

195 200 205

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Thr Tyr Thr

210 215 220

Thr Pro Asp Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

225 230 235

<210> 87

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MSLN binding domain

<400> 87

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtggagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcttgcgaagg cttctggata caccttcacc gactactata tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaaactat 180

gcacagaagt ttcagggcag ggtcacatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggtgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gcttggtgg 300

gactttgact actggggcca gggaacctg gtcaccgtgt cctcagcgg aggtggaagc 360

ggagggggag gatctggcgg cggaggaagc ggagggcaca tcgtgatgac ccagtcttcc 420

tcctgtctg caictgtcgg agacagagtc accatcactt gccgggccag tcagagcatt 480

aggtactatt taagttgta tcagcagaaa ccaggaaaag cccctaagct cctgatctat 540

actgcatcca ttttacaaaa tggggtccca tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca 600

gatttcactc tcacatcag cagcctgcaa cctgaggatt ttgcaactta ttactgcctc 660

cagacttaca ctactccgga ctttggccca gggaccaagg tggaaatcaa a

711

<210> 88

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MSLN binding domain

<400> 88

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Ala Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Gly Tyr

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Arg Ala Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Thr Ala Ser Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Tyr Leu Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Val Asn Ile Trp Leu Ala Trp Tyr Gln

165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Arg Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
 130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser
 145 150 155 160

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
 165 170 175

Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly
 180 185 190

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
 195 200 205

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
 210 215 220

Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
 225 230 235 240

Ile Lys

<210> 91
 <211> 726
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MSLN binding domain
 <400> 91
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagtt 60
 tcttgcgaagg cttctggata ctcatcacc ggctacacca tgaactgggt gaggcaggcc 120

 cctggacaaa gacttgagtg gatgggactt atcacccctt acaatggtgc ttctagctac 180
 aaccagaagt tcaggggcag ggtcacaatc actagagaca cgtcagccag cacagcctac 240
 atggagctct ccagcctgag atctgaagac actgcagtct attactgtgc aagggggggt 300
 tacgacggga ggggttttga ctactggggc caggaacca cggtcaccgt gtctcaggc 360
 ggaggtggaa gcggaggggg aggatctggc ggcggaggaa gcggaggcga catccagatg 420
 acccagtctc ctcaagctt gtctgcatct gtaggagaca gggtcacat cacttgcagt 480
 gccagctcaa gtgtaagtta catgactgg tatcagcaga aaccaggcaa gcccctaag 540

 agattgatct atgacacatc caaattagca agtgggtcc caagtcgctt cagtggcagt 600
 ggatctggga ccgaattcac tctcaccatc agcagcttgc agcctgagga ttttgcaact 660
 tattactgcc agcagtggag tggttaccct ctcacgttcg gtcaggggac aaagttggaa 720
 atcaaa 726

<210> 92
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> MSLN binding domain
 <400> 92
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro
 130 135 140

Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser
 145 150 155 160

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly
 165 170 175

Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly
 180 185 190

Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu
 195 200 205

Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
 210 215 220

Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
 225 230 235 240

Ile Lys

<210> 93

<211> 726

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MSLN binding domain

<400> 93

caggtgcagc tgcagcagtc tgggcctgag ctggagaagc ctggggcctc agtgaagatt 60
 tcctgcaagg ctcttgata ctcatcacc ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaa gccttgagtg gattggactt atcaccctt acaatggtgc ttctagctac 180
 aaccagaagt tcaggggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 240
 atggacctcc tcagcctgac atctgaagac tctgcagtct atttctgtgc aagggggggt 300
 tacgacggga ggggttttga ctactggggc cagggaaacca cggtcaccgt gtcctcaggc 360
 ggaggtggaa gcggaggggg aggatctggc ggcggaggaa gcggaggcga catcgagctc 420
 acccagtctc ctgcaatcat gtctgcatct ccaggagaga aggtcacat gacttgcagt 480
 gccagctcaa gtgtaagtta catgcactgg tatcagcaga aatcaggcac ctcccctaag 540

agatggatct atgacacatc caaattggca agtgggtcc caggtcgctt cagtggcagt 600
 ggatctggga actcttactc tctcaccatc agcagcgtgg aggetgagga tgatgcaact 660
 tattactgcc agcagtggag tggttaccct ctcacgttcg gtgctgggac aaagtggaa 720
 atcaaa 726

<210> 94

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA binding domain

<400> 94

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Thr
 1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser
 20 25 30

Tyr Met His Trp Leu Arg Gln Gly Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Asn Glu Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser
 130 135 140

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

Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Leu Lys

<210> 95

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA binding domain

<400> 95

caggtccagc tgcagcagtc tggggcagag cttgtgaggt cagggacctc agtcaagttg 60
 tcttgcacag cttctggett caacattaaa gactcctata tgcactggtt gaggcagggg 120

 cctgaacagg gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180
 gccccgaagt tccagggcaa ggccactttt actacagaca catcctccaa cacagcctac 240
 ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtaa tgaagggaca 300
 ccgacagggc catactattt tgactactgg ggtcaaggaa ccacagtcac cgtgtcctca 360

ggcggaggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgagaacgtt 420
 ctccaccagt ctccagcaat catgtctgca tctccagggg agaaggtcac cataacctgc 480
 agtgccagct caagtgtaag ttacatgcac tggttccagc agaagccagg cacttctccc 540

aaactctgga tttatagcac atccaacctg gcttctggag tccctgctcg cttcagtggc 600
 agtggatctg ggacctctta ctctctcaca atcagccgaa tggaggctga agatgctgcc 660
 acttattact gccagcaaag gagtagttac ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg 720
 gagctgaaa 729

<210> 96

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA binding domain

<400> 96

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser
 20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Asn Glu Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser
 130 135 140

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

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ile Lys

<210> 97

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA binding domain

<400> 97

caggtccagc tgggtcagtc tggggcagag gtgaagaaac caggggcctc agtcaaggtg 60
 tcttgcaaag cttctggctt caacattaaa gactcctata tgcactgggt gaggcaggcg 120

 cctggacagg gcctggagtg gatgggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat 180
 gccccgaagt tccaggcgag ggtcactatg actacagaca catccacctc cacagcctac 240
 atggagctca ggagcctgag atctgacgac actgccgtct attactgtaa tgaagggaca 300
 ccgacagggc catactatct tgactactgg gtcaaggaa ccacagtcac cgtgtcctca 360
 ggccggaggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgagatcgtt 420
 ctcaaccagt ctccagcaac cttgtctctg tctccagggg agagggccac cetaagctgc 480
 agtgccagct caagtgtaag ttacatgcac tggtagcagc agaagccagg ccttgctccc 540

 agactcctga tttatagcac atccaacctg gcttctggaa tcctgatcg cttcagtggc 600
 agtggatctg ggaccgattt cactctcaca atcagccgac tggagcctga agatttcgcc 660
 gtttattact gccagcaaag gagtagttac ccgctcacgt tcggtcaggg gaccaagctg 720

gagatcaaa

729

<210> 98

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA binding domain

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Ser Asn Glu Phe Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Arg Ser Ser Tyr Ala Ser Trp Tyr Arg Gln Arg Pro Gly Gln Ala

165 170 175

Pro Val Leu Val Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro

180 185 190

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

Gln Val Gln Leu Glu Gln Ser Gly Ala Gly Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser
 20 25 30

Tyr Met His Trp Leu Arg Gln Gly Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gly Leu Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Asn Glu Gly Thr Pro Thr Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser
 130 135 140

Pro Ser Ser Met Ser Val Ser Val Gly Asp Arg Val Asn Ile Ala Cys
 145 150 155 160

Ser Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Met His Trp Leu Gln Gln Lys Pro
 165 170 175

Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser
 195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 210 215 220

Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 101

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA binding domain

<400> 101

```

caggtccagc tggagcagtc tggggcaggg gttgtgaagc caggggcctc agtcaagttg      60
tcttgcaaag cttctggctt caacattaaa gactcctata tgcaactggtt gaggcagggg      120

cctggacagc gcctggagtg gattggatgg attgatcctg agaatggtga tactgaatat      180
gccccgaagt tccagggcaa ggccactttt actacagaca catccgcaa cacagcctac      240
ctggggctca gcagcctgag acctgaggac actgccgtct attactgtaa tgaagggaca      300
ccgacagggc catactattt tgactactgg ggtcaaggaa ccctagtcac cgtgtcctca      360
ggcggaggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgagaacgtt      420
ctcaccagct ctccaagctc tatgtctgta tctgtcgggg acagggtcaa catcgctgc      480
agtgccagct caagtgtacc ttacatgcac tgctccagc agaagccagg caaatctccc      540

aaactcctga tttatctcac atccaacctg gcttctggag tcctagccg cttcagtggc      600
agtggatctg ggaccgatta ctctctcaca atcagctcag tgcagcctga agatgctgcc      660
acttattact gccagcaaag gagtagttac ccgctcacgt tcggtggtgg gaccaagctg      720
gagatcaaa                                         729
    
```

<210> 102

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 102

```

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1           5           10           15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
           20           25           30

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

Ala Val Ile Trp Asp Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Ile Thr Met Val Arg Gly Val Met Lys Asp Tyr Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ala Ile
 130 135 140

Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
 145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Ala Leu Val
 165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp
 180 185 190

Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Glu
 195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
 210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe
 225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 103

<211> 747

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 103

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cgtctggatt caccttcagt acctatggca tgcaactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggcctggagtg ggtggcagtt atatgggatg atggaagtta taaatactat 180

ggagactccg tgaagggccg attcaccaatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatggt 300

attactatgg ttcggggagt tatgaaggac tactttgact actggggcca gggaacctg 360

gtcacctct cctcaggcgg aggtggaagc ggagggggag gatctggcgg cggaggaagc 420

ggaggcgcca tccagttgac ccagctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 480

gtcaccaatca ctgcccggc aagtcaggac attagcagtg ctttagtctg gtatcagcag 540

aaaccagga aagctcctaa gctcctgac tatgatgctt ccagtttga aagtggggtc 600

ccatcaaggt tcagcggcag tgaatctggg acagatttca ctctacat cagcagcctg 660

cagcctgaag attttgcaac ttattactgt caacagtta atagttacc gctcactttc 720

ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaa 747

<210> 104

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 104

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu
 115 120 125
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu
 130 135 140
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met His Trp
 145 150 155 160
 Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp
 165 170 175
 Asp Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
 180 185 190
 Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 195 200 205
 Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly
 210 215 220
 Ile Thr Met Val Arg Gly Val Met Lys Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245

<210> 105

<211> 747

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 105

gccatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtc ggacattagc agtgcttag tctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagctc ctaagctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtgaatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag ttaaatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa aggcggaggt ggaagcggag ggggaggatc tggcggcgga 360

ggaagcggag gccaggtgca gctggtggag tctgggggag gcgtggtcca gcctgggagg 420
 tcctgagac tctcctgtgc agcgtctgga ttcaccttca gtacctatgg catgcactgg 480
 gtccgccagg ctccaggcaa ggggctggag tgggtggcag ttatatggga tgatggaagt 540
 tataaatact atggagactc cgtgaagggc cgattcacca tctccagaga caattccaag 600
 aacacgctgt atctgcaaat gaacagcctg agagccgagg acacggctgt gtattactgt 660
 gcgagagatg gtattactat ggttcgggga gttatgaagg actactttga ctactggggc 720
 caggaacc tggtcacctg ctctca 747

<210> 106

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 106

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

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

 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu
 130 135 140

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

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

<210> 107

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 107

cagatccagt tggatgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60
 tcttgcaagg cctctgggta taccttcaca gaatatccaa taaactgggt gaagcaggct 120
 ccaggaagg gtttcaagtg gatggcatg atatacaccg acattggaaa gccaacatat 180
 gctgaagagt tcaagggacg gtttgcttc tctttggaga cctctgccag cactgcctat 240
 ttgcagatca acaacctcaa gaatgaggac acggctacat atttctgtgt aagagatcga 300
 tatgattccc tctttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctgagcggga 360
 ggtggaagcg gaggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgatgt tgtgatgacc 420

 caaactccac tcicccctgcc tgctcagctt ggagatcaag cctccatctc ttgcagatct 480
 agtcagagcc ttgtacacag taatgaaac acctatttac attggtacct gcagaagcca 540
 ggccagtctc caaagctcct gatctacaaa gtttccaacc gattttctgg ggtcccagac 600
 aggttcagtg gcagtggatc agggacagat ttcacactca agatcagcag agtggaggct 660
 gaggatctgg gagtttattt ctgctctcaa agtacacatg ttccgtggac gttcgggtgga 720

ggcaccaagc tggaatcaa a

741

<210> 108

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 108

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

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

 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

 50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser

 85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu

145 150 155 160

Tyr Pro Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Phe Lys Trp

 165 170 175

Met Gly Met Ile Tyr Thr Asp Ile Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Glu Glu

 180 185 190

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

<210> 109
 <211> 741
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 109

gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
 atctcttgca gatctagica ggccttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg 120
 tactgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtffc caaccgattt 180
 tctgggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
 tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaaggcg gaggtggaag cggaggggga 360
 ggatctggcg gcggaggaag cggaggccag atccagttgg tgcagtctgg acctgagctg 420

 aagaagcctg gagagacagt caagatctcc tgcaaggcct ctgggtatac cttcacagaa 480
 tatccaatac actgggtgaa gcaggctcca ggaaagggtt tcaagtggat gggcatgata 540
 tacaccgaca ttgaaagcc aacatagct gaagagtca agggacggtt tgccttctct 600
 ttggagacct ctgccagcac tgcctatttg cagatcaaca acctcaagaa taggacacg 660
 gctacatatt tctgtgtaag agatcgatat gattccctct ttgactactg gggccaaggc 720
 accactctca cagtctctc a 741

<210> 110
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 110

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

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

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

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

245

<210> 111

<211> 747

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 111

```

gaaatgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttcgtgaagc ctggagggtc cctgaaactc      60
tcatgtgcag ccctcggatt cgctttcagt cactatgaca tgtcttgggt tcgccagact      120
ccgaagcaga ggctggagtg ggtcgatac attgctagtg gtggtgatat cacctactat      180
gcagacactg tgaagggcgc attcaccatc tccagagaca atgccagaa caccctgtac      240
ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt tttactgttc acgacctcc      300
tatggtaaca acggagatgc cctggacttc tggggtcaag gtacctcagt caccgtctcc      360

tcaggcggag gtggaagcgg agggggagga tctggcggcg gaggaagcgg aggcgatgtt      420
gtgatgacct aaactccact ctccctgcct gtcagtcttg gagatcaagc ctccatctct      480
tgcagatcta gtcagagcct tgttcacagt aatggaaaca cctatttaca ttggtacctg      540
cagaagccag gccagtctcc aaagetctg atctacaaag tttccaaccg attttctggg      600
gtcccagaca gggtcagtgg cagtggatca gggacagatt tcacactcaa gatcagcaga      660
gtggaggctg aggatctggg agtttatttc tgctctcaaa gtacacatgt tctcagttc      720
ggctcgggga caaagttgga aataaaa      747
    
```

<210> 112

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 112

```

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

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly

100 105 110

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

115 120 125

Glu Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Lys Pro Gly Gly

130 135 140

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser His Tyr

145 150 155 160

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Lys Gln Arg Leu Glu Trp Val

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ser Arg Ser Ser Tyr Gly Asn Asn Gly Asp Ala Leu Asp Phe Trp Gly

225 230 235 240

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 113

<211> 747

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 113

```

gatgttgga tgacccaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc      60
atctcttga gatctagca gagccttgtt cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg      120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt      180
tctgggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcagga cagatttcac actcaagatc      240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagt tatttctgct ctcaaagtac acatgttctc      300
acgttcggct cggggacaaa gttgaaaata aaaggcggag gtggaagcgg agggggagga      360

tctggcggcg gaggaagcgg aggcgaaatg cagctggtgg agtctggggg aggcttcgtg      420
aagcctggag ggtccctgaa actctcatgt gcagcctctg gattcgcttt cagtcactat      480
gacatgtctt gggttcgcca gactccgaag cagaggctgg agtgggtcgc atacattgct      540
agtggtggtg ataccaccta ctatgcagac actgtgaagg gccgattcac catctccaga      600
gacaatgccc agaacacct gtacctgcaa atgagcagtc tgaagtctga ggacacagcc      660
atgttttact gttcacgac ctctatggt aacaacggag atgcctgga cttctggggt      720
caaggtacct cagtcaccgt ctctca                                          747
    
```

<210> 114

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 114

```

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

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro
 130 135 140
 Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg
 145 150 155 160
 Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr
 165 170 175
 Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
 180 185 190
 Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 195 200 205
 Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Leu Lys

<210> 115

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 115

caggtgcagc tgaagcagtc cggccccggc ctggtgcagc cctcccagtc cctgtccatc 60
 acctgcaccg tgiccggctt ctccctgacc aactacggcg tgcaactgggt gcggcagtc 120
 cccggcaagg gcctggagtg gctgggcgtg atctggtccg gcggcaaac cgactacaac 180
 accccttca cctcccggct gtccatcaac aaggacaact ccaagtcca ggtgttcttc 240
 aagatgaact ccctgcagtc caacgacacc gccatctact actgcgccg gccctgacc 300

tactacgact acgagttcgc ctactggggc cagggcaccc tggtagccgt gtccgccggc 360
 ggaggtggaa gcggaggggg aggatctggc ggcggaggaa gcggaggcga catcctgctg 420
 acccagtccc ccgtgatcct gtccgtgtcc cccggcgagc ggggtgctctt ctctgccgg 480
 gcctcccagt ccatcggcac caacatccac tggtagcagc agcggaccaa cggctcccc 540
 cggctgctga tcaagtacgc ctccgagtcc atctccggca tcccctcccg gttctccggc 600
 tccggctccg gcaccgactt caccctgtcc atcaactccg tggagtccga ggacatcgcc 660
 gactactact gccagcagaa caacaactgg cccaccacct tcggcgccgg caccaagctg 720
 gagctgaag 729

<210> 116

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 116

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Glu Phe Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Ser Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Gly Arg Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln

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

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

<210> 117

<211> 731

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 117

aggtgcagct ggtgcagtcc ggcgccgagg tgaagaagcc cggcgcctcc gtgaaggtgt 60
 cctgcaaggc ctccggctac accttcacct cccactggat gcactgggtg cggcaggccc 120
 ccggccaggg cctggagtgg atcggcgagt tcaaccctc caacggccgg accaactaca 180
 acgagaagtt caagtccaag gccaccatga cgtggacac ctccaccaac accgcctaca 240
 tggagctgtc ctccctgcgg tccgaggaca ccgccgtgta ctactgcgcc tcccgggact 300
 acgactacga cggccggtac ttcgactact ggggccaggg caccctggtg accgtgtcct 360

 ccggcggagg tggaagcgga gggggaggat ctggcggcgg aggaagcgga ggcgacatcc 420
 agatgacca gtccccctcc tcctgtccg cctccgtggg cgaccgggtg accatcacct 480
 gctccgctc ctctccgtg acctacatgt actggtacca gcagaagccc ggcaaggccc 540
 ccaagctgct gatctacgac acctccaacc tggcctccgg cgtgcctcc cggttctccg 600
 gctccggctc cggcaccgac tacacctca ccatctctc cctgcagccc gaggacatcg 660

ccacctacta ctgccagcag tggctctccc acatcttcac cttcggccag ggcaccaagg 720
 tggagatcaa g 731

<210> 118

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 118

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser Ser Gly
 20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Thr Gln Phe
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Val Arg Asp Arg Val Thr Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
 130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
 145 150 155 160

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 165 170 175

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

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

<210> 119

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 119

caggtgcagc tgcaggagtc cggccccggc ctggtgaagc cctccgagac cctgtcctg 60
 acctgcaccg tgtccggcgg ctccgtgtcc tccggcgact actactggac ctggatccgg 120
 cagtccccg gcaagggcct ggagtggatc ggccacatct actactccgg caacaccaac 180
 tacaaccct cctgaagtc ccggtgacc atctccatcg acacctcaa gaccagttc 240
 tccctgaage tgtcctccgt gaccgccgc gacaccgcca tctactactg cgtgcgggac 300
 cgggtgaccg ggccttcga catctggggc cagggcacca tggtagacct gtctccggc 360

 ggaggtggaa gcggaggggg aggatctggc ggcggaggaa gcggaggcga catccagatg 420
 acccagtcct cctcctcct gtccgcctcc gtggcgacc gggtagccat cacctgccag 480
 gcctcccagg acatctcaa ctacctgaac tggtagaccg agaagcccgg caagccccc 540
 aagctgctga tctacgacgc ctccaacctg gagaccggcg tgcctcccg gtctccggc 600
 tccggctccg gcaccgactt cacctcacc atctctccc tgcagcccga ggacatcgcc 660
 acctactct gccagcactt cgaccacctg ccctggcct tcggcggcgg caccaaggtg 720
 gagatcaag 729

<210> 120

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR VH

<400> 120

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Asp Gly Ile Thr Met Val Arg Gly Val Met Lys Asp Tyr Phe

 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115 120 125

<210> 121

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR VL

<400> 121

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Ala

 20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

<220><223> EGFR VL

<400> 123

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

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

 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

 50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser

 85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105 110

<210> 124

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR VH

<400> 124

Glu Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser His Tyr

 20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Lys Gln Arg Leu Glu Trp Val

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

<210> 127

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR VL

<400> 127

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr
 85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 128

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR VH

<400> 128

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His
 20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Phe Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

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

Ala Ser Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Gly Arg Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 129

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR VL

<400> 129

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

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

<210> 130

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR VH

<400> 130

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

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

 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Val Arg Asp Arg Val Thr Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 131

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR VL

<400> 131

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His Phe Asp His Leu Pro Leu
 85 90 95

Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 132

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H1

<400> 132

Thr Tyr Gly Met His

1 5

<210> 133

<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220
><223> EGFR CDR-H1
<400> 133
Glu Tyr Pro Ile His
1 5
<210> 134
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial SEquence
<220><223> EGFR CDR-H1
<400> 134
His Tyr Asp Met Ser
1 5
<210> 135
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> EGFR CDR-H1
<400> 135
Asn Tyr Gly Val His
1 5
<210> 136
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> EGFR CDR-H1
<400> 136
Ser His Trp Met His
1 5

<210> 137
<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H1

<400> 137

Ser Gly Asp Tyr Tyr Trp Thr

1 5

<210> 138

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H2

<400> 138

Val Ile Trp Asp Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 139

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H2

<400>

> 139

Met Ile Tyr Thr Asp Ile Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 140

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H2

<400> 140

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

1 5 10 15

Gly

<210> 141

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H2

<400> 141

Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser

1 5 10 15

<210> 142

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H2

<400> 142

Glu Phe Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 143

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H2

<400> 143

His Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 144

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H3

<400> 144

Asp Gly Ile Thr Met Val Arg Gly Val Met Lys Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H3

<400> 145

Asp Arg Tyr Asp Ser Leu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 146

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H3

<400> 146

Ser Ser Tyr Gly Asn Asn Gly Asp Ala Leu Asp Phe

1 5 10

<210> 147

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H3

<400> 147

Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 148

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H3

<400> 148

Arg Asp Tyr Asp Tyr Asp Gly Arg Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 149

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-H3

<400> 149

Asp Arg Val Thr Gly Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 150

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L1

<400> 150

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Ala Leu Val

1 5 10

<210> 151

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L1

<400> 151

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 152

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L1

<400> 152

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 153

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L1

<400> 153

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His

1 5 10

<210> 154

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L1

<400> 154

Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Met Tyr

1 5 10

<210> 155

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L1

<400> 155

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

EGFR CDR-L2

<400> 156

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 157

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L2

<400> 157

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L2

<400> 158

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser

1 5

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L2

<400> 159

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 160

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L2

<400> 160

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 161

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L3

<400> 161

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 162

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L3

<400> 162

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr

1 5

<210> 163

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L3

<400> 163

Ser Gln Ser Thr His Val Leu Thr

1 5

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L3

<400> 164

Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr

1 5

<210> 165

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> EGFR CDR-L3

<400> 165

Gln Gln Trp Ser Ser His Ile Phe Thr

1 5

<210> 166

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR CDR-L3

<400> 166

Gln His Phe Asp His Leu Pro Leu Ala

1 5

<210> 167

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 167

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ile Val Met Thr Gln Thr
 130 135 140

Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 145 150 155 160

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys
 165 170 175

Pro Gly Gln Ser Pro Ile Cys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg
 180 185 190

Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Tyr Gly Thr Asp
 195 200 205

Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr
 210 215 220

Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Arg
 245

<210> 168

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 168

caggtgcagc tgaagcagtc aggacctggc ctagtgcagc cctcacagag cctgtccctg 60
 acctgcacag tcctctggttt ctattaact agttatggcg tacactgggt tcgccagcct 120

ccaggaaagg gtctggagtg gctgggagtg atctggagtg gtggaagcac agactataat 180
 gtgtctttca taiccagact gagcatcagg aaggacaact ccaagagcca agtcttcttt 240

aaaatgaaca gtctgcaagc tgatgacaca gccatatact actgtgccag aacctttact 300

acgtctacct cggcctggtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctctgca 360

ggcggagggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cagcatcgtg 420

atgaccaga ctccaaaatt cctgcttgtg tctgctggag acagagtcac catcacttgc 480

aaggcgagtc agictgtgag caacgacgia gcttggtatc agcagaaacc agggcaatct 540
 cctatctgtc tctgatcta ctatgcatct aatcggata caggggtccc tgataggttc 600
 accggaagtg gatatgggac agatttcaact ttcacatca gcaccgtgca ggctgaagat 660
 cttgcagtat atttctgtca acaggattat agtagtctc cgtggacttt cggcggaggg 720
 accaagttgg agatcaga 738

<210> 169

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 169

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
 20 25 30

Gly Val His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Thr Phe Thr Thr Ser Thr Ser Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
 130 135 140

Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
 145 150 155 160

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys
 165 170 175
 Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr
 180 185 190
 Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 195 200 205

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr
 210 215 220
 Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 225 230 235 240
 Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 170

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 170

caggtgcagc tgcaggagtc cggacctggc ctagtgaagc cctcacagac cctgtccctg 60
 acctgcacag tctctggttt ctcatctaac agctatgggtg tacactggat tagacagcct 120

ccaggaaagg gtctggagtg gattggagtg atctggagtg gtggaagcac agactataat 180
 gctgctttca tatccagagt gaccatcagc gtggacacct ccaagaacca attctccctt 240
 aaactgagca gtgtgacagc tgccgacaca gccgtatact actgtgccag aacctttact 300
 acgtctacct cggcctggtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctcttca 360
 ggccggaggtg gaagcggagg gggaggatct ggccggcggag gaagcggagg cgacatcgtg 420
 atgaccacaga gtccagattc cctggctgtg tctctgggag agagagccac catcaattgc 480
 aaggcagtc agtctgtgag caacgacgta gcttgggtatc agcagaaacc agggcaacct 540

ctaaactcc tgatctacta tgcatctaat cggatatacag gggtcctga taggttcagc 600
 ggaagtggat ctgggacaga tttcactctc accatcagca gcctgcaggc tgaagatgtt 660
 gcagtatatt actgtcaaca ggattatagt agtcctccgt ggactttcgg cggagggacc 720
 aaggtggaga tcaaa 735

<210> 171

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 171

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
 20 25 30

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

Ser Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
 50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

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

Arg Thr Phe Thr Thr Ser Thr Ser Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 130 135 140

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 145 150 155 160

Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys
 165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr
 180 185 190

Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 195 200 205

Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr
 210 215 220

Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 172

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 172

gaggtgcagc tgctggagtc cggaggtggc ctagtgcagc cggagggag cctgcgcctg 60

agctgvcag cctctggttt ctcatctaac agctatgggt tacactgggt tagacaggct 120

ccaggaaagg gtctggagtg ggttagcgtg atctggagtg gtggaagcac agactataat 180

gtgctttca tatccagatt taccatcagc cgggacaact ccaagaacac actctacctt 240

caaatgaaca gtttgagagc tgaagacaca gccgtatact actgtgccag aacctttact 300

acgtctacct cggcctgggt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctcttca 360

ggcggagggt gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgacatccag 420

atgaccaga gtccaagctc cctgtctgcg tctgtgggag acagagtcac catcaactgc 480

aaggcagtc agtctgtgag caacgacgta gcttgggtatc agcagaaacc agggaaagct 540

cctaaactcc tgatctacta tgcattctaat cggatatacag gggtccctag taggttcagc 600

ggaagtggat ctgggacaga ttctactttc accatcagca gcctgcagcc tgaagatatt 660

gcaacatatt actgtcaaca ggattatagt agtcctcctg ggactttcgg cggagggacc 720

aaggtggaga tcaaa 735

<210> 173

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 173

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

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

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

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

 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
 210 215 220
 Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 225 230 235 240
 Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 174

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 174

```

caggtgcagc tgcaggagtc cggacctggc ctagtgaagc cctcagaaac cctgtccctg      60
acctgcacag tctctggttt ctcatctaac agctatgggtg tacactggat tagacagcct      120

ccaggaaagg gtctggagtg gattggagtg atctggagtg gtggaagcac agactataat      180
gtcgctttca tatccagagt gaccatcagc agggacacct ccaagaacca attctccctt      240
aaactgagca gtgtgacagc tgccgacaca gccgtatact actgtgccag aacctttact      300
acgtctacct cggcctggtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctcttca      360
ggcggaggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgacatcgtg      420
atgaccaga ctccacttc cctgtctgtg actccgggac agccagccag catcagttgc      480
aaggcgagtc agtctgtgag caacgacgia gcttgggtatc tgcagaaacc agggcaatct      540

cctcaactcc tgatctacta tgcattctaat cggatatacag gggtcctga taggttcagc      600
ggaagtggat ctgggacaga tttcactttg aagatcagca gggaggaggc tgaagatggt      660
ggagtatatt actgtcaaca ggattatagt agtcctccgt ggactttcgg cggagggacc      720
aaggtggaga tcaaa                                             735
    
```

<210> 175

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 175

```

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1           5           10           15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
           20           25           30

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

Ala Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
    
```


agctgcgtag tcctcggttt ctcattaact agctatggta tgcactgggt tagacaggct 120

ccaggaagg gtctggagtg ggttcagtg atctggagtg gtggaagcac agactataat 180

gtgctttca tatccagatt taccatcagc egggacaact ccaagaacac actctacctt 240

caaatgaaca gtttgagagc tgaagacaca gccgtatact actgtgccaa aacctttact 300

acgtctacct cggcctggtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctcttca 360

ggcggagggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgagatcgtg 420

ctgaccaga gtccagctac cctgtctctg tctccgggag agagagccac cctcagttgc 480

agggcagtc agtctgtgag caacgacctt gcttggatc agcagaaacc agggcaagct 540

cctagactcc tgatctacta tgcattcaat cggatatacag gggtcctga taggttcagc 600

ggaagtggat ctgggacaga tttcactctc accatcagca gcctggagcc tgaagatatt 660

gcagtatatt actgtcaaca ggattatagt agtctctcgt ggactttcgg ccaagggacc 720

aaggtggaga tcaa 735

<210> 177

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 177

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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

115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 130 135 140

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 145 150 155 160

Gln Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
 165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr
 180 185 190

Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 195 200 205

Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr
 210 215 220

Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 178

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pan-HLA ScFv

<400> 178

caggtgcagc tggaggagtc cggaggatggc gtagtgcagc ccggaaggag cctgcgcctg 60

agctgcgcag tctctggttt ctcatctaac agctatggta tgcactgggt tagacaggct 120

ccaggaaagg gtctggagtg ggttcagtg atctggagtg gtggaagcac agactataat 180

gctgctttca tatccagatt taccatcagc cgggacaact ccaagaacac actctacctt 240

caaatgaaca gtttgagagc tgaagacaca gccgtatact actgtgccag aacctttact 300

acgtctacct cggcctggtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctcttca 360

ggcggagggt gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgacatccag 420

atgaccaga gtccaagctc cctgtctgcg tctgtgggag acagagtcac catcacttgc 480
caggcgagtc agtctgtgag caacgacctt aattggtatc agcagaaaacc agggaaaagct 540

cctaaactcc tgatctacta tgcatctaat cggatatacag gggccctga taggttcagc 600
ggaagtggat ctgggacaga tttcactttc accatcagca gcctgcagcc tgaagatatt 660
gcaacatatt actgtcaaca ggattatagt agtcctcctg ggactttcgg cggagggacc 720
aaggtggaga tcaaa 735

<210> 179
<211> 741
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain
<400> 179

gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttga gatctagtca gagcattgta catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg 120

tacctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
tctgggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcagga cagatttcac actcaagatc 240
agtagagtgg agctgagga tctgggagtt tattactgct tcaaggttc acatgttctc 300
cggacgtccg gtggaggcac caagctggaa atcaaaggcg gaggtggaag cggaggggga 360
ggatctggcg gcggaggaag cggaggccag gtccagctgc agcagtctgg acctgagctg 420
gtgaagcctg gggcttcagt gaggatatcc tgcaaggctt ctggctacac cttcacaagt 480
taccatatac attgggtgaa gcagaggcct ggacaggac ttgagtggat tggatggatt 540

tatcctggaa atgttaatac tgagtacaat gagaagtca agggcaagc cacactgact 600
gcagacaaat cgtccagcac agcctacatg cacctcagca gcctgacctc tgaggactct 660
gcggtctatt tctgtgccag agaggagatt acctatgcta tggactactg gggtaagga 720
acctcagtea cegtgtctc a 741

<210> 180
<211> 741
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain
<400> 180

caggtgcagc tgggtcagtc tgggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt 60

tctctgaagg ctcttgata caccttcaact agctatcata tacattgggt gcgccaggcc 120

cccggacaag ggcttgagt gatgggatgg atctaccctg gcaatgtaa cacagaatat 180
aatgagaagt tcaagggcaa agccaccatt accgcgaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggctgtgt attactgtgc gagggaggaa 300
attacctag ctatggacta ctggggccag ggaaccacag tcaccgtgtc ctgagcggga 360
ggaggaaagc gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgagat tgtattgacc 420
cagagcccag gcaccctgag cctctctcca ggagagcggg ccaccctcag ttgtagatcc 480
agtcagagta ttgtacacag taatgggaac acctatttgg aatggtatca gcagaaacca 540

ggtaagccc caagattgct catctacaaa gtctctaaca gatttagtgg tattccagac 600
aggttcagcg gttccggaag tggactgat ttaccctca cgatctccag gctcagcca 660
gaagatttcg ccgtttatta ctgttttcaa ggttcacatg tgccgcgcac attcgggtggg 720
ggtactaaag tagaaatcaa a 741

<210> 181
<211> 741
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain
<400> 181

caggtgcagc tgggtcagtc tgggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt 60
tctctgaagg ctcttgata caccttcaact agctatcata tacattgggt gcgccaggcc 120

cccggacaag ggcttgagt gatgggatgg atctaccctg gcaatgtaa cacagaatat 180
aatgagaagt tcaagggcaa agccaccatt accgcgaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggctgtgt attactgtgc gagggaggaa 300
attacctag ctatggacta ctggggccag ggaaccacag tcaccgtgtc ctgagcggga 360
ggaggaaagc gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgacat tgtaatgacc 420
cagaccccac tcagcctgcc cgtcactcca ggagagcggg ccagcatcag ttgtagatcc 480
agtcagagta ttgtacacag taatgggaac acctatttgg aatggtatct gcagaaacca 540

ggtaaatccc cacaattgct catctacaaa gtctctaaca gatttagtgg tgtaccagac 600
aggttcagcg gttccggaag tggactgat ttaccctca agatctccag ggtcaggca 660
gaagatgtcg ccgtttatta ctgttttcaa ggttcacatg tgccgcgcac attcgggtggg 720
ggtactaaag tagaaatcaa a 741

<210> 182

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain

<400> 182

```

gaggtgcagc tgggtgagtc tgggggtggg ctggtgaagc ctgggggctc actgaggctt      60
tcctgcgcgg ctcttgata caccttact agctatcata tacattgggt gcgccaggcc      120

cccggaaaag ggcttgagt ggtgggatgg atctaccctg gcaatgttaa cacagaatat      180
aatgagaagt tcaagggcag attcaccatt agcagggacg attccaagaa cacactctac      240
ctgcagatga acagcctgaa aactgaagac acggctgtgt attactgtgc gaggaggaggaa      300
attacctacg ctatggacta ctggggccag ggaaccacag tcaccgtgtc ctcaggcgga      360
ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgacat tcaaatgacc      420
cagagcccat ccagcctgag cgcactgta ggtgaccggg tcaccatcac ttgtagatcc      480
agtcagagta ttgtacacag taatgggaac acctatttgg aatggtatca gcagaaacca      540

ggtaaagccc caaaattgct catctacaaa gtctctaaca gatttagtgg tgtaccaagc      600
aggttcagcg gttccggaag tggctactgat ttaccctca cgatctctc tetccagcca      660
gaagatttgc ccacttatta ctgttttcaa gggtcacatg tgccgcgcac attcgggtggg      720
ggtactaaag tagaaatcaa a                                     741

```

<210> 183

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain

<400> 183

```

caggtgcagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt      60
tcctgcaagg ctcttgata caccttact agctatcata tacattgggt gcgccaggcc      120

cccggacaag ggcttgagt gatcggatgg atctaccctg gcaatgttaa cacagaatat      180
aatgagaagt tcaagggcaa agccaccatt accgcggacg aatccacgaa cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggctgtgt attactgtgc gaggaggaggaa      300
attacctacg ctatggacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtgtc ctcaggcgga      360
ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgacat tcaaatgacc      420

```

cagagcccat ccacctgag cgcatctgia ggtgaccggg tcaccatcac ttgtagatcc 480
 agtcagagta ttgtacacag taatgggaac acctatttgg aatggtatca gcagaaacca 540

ggtaaagccc caaaattgct catctacaaa gtctctaaca gatttagtgg tgtaccagcc 600
 aggttcagcg gttccggaag tggactgaa ttaccctca cgatctctc tctccagcca 660
 gatgatttcg ccaattatta ctgttttcaa ggttcacatg tgccgcgcac attcggtcag 720
 ggtactaaag tagaagtcaa a 741

<210> 184
 <211> 741
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HLA-A*02 antigen binding domain
 <400> 184

caggtgcagc tgggtcagtc tgggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt 60
 tcttgaagg ctcttgata caccttcaact agctatcata tgcattgggt gcgccaggcc 120

cccggacaag ggcttgagtg gatcggatac atctaccctg gcaatgtaa cacagaatat 180
 aatgagaagt tcaagggcaa agccaccctt accgcggaca aatccacgaa cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggctgtgt atttctgtgc gagggaggaa 300
 attacctacg ctatggacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtgtc ctcaggcggga 360
 ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgacgt tcaaagacc 420
 cagagcccat ccacctgag cgcatctgia ggtgaccggg tcaccatcac ttgtagctcc 480
 agtcagagta ttgtacacag taatgggaac acctatatgg aatggtatca gcagaaacca 540

ggtaaagccc caaaattgct catctacaaa gtctctaaca gatttagtgg tgtaccagac 600
 aggttcagcg gttccggaag tggactgaa ttaccctca cgatctctc tctccagcca 660
 gatgatttcg ccaattatta ctgtatcaa ggttcacatg tgccgcgcac attcggtcag 720
 ggtactaaag tagaagtcaa a 741

<210> 185
 <211> 741
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HLA-A*02 antigen binding domain
 <400> 185

caggtgcagc tgcagcagtc tgggcctgag ctggtgaagc ctggggcctc agtgaagatg 60

tctctgaagg ctcttgata caccttcaact agctatcata tccagtgggt gaagcagagg 120

cctggacaag ggcttgagt gatcggatgg atctaccctg gcgatggtag tacacagtat 180

aatgagaagt tcaagggcaa aaccaccctt accgcggaca aatcctccag cacagcctac 240

atgttgctga gcagcctgac ctctgaagac tctgctatct atttctgtgc gagggagggg 300

acctactacg ctatggacta ctggggccag ggaacctcag tcaccgtgtc ctgagcggga 360

ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgatgt ttgatgacc 420

cagactccac tctccctgcc tgtctctctt ggagaccaag tctccatctc ttgtagatcc 480

agtcagagta ttgtacacag taatgggaac acctatctag aatggtatct gcagaaacca 540

ggtcagtctc caaagttgct catctacaaa gtctctaaca gatttagtgg tgtaccagac 600

aggttcagcg gttccggaag tggactgat ttaccctca agatctcgag agtggaggct 660

gaggatctgg gagtttatta ctgttttcaa ggttcacatg tgcccgccac attcgggtgga 720

ggtactaaac tggaaatcaa a 741

<210> 186

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain

<400> 186

cagctgcagc tgcaggagtc tgggcccggg ctggtgaagc cttcgaaac gctgagcctc 60

acctgcacgg ttcttgata caccttcacc agctatcata tccagtggat ccgacagccc 120

cctggaaaag ggcttgagt gatcggatgg atctaccctg gcgatggttc aacacagtac 180

aatgagaagt tcaagggcag agccacgatt agcgtggaca catccaagaa ccaattctec 240

ctgaacctgg acagcgtgag tgctgcggac acggccattt attactgtgc gagagagga 300

acttactacg ctatggacta ctggggcaaa gggagcacgg tcaccgtgtc ctgagcggga 360

ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgacat ccagatgacc 420

cagagcccaa gctccctgag tgcgtccgtg ggcgaccgcg tgaccatcac ttgcagatcc 480

tctcagtcca tctgtcactc caacggcaac acgtacctcg agtggtagca gcagaagccc 540

gggaaggccc cgaactgct catctacaag gtgagcaacc ggttctccgg cgtccccagc 600

cgcttctcag ggtccggctc ggggacggat ttacattca cgattagcag cttgcagccc 660

gaagacatcg ccacgtacta ctgctttcag ggaagtacag tgcccgctac cttcgggccc 720

gacacgaaag tggatattaa g 741

<210> 187

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain

<400> 187

gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggccgag ctgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtg 60
tcctgcaagg ctcttgata caccttcacc agctatcata tccagtgggt aaaacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatcgatgg atctaccctg gcgatggttc aacacagtac 180
aatgagaagt tcaagggcaa agccacgctt accgtggaca aatccacgaa cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtat attactgtgc gagagaggga 300
acttactacg ctatggacta ctggggccaa gggaccctgg tcaccgtgtc ctcaggcggga 360
ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgacat ccagatgacc 420
cagagcccat ccacctgag tgcgtccgtg ggcgaccgcg tgaccatcac ttgcagatcc 480
tctcagtcca tcgtgcactc caacggcaac acgtacctcg agtggtagca gcagaagccc 540

gggaaggccc cgaactgct catctacaag gtgagcaacc ggttctccgg cgtccccagc 600
cgcttctcag ggtccggctc ggggacggat ttaccctca cgattagcag cttgcagccc 660
gatgacttgc ccacgtacta ctgcttccag ggaagtcacg tgcccgctac cttcgggcag 720
ggcacgaaag tggaggttaa g 741

<210> 188

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain

<400> 188

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggccgag gtaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtg 60
tcctgcaagg ctcttgata caccttcacc agctatcata tccagtgggt acgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atctaccctg gcgatggttc aacacagtac 180
aatgagaagt tcaagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtat attactgtgc gagagaggga 300
acttactacg ctatggacta ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtgtc ctcaggcggga 360
ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgagat cgtcctgacc 420

cagagccag ggacctgag tttgtccccg ggcgagcgcg cgacctcag ttgcagatcc 480
tctcagtcca tcgtgactc caacggcaac acgtacctcg agtggtagca gcagaagccc 540

gggcaggccc cgcgactgct catctacaag gtgagcaacc ggttctccgg catccccgac 600
cgcttctcag ggtccggctc ggggacggat ttaccctca cgattagccg cttggagccc 660
gaagacttcg ccgtgtacta ctgctttcag ggaagtcacg tgcccgtac cttcgggggg 720
ggcacgaaag tggaattaa g 741

<210> 189
<211> 741
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain
<400> 189

caggtgacc tgaagcagtc tggggccgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagtg 60
tcttgacagg ctcttgata caccttacc agctatcatg tcagctgggt acgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gttgggaagg atctaccctg gcgatggtc aacacagtac 180
aatgagaagt tcaagggcaa agtcacgatt accgcggaca aatccatgga cacatccttc 240
atggagctga ccagcctgac atctgaggac acggccgtat attactgtgc gagagagga 300
acttactacg ctatggacct ctggggccaa gggacctgg tcaccgtgtc ctcaggcggga 360
ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgagat cgtcctgacc 420
cagagccag ggacctgag tttgtccccg ggcgagcgcg cgacctcag ttgcagatcc 480
tctcagtcca tcgtgactc caacggcaac acgtacctcg cgtggtagca gcagaagccc 540

gggcaggccc cgcgactgct catctccaag gtgagcaacc ggttctccgg cgtccccgac 600
cgcttctcag ggtccggctc ggggacggat ttaccctca cgattagccg cttggagccc 660
gaagacttcg ccgtgtacta ctgccaacag ggaagtcacg tgcccgtac cttcgggggg 720
ggcacgaaag tggaattaa g 741

<210> 190
<211> 741
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> HLA-A*02 antigen binding domain
<400> 190

caggtgcagc tgggtcagtc tggggccgag gtgaagaagc ctggggcctc ggtgaagtg 60

tctctgaagg ctcttgata caccttcacc agctatcata tgactgggt acgacaggcc 120

cctggacaaa ggcttgagt gatgggatg atctacctg gcgatggtc aacacagtac 180

aatgagaagt tcaagggcaa agtcacgatt acccgggaca catccgcgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtat attactgtc gagagagga 300

acttactacg ctatggacta ctggggccaa gggaccctg tcaccgtgc ctcaggcgga 360

ggtggaagcg gagggggagg atctggcggc ggaggaagcg gaggcgacat cgtcatgacc 420

cagacccac tgcctctgcc tgtgacccg ggcgagccg cgagcatcag ttgcagatcc 480

tctcagtcca tctgtcactc caacggcaac acgtacctg actggtacct gcagaagccc 540

gggcagtccc cgcaactgct catctacaag gtgagcaacc ggttctccg cgtccccgac 600

cgcttctcag ggtccggctc ggggacggat ttaccctca agattagccg cgtggaggcc 660

gaagacgtcg gcgtgtacta ctgcatgcag ggaagtcacg tgccgcgtac cttcgggggg 720

ggcacgaaag tggaaattaa g 741

<210> 191

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA-1 variant H peptide

<400> 191

Val Leu His Asp Asp Leu Leu Glu Ala

1 5

<210> 192

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P2A self cleaving peptide

<400> 192

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn

1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 193

<211> 608

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA-1H TCR alpha and beta

<400> 193

Met Val Lys Ile Arg Gln Phe Leu Leu Ala Ile Leu Trp Leu Gln Leu
 1 5 10 15

Ser Cys Val Ser Ala Ala Lys Asn Glu Val Glu Gln Ser Pro Gln Asn
 20 25 30

Leu Thr Ala Gln Glu Gly Glu Phe Ile Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Ser
 35 40 45

Val Gly Ile Ser Ala Leu His Trp Leu Gln Gln His Pro Gly Gly Gly
 50 55 60

Ile Val Ser Leu Phe Met Leu Ser Ser Gly Lys Lys Lys His Gly Arg
 65 70 75 80

Leu Ile Ala Thr Ile Asn Ile Gln Glu Lys His Ser Ser Leu His Ile
 85 90 95

Thr Ala Ser His Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Ile Cys Ala Val Arg
 100 105 110

Ser Val Ser Gly Ala Gly Ser Tyr Gln Leu Thr Phe Gly Lys Gly Thr
 115 120 125

Lys Leu Ser Val Ile Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr
 130 135 140

Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr
 145 150 155 160

Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val
 165 170 175

Tyr Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys
 180 185 190

Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala
 195 200 205

Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser

Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu
 465 470 475 480
 Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro
 485 490 495
 Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser
 500 505 510
 Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln
 515 520 525

Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys
 530 535 540
 Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys
 545 550 555 560
 Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile
 565 570 575
 Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val
 580 585 590

Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly
 595 600 605

<210> 194

<211> 1827

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA-1(H) TCR alpha and beta

<400> 194

atggtgaaga tccggcaatt tttgttggt attttgtggc ttcagctaag ctgtgtaagt 60
 gccgcaaaa atgaagtgga gcagagtcct cagaacctga ctgcccagga aggagaattt 120
 atcacaatca actgcagtta ctcggttagga ataagtgcct tacactggct gcaacagcat 180
 ccaggaggag gcattgtttc cttgtttatg ctgagctcag ggaagaagaa gcatggaaga 240

 ttaattgcca caataaacat acaggaaaag cacagctccc tgcacatcac agcctcccat 300
 cccagagact ctgccgtcta catctgtgct gtcagaagcg tgtccggggc cggtcctac 360
 cagctcacct ttgggaaggg gaccaaatta tcagtcattc caaatatcca gaacctgac 420
 cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc 480

gattttgatt ctcaaacaaa tgtgtcacia agtaaggatt ctgatgtgta taccacagac 540
 aaatgtgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtgtt ggcttgagc 600
 aacaaatctg actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc 660

ttcttcccca gccagaaaag ttctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaacaa 720
 gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct cctcctgaaa 780
 gtggccgggt ttaatctgct catgacgtct cggctgtggt ccagcggatc cggagccacc 840
 aacttcagcc tgctgaagca ggccggcgac gtggaggaga acccggccc catgggcacc 900
 agcctcctct gctggatggc cctgtgtctc ctggggcag atcacgcaga tactggagtc 960
 tcccagaacc ccagacacaa gatcacaag aggggacaga atgtaacttt caggtgtgat 1020
 ccaatttctg aacacaaccg cctttattgg taccgacaga ccctggggca ggcccagag 1080

ttctgactt acttccagaa tgaagctcaa ctgaaaaat caaggctgct cagtgatcgg 1140
 ttctctgcag agaggcctaa gggatctttc tccaccttgg agatccagcg cacagagcag 1200
 ggggactcgg ccatgtatct ctgtgccagc agcatcgact ccttcaacga gcagttcttc 1260
 gggccgggca ccaggtcac ggtctctgag gacctgaaaa acgtgttccc acccgagtc 1320
 gctgtgtttg agccatcaga agcagagatc tcccacacc aaaaggccac actggtgtgc 1380
 ctggccacag gcttctacc cgaccactg gagctgagct ggtgggtgaa tgggaaggag 1440
 gtgcacagtg ggtctgcac agaccgcag ccctcaagg agcagcccgc cctcaatgac 1500

tccagatact gcctgagcag ccgctgagg gtgtcgcca cttctggca gaacccccgc 1560
 aaccacttcc gctgtcaagt ccagttctac gggctctcgg agaatgacga gtggaccag 1620
 gatagggcca aacctgtcac ccagatctc agcggcagg cctggggtag agcagactgt 1680
 ggcttacct ccagcttta ccagcaagg gtctgtctg ccaccatcct ctatgagatc 1740
 ttgctaggga aggccactt gtatgccgtg ctggctcagt ccctcgtgct gatggccatg 1800
 gtcaagagaa aggattccag aggctag 1827

<210> 195

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fcr alpha LIR1 HA-1H

<400> 195

Met Val Lys Ile Arg Gln Phe Leu Leu Ala Ile Leu Trp Leu Gln Leu

1 5 10 15

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

ccaggaggag gcattgtttc cttgtttatg ctgagctcag ggaagaagaa gcatggaaga 240
 ttaattgccca caataaacat acaggaaaag cacagctccc tgcacatcac agcctcccat 300
 cccagagact ctgccgtcta catctgtgct gtcagaagcg tgtccggggc cggctcctac 360

cagctcacct ttgggaaggg gaccaaatta tcagtcattc caaatatcca gaacctgac 420
 cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc 480
 gatthtgatt ctcaaacaaa tgtgtcacia agtaaggatt ctgatgtgta tatcacagac 540
 aatgtgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtgt ggccctggagc 600
 aacaaatctg actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc 660
 ttcttcccca gccagaaaag ttctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaacaa 720
 gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gttgtgatcg gcatcttggg gccctcatc 780

ctactgctcc tectectect cctctcttc ctcatctcc gacatcgacg tcagggcaaa 840
 cactggacat cgaccagag aaaggctgat ttccaacatc ctgcaggggc tgtggggcca 900
 gagcccacag acagaggcct gcagtggagg tccagcccag ctgccgatgc ccaggaagaa 960
 aacctctatg ctgccgtgaa gcacacacag cctgaggatg ggggtggagat ggacactcgg 1020
 agcccacacg atgaagacc ccaggcagtg acgtatgccg aggtgaaaca ctccagacct 1080
 aggagagaaa tggcctctcc tcttcccca ctgtctgggg aattcctgga cacaaaggac 1140
 agacagggcg aagaggacag gcagatggac actgaggctg ctgcatctga agccccccag 1200

gatgtgacct acgccagct gcacagcttg accctcagac gggaggcaac tgagcctcct 1260
 ccatcccagg aaggccct 1279

<210> 197

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fcγr beta LIR1 HA-1H

<400> 197

Met Gly Thr Ser Leu Leu Cys Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Arg Gly Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His

35 40 45

Asn Arg Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe
 50 55 60
 Leu Thr Tyr Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu
 65 70 75 80
 Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu
 85 90 95

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

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

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

 Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Arg His Arg Arg Gln

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

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

Thr Glu Ala Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gln Asp Val Thr Tyr Ala Gln
 420 425 430
 Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Glu Ala Thr Glu Pro Pro Pro Ser
 435 440 445
 Gln Glu Gly Pro Ser Pro Ala Val Pro Ser Ile Tyr Ala Thr Leu Ala
 450 455 460

Ile His
 465

<210> 198

<211> 1401

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fcγr beta LIR1 HA-1H

<400> 198

atgggcacca gcctcctctg ctggatggcc ctgtgtctcc tgggggcaga tcacgcagat 60
 actggagtct cccagaacct cagacacaag atcacaaga ggggacagaa tgtaactttc 120
 aggtgtgatc caatttctga acacaaccgc ctttattggt accgacagac cctggggcag 180

ggcccagagt ttctgactta cttccagaat gaagctcaac tagaaaaatc aaggctgctc 240
 agtgatcggg ttctgcaga gaggcctaag ggatctttct ccaccttga gatccagcgc 300
 acagagcagg gggactcggc catgtatctc tgtgccagca gcatcgactc cttcaacgag 360
 cagttcttcg ggccgggcac caggctcacg gtctcgagg acctgaaaaa cgtgttccca 420

cccaggtcgc ctgtgttga gccatcagaa gcagagatct cccacacca aaaggccaca 480
 ctggtgtgcc tggccacagg cttctacccc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
 gggaaggagg tgcacagtgg ggtctgcaca gaccgcgagc ccctcaagga gcagcccgcc 600
 ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgcctgaggg tgtcgccac cttctggcag 660
 aacccccgca accacttccg ctgtcaagtc cagttctacg ggctctcgga gaatgacgag 720
 tggaccagg ataggccaa acctgtcacc cagatcgtca gcgccgagc ctgggtaga 780
 gcagactgtg gcttcacctc cgagtcttac cagcaagggg tctgtctgt tgtgatcggc 840

atcttgggtg ccgtcatcct actgtctctc ctctctctcc tctcttctct catcctccga 900
 catcgacgtc agggcaaaaca ctggacatcg acccagagaa aggctgattt ccaacatcct 960
 gcaggggctg tggggccaga gccacagac agaggcctgc agtggaggtc cagcccagct 1020
 gccgatgcc aggaagaaaa cctctatgct gccgtgaagc acacacagcc tgaggatggg 1080
 gtggagatgg aactcggag cccacacgat gaagaccccc aggcagtgac gtatgccgag 1140
 gtgaaacact ccagacctag gagagaaatg gcctctctc cttcccact gtctggggaa 1200
 ttcttgaca caaaggacag acaggcggaa gaggacaggc agatggacac tgaggctgct 1260

gcactgaag cccccagga tgtgacctac gccagctgc acagcttgac cctcagacgg 1320
 gaggcaactg agcctctctc atcccaggaa ggccctctc cagctgtgcc cagcatctac 1380
 gccactctgg ccatccacta g 1401

<210> 199

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA-1H TCR alpha

<400> 199

Met Val Lys Ile Arg Gln Phe Leu Leu Ala Ile Leu Trp Leu Gln Leu

1 5 10 15

Ser Cys Val Ser Ala Ala Lys Asn Glu Val Glu Gln Ser Pro Gln Asn

20

25

30

Leu Thr Ala Gln Glu Gly Glu Phe Ile Thr Ile Asn Cys Ser Tyr Ser
 35 40 45
 Val Gly Ile Ser Ala Leu His Trp Leu Gln Gln His Pro Gly Gly Gly
 50 55 60
 Ile Val Ser Leu Phe Met Leu Ser Ser Gly Lys Lys Lys His Gly Arg
 65 70 75 80
 Leu Ile Ala Thr Ile Asn Ile Gln Glu Lys His Ser Ser Leu His Ile
 85 90 95
 Thr Ala Ser His Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Ile Cys Ala Val Arg
 100 105 110
 Ser Val Ser Gly Ala Gly Ser Tyr Gln Leu Thr Phe Gly Lys Gly Thr
 115 120 125
 Lys Leu Ser Val Ile Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr
 130 135 140
 Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr
 145 150 155 160
 Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val
 165 170 175
 Tyr Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys
 180 185 190
 Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala
 195 200 205
 Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser
 210 215 220
 Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr
 225 230 235 240
 Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser
 245 250
 <210> 200
 <211> 276
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> HA-1H TCR beta

<400> 200

Met Gly Thr Ser Leu Leu Cys Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala
 1 5 10 15

Asp His Ala Asp Thr Gly Val Ser Gln Asn Pro Arg His Lys Ile Thr
 20 25 30

Lys Arg Gly Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His
 35 40 45

Asn Arg Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe
 50 55 60

Leu Thr Tyr Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu
 65 70 75 80

Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu
 85 90 95

Glu Ile Gln Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala
 100 105 110

Ser Ser Ile Asp Ser Phe Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg
 115 120 125

Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala
 130 135 140

Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr
 145 150 155 160

Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser
 165 170 175

Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro
 180 185 190

Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu
 195 200 205

Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn
 210 215 220

His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu

atgggcacca gcctcctctg ctggatggcc ctgtgtctcc tgggggcaga tcacgcagat 60
 actggagtct cccagaacct cagacacaag atcacaaga ggggacagaa tgtaactttc 120
 aggtgtgata caatttctga acacaaccgc ctttattggt accgacagac cctggggcag 180
 ggcccagagt ttctgactta cttccagaat gaagctcaac tagaaaaatc aaggctgctc 240
 agtgatcggg tctctgcaga gaggcctaag ggatctttct ccaccttga gatccagcgc 300

acagagcagg gggactcggc catgtatctc tgtgccagca gcatcgactc cttcaacgag 360
 cagttctctg ggccgggcac caggctcacg gtctctgagg acctgaaaaa cgtgttccca 420
 cccgaggtcg ctgtgtttga gccatcagaa gcagagatct cccacacca aaaggccaca 480
 ctggtgtgcc tggccacagg cttctacccc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
 gggaaggagg tgcacagtgg ggtctgcaca gacccgcagc ccctcaagga gcagcccgcc 600
 ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgcctgaggg tgtcgccac cttctggcag 660
 aacccccgca accacttccg ctgtcaagtc cagttctac ggctctcgga gaatgacgag 720

tggaccagg ataggccaa acctgtcacc cagatcgtca gcgccgagc ctggggtaga 780
 gcagactgtg gcttcacctc cgagtcttac cagcaagggg tctgtct 828

<210> 203

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NY-ESO CDR

<400> 203

Cys Ala Ser Ser Leu Gly Leu Gly Tyr Glu Gln Tyr Phe

1 5 10

<210> 204

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NY-ESO CDR

<400> 204

Cys Ala Ser Ser Leu Gly Gly Pro Arg Gly Leu Ala Gly Leu Arg Gly

1 5 10 15

Asp Glu Gln Phe

20

<210> 205

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NY-ESO CDR

<400> 205

Cys Ala Ser Ser Leu Arg Arg Asp Asn Glu Gln Phe

1 5 10

<210> 206

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 CDR

<400> 206

Cys Ala Ser Ser Leu Glu Val Leu Leu Gly Ala Asp Phe Pro Asp Thr

1 5 10 15

Gln Tyr Phe

<210> 207

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 CDR

<400> 207

Cys Ala Ser Ser Phe Pro Ala Gly His Gly Ala Asp Leu Asp Asn Glu

1 5 10 15

Gln Phe

<210> 208

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 CDR

<400> 208

Cys Ala Ser Ser Glu Ile Thr Gly Arg Ile Gly Glu Gln Phe

1 5 10

<

<210> 209

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 CDR

<400> 209

Cys Ala Ser Ser Leu Gly Gly Asp Glu Leu Gly Ala Asp Gly Asn Glu

1 5 10 15

Gln Phe

<210> 210

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NY-ESO-1 ScFv

<400> 210

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Val Gln Leu
 115 120 125
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
 130 135 140
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Tyr Asp Tyr Met Ser Trp Val
 145 150 155 160
 Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser
 165 170 175
 Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 180 185 190
 Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 195 200 205
 Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Ser Tyr Tyr
 210 215 220
 Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 225 230 235 240
 Ser

<210> 211

<211> 723

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> NY-ESO-1 ScFv

<400> 211

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtc gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctctcac tttcggcggc 300
 ggaacaaagg tggagatcaa gggcggaggt ggaagcggag ggggaggatc tggcggcgga 360
 ggaagcggag gcgaagtgca gctgttgaa agcggcggag gcctggtgca gcctggcggc 420
 agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttaccgtgt acgactacat gagctgggtc 480

cgccaggccc ctggcaaggg actggaatgg gtgtccgtga tctacagcgg cggcagcacc 540
tactacgccg acagcgtgaa gggctgattc accatcagcc gggacaacag caagaacacc 600

ctgtacctgc agatgaacag cctgcggggc gaggacaccg ccgtgtatta ctgtgcgagg 660
tactcctact actactacta catggacgtc tggggcaaag ggaccacggt caccgtgtcc 720
tca 723

<210> 212
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MAGE-A3 antigen binding domain
<400> 212

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Asp
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30
Asn Trp Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Val Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ile Pro Phe Gly Asp Trp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
130 135 140
Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
 165 170 175
 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
 180 185 190
 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 195 200 205
 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 210 215 220
 Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Phe Val Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys

<210> 213

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 antigen binding domain

<400> 213

caggtgcagc tgcaggaaag cggccctggc ctggtgaaac ccagcgacac cctgagcctg 60

acctgcgccc tgtccggcta cagcatcagc agcagcaatt ggtggggctg gatcagacag 120

ccccctggca agggcctgga atggatcggc tacatctact acagcggcag cacctactac 180

aaccccagcc tgaagtccag agtgaccatg agcgtggaca ccagcaagaa ccagttcagc 240

ctgaagctga gcagcgtgac cgccgtgat accgctgtgt attactgtgc gagaatacc 300

tttggggatt ggtggtactt cgatctctgg ggcgctggca ccctggtcac tgtgtcctca 360

ggcggagggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgacatccag 420

atgaccacaga gccccagcag cctgagcggc agcgtgggcg acagagtgac catcacctgt 480

cgggccagcc agtcgatcag cagctacctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc 540

ccaagctgc tgatctacgc cgccagctcc ctgcagagcg gcgtgccaag cagattcagc 600

ggcagcggct ccggcaccga cttcaccttg accatcagca gcctgcagcc cgaggacttc 660

gccacctact actgccagca gagttacagt ttcgttctca ctttcggcgg agggaccaag 720

gtggagatca aa 732

<210> 214

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 antigen binding domain

<400> 214

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
 20 25 30

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

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Asp Leu Tyr Ser Ser Ser Trp Tyr Cys Asp Ala Phe Asp Ile
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met
 130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
 145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr
 165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
 180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
 210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Trp Ala Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly
 225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 215

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 antigen binding domain

<400> 215

caggtgcagc tggatgcagtc tggcggcga gtgaagaaac ctggcgcctc cgtgaaggtg 60

tcttcaagg tgcgggcta caccctgacc gagctgtcga tgcaactgggt cggccaggca 120

cctggcaagg gactggaatg gatggcgccg tttgaccccg aggacggcga gacaatctac 180

gcccagaaat tccagggcag agtgaccatg accgaggaca ccagcaccga caccgcctac 240

atggaactga gcagcctcgg gagcaggac accgctgtgt attactgtgc aacagatctg 300

tatagcagca gctggctactg tgatgctttt gatatctggg gccaaaggac aatggtcacc 360

gtgtcctcag gcggaggtgg aagcggaggg ggaggatctg gcggcggagg aagcggagge 420

gacatccaga tgaccagag ccccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca cagagtgacc 480

atcacctgtc gggccagcca gtcgatcagc agctacctga actggtatca gcagaagccc 540

ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgcc gccagctccc tgcaagcgg cgtgccaagc 600

agattcagcg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagccc 660

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag agttgggcca gcaccctct cactttcggc 720

ggagggacca aggtggagat caaa 744

<210> 216

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HPV E6 antigen binding domain

<400> 216

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

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

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

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

 195 200 205
 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 210 215 220
 Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr
 225 230 235 240
 Lys Val Glu Ile Lys
 245
 <210> 217

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HPV E6 antigen binding domain

<400> 217

```

gaagtgcagc tgggtgaaag cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg      60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctactgga tgactgggt cgccaggcc      120
cctggcaagg gactggtctg ggtgtctcga atcaacagcg acggcagcag caccagctac      180
gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acgccaagaa caccctgtac      240
ctgcagatga acagcctcgc ggccgaggac accgccgtgt attactgtgc cagggagaac      300
ggcgtggtga agtggctact cgacctgtgg ggcctggca ccctggtcac tgtgtcctca      360
ggcggagggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgacatccag      420
atgaccaga gccccagcag cctgagcgcc agcgtgggcg acagagtgc catcacctgt      480

cgggccagcc agtcgatcag cagctacctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc      540
ccaagctgc tgatctacgc gccagctcc ctgcagagcg gcgtccaag cagattcagc      600
ggcagcggtc ccggcaccga cttcacctg accatcagca gcctgcagcc cgaggacttc      660
gccactact actgccagca gagttacagt acccctctct ttccttcgg cggagggacc      720
aaggtggaga tcaaa      735
    
```

<210> 218

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HPV E6 antigen binding domain

<400> 218

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

```

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


agctgcgccg ccagcgctt cacctttgac gactacgcca tgactgggt cgccaggcc 120
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgc atcagctgga acagcggcag catcggtac 180
 gccgacacgc tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240
 ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccttgt attactgtgc caaggacggc 300
 aggggtccc cttctacgg cggcgccttc gacatctggg gccaaaggac aatggtcacc 360
 gtgtcctcag gcggaggtgg aagcggaggg ggaggatctg gcggcggagg aagcggaggc 420

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 480
 atcaacttgc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 540
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 600
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 660
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctctcac tttcggcggc 720
 ggaacaaagg tggagatcaa g 741

<210> 220

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HPV E7 antigen binding domain

<400> 220

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

Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

180 185 190

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

195 200 205

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

210 215 220

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

225 230 235 240

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245 250

<210> 221

<211> 753

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> HPV E7 antigen binding domain

<400> 221

gaagtgcagc tgggtgaaag cggcggaggc ctggtgaaac ctggcggcag cctgagactg 60

agctgcgccg ccagcggctt caccttctcg aacgcctgga tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtcggacgg atcaagagca agaccgacgg cggcaccacc 180

gactacgctg cccccgtgaa gggccgggtt accatcagcc gggacgacag caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtatta ctgtaccacc 300

tcctacgatt accttctcaa tccttatcgt tggaaactggt tcgacccctg gggccaggga 360

accctggtca ccgtgtcctc aggcggagggt ggaagcggag ggggaggatc tggcggcgga 420

ggaagcggcg gagacatcca gatgaccag tctccatcct ccctgtctgc atctgtagga 480
gacagagtca ccatcacttg ccgggcaagt cagagcatta gcagctatTT aaattggtat 540
cagcagaaac cagggaaagc ccctaagctc ctgatctatg ctgcatccag ttTgcaaagt 600
ggggtcccat caagttcag tggcagtTga tctgggacag attTactct caccatcagc 660
agtctgcaac ctgaagattt Tgcaacttac tactgtcaac agagttacag taccctctc 720
actttcggcg gcggaacaaa ggtggagatc aag 753

<210> 222

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 antigen binding domain

<400> 222

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Met Asp Thr Phe Ser Met Val Thr Leu Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln
 165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser
 180 185 190

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
 210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly
 225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 223

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MAGE-A3 antigen binding domain

<400> 223

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ccggcagcag cgtgaaggtg 60
 tcctgcaagg ccagcggcgg caccttcagc agctacgcca tcagctgggt cgccaggct 120
 cctggacagg gactggaatg gatggcgggc atcatcccca tcttcggcac cgccaactac 180
 gccagaaat tccagggcag agtgaccatc accgccgacg agagcaccag caccgcctac 240
 atggaactga gcagccttcg aagcgaggac accgctgtgt attactgtgc cagggacatg 300

 gacaccttct ccatggtgac cctgttcgac tactggggcc agggcacctt ggtcaccgtg 360
 tcctcaggcg gaggtggaag cggaggggga ggatctggcg gcggaggaag cggaggcgcg 420
 atccagatga ccagagccc cagcagcctg agcgcagcag tgggacgacag agtgaccatc 480
 acctgtcggg ccagccagtc gatcagcagc tacctgaact ggtatcagca gaagcccggc 540
 aaggccccca agctgctgat ctacccgcc agtcacctgc agagcggcgt gccaaagcaga 600
 ttcagcggca gcggctccgg caccgacttc acctgacca tcagcagcct gcagcccag 660
 gacttcgcca cctactactg ccagcagagt tacagttggc ctctcacttt cggcggaggg 720

 accaaggtgg agatcaaa 738

<210> 224

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS G12V antigen binding domain

<400> 224

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

 20 25 30

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

 35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser

 50 55 60

Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

 85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Glu Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser

 130 135 140

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Trp Thr Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln

 165 170 175

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

 180 185 190

Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

 195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
 210 215 220

Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr

225 230 235 240

Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 225

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS G12V antigen binding domain

<400> 225

caggtcacac ttagagagtc cggccctgcc ctggtgaaac ccaccagac cctgaccctg 60

acatgcacct tcagcggctt cagcctgagc accagcggga tgtgcgtgtc ctggattcga 120

cagccccctg gcaaggcctt ggaatggctg gcctgattg actgggacga cgacaagtac 180

tacagcacca gcctgaaaac ccggctgacc atcagcaagg acaccagcaa gaaccaggtg 240

gtgctgacca tgaccaacat ggaccccctg gacaccgcca cgtattactg tgcaaggagt 300

tacgacgagc tctactactt tgactactgg ggccaggga ccctggtcac cgtgtcctca 360

ggcggagggt gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgacatccag 420

atgaccacga gcccagctc cctctctgca tctgtggcg acagagtac catcacctgt 480

cgggccagcc agtcgatctg gaccagctac ctgaactggt atcagcagaa gcccggcaag 540

gcccccaagc tgetgatcta cgccgccagc tcctgcaga gcggcgtgcc aagcagattc 600

agcggcagcg gctccggcac cgacttcacc ctgacatca gcagcctgca gcccaggac 660

ttcgccacct actactgcca gcagagttac agtaccctc tcactttcgg cggagggacc 720

aaggtggaga tcaaa 735

<210> 226

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker

<400> 226

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5
<210> 227
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> linker
<400> 227

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10
<210> 228

<211> 15
<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker

<400> 228

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

1 5 10 15
<210> 229

<211> 15
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker

<400> 229

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

1 5 10 15
<210> 230

<211> 20
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker

<400>

> 230

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 231

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker

<400> 231

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 232

<211> 247

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS ScFv

<400> 232

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Phe Thr Arg Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val

100 105 110

Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met

130

135

140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr

145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr

165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser

180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala

210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly

225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 233

<211> 741

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS ScFv

<400> 233

caggtgcagc tggtggaag cggcggaggc ctggtgaaac ctggcggcag cctgagactg 60

agctgcgccg ccagcggctt caccttcagc gactactaca tgagctggat cagacaggcc 120

cttgcaagg gactggaatg ggtgtcctac atcagcagca gcggctcgac catctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctcgc ggccgaggac accgccgtgt attactgtgc cagggacttc 300

accagggact actactacta ctactacatg gacgtgtggg gcaaaggac cacggtcacc 360

gtgtcctcag gcggaggtgg aagcggaggg ggaggatctg gcggcggagg aagcggaggc 420

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 480

ataccttgcc gggcaagtca gacattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 540

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 600

aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 660
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctctcac tttcggcggc 720
 ggaacaaagg tggagatcaa g 741

<210> 234

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS ScFv

<400> 234

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

Gly Met Cys Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser
 50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Glu Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 130 135 140

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
 165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln

180 185 190
 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 195 200 205

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 210 215 220
 Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys

<210> 235

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS ScFv

<400> 235

caggtcacac tgagagagtc cggccctgcc ctggtgaaac ccaccagac cctgaccctg 60

acatgcacct tcagcggett cagcctgagc accagcggga tgtgcgtgtc ctggattcga 120

cagccccctg gcaaggcctt ggaatggctg gcctgattg actgggacga cgacaagtac 180

tacagacca gcctgaaaac ccggtgacc atcagcaagg acaccagcaa gaaccaggtg 240

gtgtgacca tgaccaacat ggacccctg gacaccgcca cgtattactg tgcacggagt 300

tacgacgagc tctactactt tgaactactg ggccaggaa ccctggtcac cgtgtcctca 360

ggcggagggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgacatccag 420

atgaccagct ctccatctc cctgtctgca tctgtaggag acagagtcac catcacttgc 480

cgggcaagtc agagcattag cagctattta aattggtatc agcagaaacc agggaaagcc 540

cctaagctcc tgatctatgc tgcattcagt ttgcaaagtg gggcccacc aaggttcagt 600

ggcagtggtt ctgggacaga tttcactctc accatcagca gtctgcaacc tgaagatctt 660

gcaacttact actgtcaaca gagttacagt acccctctca ctttcggcgg cggaaacaag 720

gtggagatca ag 732

<210> 236

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS ScFv

<400> 236

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

Gly Met Cys Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser
 50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Glu Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 130 135 140

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Trp Thr Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln
 165 170 175

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu
 180 185 190

Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
 210 215 220

Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr

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

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

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

 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 210 215 220
 Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Arg Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys

<210> 239

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS ScFv

<400> 239

caggtcacac tgagagagtc cggccctgcc ctggtgaaac ccaccagac cctgaccctg 60
 acatgcacct tcagcggtt cagcctgagc accagcggga tgtgcgtgtc ctggattcga 120

cagccccctg gcaaggccct ggaatggctg gccctgattg actgggacga cgacaagtac 180
 tacagacca gectgaaaac ccggetgacc atcagcaagg acaccagcaa gaaccaggtg 240
 gtgtgacca tgaccaacat ggacccccgtg gacaccgcca cgtattactg tgcacggagt 300
 tacgacgagc tctactactt tgactactgg ggccaggga ccctggtcac cgtgtcctca 360
 ggccggaggtg gaagcggagg gggaggatct ggcggcggag gaagcggagg cgacatccag 420
 atgaccaga gccccagctc cctctctgca tctgtggcg acagagtgac catcacctgt 480
 cgggccagcc agtcgatcag cagctacctg aactggtatc agcagaagcc cggcaaggcc 540

cccaagctgc tgatctacgc cgccagctcc ctgcagagcg gcgtccaag cagattcagc 600
 ggccagcggt ccggcaccga cttcacctg accatcagca gcctgcagcc cgaggacttc 660
 gccactact actgccagca gagttacagt acccggetca ctttcggcgg agggaccaag 720
 gtggagatca aa 732

<210> 240

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS TCR alpha

<400> 240

Met Gln Arg Asn Leu Gly Ala Val Leu Gly Ile Leu Trp Val Gln Ile
 1 5 10 15

Cys Trp Val Arg Gly Asp Gln Val Glu Gln Ser Pro Ser Ala Leu Ser
 20 25 30

Leu His Glu Gly Thr Asp Ser Ala Leu Arg Cys Asn Phe Thr Thr Thr
 35 40 45

Met Arg Ser Val Gln Trp Phe Arg Gln Asn Ser Arg Gly Ser Leu Ile
 50 55 60

Ser Leu Phe Tyr Leu Ala Ser Gly Thr Lys Glu Asn Gly Arg Leu Lys
 65 70 75 80

tcagcatttg attctaagga gcggcgctac agcaccctgc acatcagga tgcccagctg 300
 gaggactcag gcacttactt ctgtgctgct gactcttcga acacgggtta ccagaacttc 360
 tattttggga aaggaacaag tttgactgtc attccaaaca tccagaaccc agaacctgct 420
 gtgtaccagt taaaagatcc tcggctcag gacagcacc tctgctgtt caccgacttt 480
 gactccaaa tcaatgtgcc gaaaaccatg gaatctggaa cgttcatcac tgacaaatgt 540

gtgctggaca tgaagctat ggattccaag agcaatgggg ccattgcctg gagcaaccag 600
 acaagcttca cctgccaaga tatcttcaa gagaccaacg ccacctacc cagttcagac 660
 gttccctgtg atgccacgtt gaccgagaaa agctttgaaa cagatatgaa cctgaacttt 720
 caaacctgt ct 732

<210> 242

<211> 283

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS TCR beta

<400> 242

Met Ser Asn Thr Ala Phe Pro Asp Pro Ala Trp Asn Thr Thr Leu Leu

1 5 10 15

Ser Trp Val Ala Leu Phe Leu Leu Gly Thr Ser Ser Ala Asn Ser Gly

20 25 30

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

35 40 45

Ile Leu Lys Cys Ile Pro Ile Ser Gly His Leu Ser Val Ala Trp Tyr

50 55 60

Gln Gln Thr Gln Gly Gln Glu Leu Lys Phe Phe Ile Gln His Tyr Asp

65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Phe Asp Asp Tyr His Ser Glu Met Asn Met Ser Ala Leu Glu Leu

100 105 110

Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Leu Thr Asp Pro Leu

115 120 125

Asp Ser Asp Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Leu Val Ile Glu

gccagctctc tcacagatcc gctagactcc gactacacct tcggctcagg gaccaggctt 420
 ttggtaatag aggatctgag aaatgtgact ccaccaagg tctccttggt tgagccatca 480
 aaagcagaga ttgcaaaca acaaaaggct accctcgtgt gcttggccag gggcttcttc 540
 cctgaccacg tggagctgag ctggigggtg aatggcaagg aggtccacag tggggtctgc 600
 acggaccctc aggcctaca ggagagcaat tatagctact gcctgagcag cgcctgagg 660
 gtctctgcta cttctggca caatcctcgc aaccattcc gctgccaagt gcagttccat 720

 gggctttcag aggaggacaa gtggccagag ggctcaccca aacctgtcac acagaacatc 780
 agtgcagagg cctggggccg agcagactgt gggattacct cagcctccta tcaacaaggg 840
 gtcttgtct 849

<210> 244

<211> 283

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS TCR beta

<400> 244

Met Ser Asn Thr Ala Phe Pro Asp Pro Ala Trp Asn Thr Thr Leu Leu
 1 5 10 15
 Ser Trp Val Ala Leu Phe Leu Leu Gly Thr Ser Ser Ala Asn Ser Gly

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

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

130 135 140
 Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser

145 150 155 160
 Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala

165 170 175
 Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly

180 185 190
 Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu

195 200 205
 Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr

210 215 220
 Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His

225 230 235 240
 Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val

245 250 255
 Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile

260 265 270
 Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser

275 280

<210> 245

<211> 849

<212> DNA

<213> KRAS TCR beta

<400> 245

atgtetaaca ctgccttccc tgaccccgcc tggaacacca cctgctatc ttgggttget 60

ctctttctcc tggaacaag ttcagcaaat tctggggttg tccagtctcc aagatacata 120

atcaaaggaa agggagaaag gtccattcta aaatgtattc ccattctctgg acattctctt 180

gtggcctggt atcaacagac tcagggcag gaactaaagt tcttcattca gcattatgat 240

aaaatggaga gagataaagg aaacctgccc agcagattct cagtccaaca gtttgatgac 300

tatcactctg agatgaacat gagtgccttg gagctagagg actctgccgt gtacttctgt 360

gccagctctc tcacagatcc gctagactcc gactacacct tcggctcagg gaccaggctt 420

ttggaatag aggatctgag aaatgtgact ccaccaagg tctccttgtt tgagccatca 480
 aaagcagaga ttgcaaaca acaaaaggct accctcgtgt gcttggccag gggcttcttc 540
 cctgaccacg tggagctgag ctggtgggtg aatggcaagg aggtccacag tggggtctgc 600
 acggaccctc aggcctacaa ggagagcaat tatagctact gcctgagcag cgcctgagg 660
 gtctctgcta ccttctggca caatctcgc aaccattcc gctgccaagt gcagttccat 720
 gggctttcag aggaggacaa gtggccagag ggctcaccca aacctgtcac acagaacatc 780

agtgcagagg cctggggccg agcagactgt gggattacct cagcatccta tcaacaaggg 840
 gtcttgtct 849

<210> 246
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> KRAS TCRA

<400> 246
 Met Lys Thr Val Thr Gly Pro Leu Phe Leu Cys Phe Trp Leu Gln Leu
 1 5 10 15
 Asn Cys Val Ser Arg Gly Glu Gln Val Glu Gln Arg Pro Pro His Leu
 20 25 30

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

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

Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu
 145 150 155 160

Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser
 165 170 175

Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp
 180 185 190

Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr
 195 200 205

Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp
 210 215 220

Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met
 225 230 235 240

Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser
 245

<210> 247

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS TCRA

<400> 247

atgaagacgg tgactggacc tttgttctctg tgcttctggc tgcagctgaa ctgtgtgagc 60

agaggcgagc aggtggagca ggcacctcct cacctgagtg tccgggaggg agacagtgcc 120

gttatcacct gcacctacac agacctaac agttattact tcttctggta caagcaagag 180

ccgggggcaa gtcttcagtt gcttatgaag gttttctcaa gtacggaaat aaacgaagga 240

caaggattca ctgtcctact gaacaagaaa gacaaacgac tctctctgaa cctcacagct 300

gcccatcctg gggactcagc cgcgtacttc tgcgcagtca gtggaggagc taacagtgca 360

gggaacaagc taacttttgg aattggaacc aggtgtctgg tcaggccaga catccagaac 420

ccagaacctg ctgtgtacca gttaaagat cctcggcttc aggacagcac cctctgcctg 480

ttcaccgact ttgactccca aatcaatgtg ccgaaaacca tggaatctgg aacgttcac 540

actgacaaat gtgtgctgga catgaaagct atggattcca agagcaatgg ggccattgcc 600

tggagcaacc agacaagctt cacctgcca gatatttca aagagaccaa cgccacctac 660

cccagttcag acgttcctg tgatgccacg ttgaccgaga aaagctttga aacagatatg 720
aacctgaact ttcaaaacct gtct 744

<210> 248
<211> 272
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> KRAS TCRb
<400> 248

Met Gly Cys Arg Leu Leu Ser Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ile
1 5 10 15
Gly Pro Leu Glu Thr Ala Val Phe Gln Thr Pro Asn Tyr His Val Thr
20 25 30
Gln Val Gly Asn Glu Val Ser Phe Asn Cys Lys Gln Thr Leu Gly His
35 40 45
Asp Thr Met Tyr Trp Tyr Lys Gln Asp Ser Lys Lys Leu Leu Lys Ile
50 55 60
Met Phe Ser Tyr Asn Asn Lys Gln Leu Ile Val Asn Glu Thr Val Pro
65 70 75 80
Arg Arg Phe Ser Pro Gln Ser Ser Asp Lys Ala His Leu Asn Leu Arg
85 90 95
Ile Lys Ser Val Glu Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser
100 105 110
Ser Arg Asp Trp Gly Pro Ala Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg
115 120 125
Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser
130 135 140
Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr
145 150 155 160
Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser
165 170 175
Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro
180 185 190

Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
 195 200 205

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

<210> 249

<211> 816

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS TCRb

<400> 249

atgggctgta ggctcctaag ctgtgtggcc ttctgcctct tgggaatagg ccctttggag 60
 acagctgttt tccagactcc aaactatcat gtcacacagg tgggaaatga agtgtctttc 120
 aattgtaagc aaactctggg ccacgatact atgtattggt acaagcaaga ctctaagaaa 180
 ttgctgaaga ttatgtttag ctacaataat aagcaactca ttgtaaacga aacagttcca 240
 aggcgcttct cacctcagtc ttacagataa gctcatttga atcttcgaat caagtctgta 300
 gagccggagg actctgctgt gtatctctgt gccagcagtc gggactgggg gcctgctgag 360
 cagttctctg gaccaggac acgactcacc gtctagagg atctgagaaa tgtgactcca 420

 cccaaggtct cttgtttga gccatcaaaa gcagagattg caaacaaca aaaggtacc 480
 ctctgtgct tggccagggg cttcttccct gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
 ggcaaggagg tccacagtgg ggtctgcacg gaccctcagg cctacaagga gagcaattat 600
 agctactgcc tgagcagccg cctgagggtc tctgctacct tctggcaca tctcgaaac 660
 cacttccgct gccaagtca gttccatggg ctttcagagg aggacaagtg gccagagggc 720
 tcacccaac ctgtcacaca gaacatcagt gcagagcct ggggccgagc agactgtgga 780
 atcacttcag catcctatca tcagggggtt ctgtct 816

<210> 250

<211> 272

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS TCRb

<400> 250

Met Gly Cys Arg Leu Leu Ser Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ile
1 5 10 15

Gly Pro Leu Glu Thr Ala Val Phe Gln Thr Pro Asn Tyr His Val Thr
 20 25 30

Gln Val Gly Asn Glu Val Ser Phe Asn Cys Lys Gln Thr Leu Gly His
 35 40 45

Asp Thr Met Tyr Trp Tyr Lys Gln Asp Ser Lys Lys Leu Leu Lys Ile

50 55 60

Met Phe Ser Tyr Asn Asn Lys Gln Leu Ile Val Asn Glu Thr Val Pro
65 70 75 80

Arg Arg Phe Ser Pro Gln Ser Ser Asp Lys Ala His Leu Asn Leu Arg
 85 90 95

Ile Lys Ser Val Glu Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser
 100 105 110

Ser Arg Asp Trp Gly Pro Ala Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg

115 120 125

Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser
130 135 140

Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr
145 150 155 160

Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser
 165 170 175

Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro

180 185 190

Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
195 200 205

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys

<400> 252

Met Gln Arg Asn Leu Gly Ala Val Leu Gly Ile Leu Trp Val Gln Ile
 1 5 10 15

Cys Trp Val Arg Gly Asp Gln Val Glu Gln Ser Pro Ser Ala Leu Ser
 20 25 30

Leu His Glu Gly Thr Asp Ser Ala Leu Arg Cys Asn Phe Thr Thr Thr
 35 40 45

Met Arg Ser Val Gln Trp Phe Arg Gln Asn Ser Arg Gly Ser Leu Ile
 50 55 60

Ser Leu Phe Tyr Leu Ala Ser Gly Thr Lys Glu Asn Gly Arg Leu Lys
 65 70 75 80

Ser Ala Phe Asp Ser Lys Glu Arg Arg Tyr Ser Thr Leu His Ile Arg
 85 90 95

Asp Ala Gln Leu Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Phe Cys Ala Ala Asp Ser
 100 105 110

Ser Asn Thr Gly Tyr Gln Asn Phe Tyr Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu
 115 120 125

Thr Val Ile Pro Asn Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu
 130 135 140

Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe
 145 150 155 160

Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile
 165 170 175

Thr Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn
 180 185 190

Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile
 195 200 205

Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp
 210 215 220

Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe
 225 230 235 240

Gln Asn Leu Ser

<210> 253

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TCRA control

<400> 253

```

atgcagagga acctgggagc tgtgctgggg attctgtggg tgcagatttg ctgggtgaga      60
gggatcagg tggagcagag tccttcagcc ctgagcctcc acgaggaac cgattctgct      120

ctgagatgca attttacgac caccatgagg agtgtgcagt ggttccgaca gaattccagg      180
ggcagcctca tcagtttgtt ctacttggct tcaggaacaa aggagaatgg gaggctaaag      240
tcagcatttg attctaagga gcggcgctac agcacctgc acatcagga tgcccagctg      300
gaggactcag gcaattactt ctgtgctgct gactcttga acacgggtta ccagaacttc      360
tattttggga aaggaacaag ttgactgtc attccaaca tccagaacce agaacctgct      420
gigtaccagt taaaagatcc tcggtctcag gacagcacc tctgcctgtt caccgacttt      480
gactccaaa tcaatgtgcc gaaaacatg gaatctggaa cgttcatcac tgacaaatgt      540

gtgctggaca tgaagctat ggattccaag agcaatgggg ccatgcctg gagcaaccag      600
acaagcttca cctgccaaga tatcttcaaa gagaccaacg ccacctacc cagttcagac      660
gttcctgtg atgccacgtt gaccgagaaa agctttgaaa cagatatgaa cctgaacttt      720
caaacctgt ct                                                    732
    
```

<210> 254

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TCRA control

<400> 254

Met Lys Thr Val Thr Gly Pro Leu Phe Leu Cys Phe Trp Leu Gln Leu

1 5 10 15

Asn Cys Val Ser Arg Gly Glu Gln Val Glu Gln Arg Pro Pro His Leu

20 25 30

Ser Val Arg Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Thr Cys Thr Tyr Thr Asp

<400> 255

atgaagacgg tgactggacc ttgttctctg tgcttctggc tgcagctgaa ctgtgtgagc 60

agaggcgagc aggtggagca ggccectect cacctgagtg tccgggaggg agacagtgcc 120

gttatcacct gcacctacac agaccctaac agttattact tcttctggta caagcaagag 180

ccgggggcaa gtcttcagtt gcttatgaag gttttctcaa gtacggaaat aaacgaagga 240

caaggattca ctgtcctact gaacaagaaa gacaaacgac tctctctgaa cctcacagct 300

gccccatctg gggactcagc cgcgtacttc tgcgcagtca gtggaggagc taacagtgca 360

gggaacaagc taacttttgg aattggaacc aggggtgctgg tcaggccaga catccagaac 420

ccagaacctg ctgtgtacca gttaaaagat cctcggcttc aggacagcac cctctgctg 480

ttcaccgact ttgactccca aatcaatgtg cggaaaacca tggaatctgg aacgttcac 540

actgacaaat gtgtgctgga catgaaagct atggattcca agagcaatgg ggccattgcc 600

tggagcaacc agacaagctt cacctgcca gatatttca aagagaccaa cgccacctac 660

cccagttcag acgttcctg tgatgccacg ttgaccgaga aaagctttga aacagatatg 720

aacctgaact ttcaaaacct gtct 744

<210> 256

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mH-Y-2Db peptide

<400> 256

Lys Cys Ser Arg Asn Arg Gln Tyr Leu

1 5

<210> 257

<211> 614

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H-Y TCR alpha and beta

<400> 257

Met Phe Pro Val Thr Ile Leu Leu Leu Ser Ala Phe Phe Ser Leu Arg

1 5 10 15

Gly Asn Ser Ala Gln Ser Val Asp Gln Pro Asp Ala His Val Thr Leu

20 25 30

Ser Glu Gly Ala Ser Leu Glu Leu Arg Cys Ser Tyr Ser Tyr Ser Ala
 35 40 45

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

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

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

 Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu
 245 250 255
 Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser
 260 265 270
 Ser Arg Ala Lys Arg Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu

Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp
 530 535 540

Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala
 545 550 555 560

Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr His
 565 570 575

Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys
 580 585 590

Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Gly Leu Val Leu Met Ala Met
 595 600 605

Val Lys Lys Lys Asn Ser
 610

<210> 258

<211> 1845

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> H-Y TCR alpha and beta

<400> 258

atgttccccg ttaccatatt gtcctgagt gctttcttca gtttgcgagg gaactctgcc 60
 caatctgtcg atcagccaga tgcacacggt accctttccg aggggtgcgtc acttgaactg 120
 aggtgttctc atagctactc agcagcccct tatctgtttt ggtacgtaca ataccaggg 180
 cagagtctcc aattttctct taaatatata accggggaca ctgtagtgaa ggggactaaa 240
 ggttttgaag cagagtttag gaagagcaac agctccttca accttaagaa gtcacccgca 300
 cactggctcag actccgcgaa atacttctgt gctctggaag ggcaagacca ggtggaagt 360
 gccaaattga tatttgggtga ggttactaaa ttgactgtta gctcaccaga catccagaac 420

ccagaacctg ctgtgtacca gttaaagat cctcggcttc aggacagcac cctctgcctg 480
 ttaccgact ttgactccca aatcaatgtg ccgaaaacca tggaaatctgg aacgttcac 540
 actgacaaaa ctgtgctgga catgaaagct atggattcca agagcaatgg ggccattgcc 600
 tggagcaacc agacaagctt cacctgcca gatatcttca aagagaccaa cgccacctac 660
 cccagttcag acgttccctg tgatgccagc ttgaccgaga aaagctttga aacagatatg 720
 aacctaaact ttcaaaacct gtcagttatg ggactccgaa tcctctgct gaaagtagcg 780

ggatttaacc tgctcatgac gctgaggctg tgggccagtc gggccaagcg gtccggatcc 840

ggagccacca acttcagcct gctgaagcag gccggcgacg tggaggagaa ccccgcccc 900

atgtctaata ctgcatttcc agatecggcc tggaaacta cactccttag ttgggttgcc 960

ctcttctcc ttggcacgaa gcacatggaa gccgccgtca cccagagtcc gagaacaaa 1020

gtagcggta cggcggttaa ggtaacattg agttgtaacc aaacgaaca ccataacaat 1080

atgtactggt atagacaaga cacaggccat ggcttgcgcc tgattcacta cagctatgga 1140

gcggggagta cggagaaggg tgatattccc gatggctata aagcctctcg gcctagccag 1200

gagaatttta gttgatcct ggagctcgca acccccagtc agactagcgt ctactttgt 1260

gcctcaggcg acaatagtc ggaaacctt tacttcggcc ctgggacaag acttacagtt 1320

ctagaggatc tgagaaatgt gactccacc aaggtctct tgtttgagcc atcaaaagca 1380

gagattgcaa acaaacaaaa ggctaccctc gtgtgcttgg ccaggggctt ctccctgac 1440

cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggc aaggaggtcc acagtggggt cagcacggac 1500

cctcaggcct acaaggagag caattatagc tactgcctga gcagccgct gagggctctt 1560

gtaccttct ggcaacaacc tcgaaaccac ttcgctgcc aagtgcagtt ccatgggctt 1620

tcagaggagg acaagtggcc agagggtca cccaaacctg tcacacagaa catcagtgca 1680

gaggcctggg gccgagcaga ctgtggaatc acttcagcat cctatcatca gggggttctg 1740

tctgcaacca tcctctatga gatcctactg gggaaggcca ccctatatgc tgtgctggtc 1800

agtggcctgg tgctgatggc catgtcaag aaaaaaatt cctag 1845

<210> 259

<211> 619

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H-Y TCR alpha and beta

<400> 259

Met Phe Pro Val Thr Ile Leu Leu Leu Ser Ala Phe Phe Ser Leu Arg

1 5 10 15

Gly Asn Ser Ala Gln Ser Val Asp Gln Pro Asp Ala His Val Thr Leu

20 25 30

Ser Glu Gly Ala Ser Leu Glu Leu Arg Cys Ser Tyr Ser Tyr Ser Ala

35 40 45

Ala Pro Tyr Leu Phe Trp Tyr Val Gln Tyr Pro Gly Gln Ser Leu Gln

Phe Pro Asp Pro Ala Trp Asn Thr Thr Leu Leu Ser Trp Val Ala Leu
 305 310 315 320
 Phe Leu Leu Gly Thr Lys His Met Glu Ala Ala Val Thr Gln Ser Pro
 325 330 335
 Arg Asn Lys Val Ala Val Thr Gly Gly Lys Val Thr Leu Ser Cys Asn
 340 345 350
 Gln Thr Asn Asn His Asn Asn Met Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Thr Gly
 355 360 365
 His Gly Leu Arg Leu Ile His Tyr Ser Tyr Gly Ala Gly Ser Thr Glu
 370 375 380
 Lys Gly Asp Ile Pro Asp Gly Tyr Lys Ala Ser Arg Pro Ser Gln Glu
 385 390 395 400
 Asn Phe Ser Leu Ile Leu Glu Leu Ala Thr Pro Ser Gln Thr Ser Val
 405 410 415
 Tyr Phe Cys Ala Ser Gly Asp Asn Ser Ala Glu Thr Leu Tyr Phe Gly
 420 425 430
 Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro
 435 440 445
 Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr
 450 455 460
 Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His
 465 470 475 480
 Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val
 485 490 495
 Cys Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser
 500 505 510
 Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln
 515 520 525
 Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser
 530 535 540
 Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile

545 550 555 560
 Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu
 565 570 575
 Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu
 580 585 590
 Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu

 595 600 605
 Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly

 610 615

<210> 260

<211> 1860

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> H-Y TCR alpha and beta

<400> 260

atgttccccg ttaccatatt gctcctgagt gctttcttca gtttgcgagg gaactctgcc 60
 caatctgtcg atcagccaga tgcacacggt accctttccg aggggtgcgtc acttgaactg 120
 aggtgttctc atagctactc agcagcccct tatctgtttt ggtactgata ataccaggg 180
 cagagtctcc aatttctct taaatatata accggggaca ctgtagtgaa ggggactaaa 240

 ggttttgaag cagagtttag gaagagcaac agtccttca accttaagaa gtcacccgca 300
 cactggtcag actccgcgaa atacttctgt gctctggaag ggcaagacca ggggtggaagt 360
 gccaaattga tatttgggtga gggactactaaa ttgactgtta gctcaccgta tatccagaac 420
 cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc tgtctgccta 480
 ttcaccgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga tgtgtatatac 540
 acagacaaat gtgtgctaga catgagggtc atggacttca agagcaacag tgctgtggcc 600
 tggagcaaca aatctgactt tgcatgtgca aacgccttca acaacagcat tattccagaa 660

 gacaccttct tccccagccc agaaagtcc tgtgatgtca agctggtcga gaaaagcttt 720
 gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaac ctgtcagtga ttgggttccg aatcctcctc 780
 ctgaaagtgg ccgggtttaa tctgctcatg acgctcgggc tgtggtccag cggatccgga 840
 gccaccaact tcagcctgtc gaagcaggcc ggcgacgtgg aggagaacct cggccccatg 900
 tctaatactg catttccaga tccggcctgg aatactacac tccttagttg ggttgcctc 960
 ttctctcttg gcacgaagca catggaagcc gccgtcacc agagtcgag aaacaaagta 1020

gcggtcaccg gcggttaagg aacattgagt tgtaacaaa cgaacaacca taacaatatg 1080

tactgtata gacaagacac aggccatggc ttgcgcctga ttcactacag ctatggagcg 1140

gggagtacgg agaagggtga tatteccgat ggcataaag cctctcgcc tagccaggag 1200

aattttagtt tgatcctgga gctcgcaacc cccagtcaga ctagcgtcta cttttgtgcc 1260

tcaggcgaca atagtgcgga aaccctttac ttggccctg ggacaagact tacagttctg 1320

gaggacctga aaaacgtgtt cccacccgag gtcgctgtgt ttgagccatc agaagcagag 1380

atctcccaca cccaaaaggc cacactgggtg tgctggcca caggcttcta ccccgaccac 1440

gtggagctga gctggtgggt gaatgggaag gaggtgcaca gtggggtctg cacagaccg 1500

cagcccctca aggagcagcc cgccctcaat gactccagat actgcctgag cagccgcctg 1560

agggtgtcgg ccaccttctg gcagaacccc cgcaaccact tccgctgtca agtccagttc 1620

tacgggctct cggagaatga cgagtgagacc caggataggg ccaaacctgt cacccagatc 1680

gtcagcgccg aggcctgggg tagagcagac tgggcttca cctccgagtc ttaccagcaa 1740

ggggtcctgt ctgccacat cctctatgag atcttgctag ggaaggccac ctgtgatgcc 1800

gtgctgtgca gtgccctcgt gctgatggcc atggtcaaga gaaaggattc cagaggctag 1860

<210> 261

<211> 614

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H-Y TCR alpha and beta

<400> 261

Met Phe Pro Val Thr Ile Leu Leu Leu Ser Ala Phe Phe Ser Leu Arg

1 5 10 15

Gly Asn Ser Ala Gln Ser Val Asp Gln Pro Asp Ala His Val Thr Leu

20 25 30

Ser Glu Gly Ala Ser Leu Glu Leu Arg Cys Ser Tyr Ser Tyr Ser Ala

35 40 45

Ala Pro Tyr Leu Phe Trp Tyr Val Gln Tyr Pro Gly Gln Ser Leu Gln

50 55 60

Phe Leu Leu Lys Tyr Ile Thr Gly Asp Thr Val Val Lys Gly Thr Lys

65 70 75 80

Gly Phe Glu Ala Glu Phe Arg Lys Ser Asn Ser Ser Phe Asn Leu Lys

Pro Arg Asn Lys Val Ala Val Thr Gly Gly Lys Val Thr Leu Ser Cys
 340 345 350
 Asn Gln Thr Asn Asn His Asn Asn Met Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Thr
 355 360 365
 Gly His Gly Leu Arg Leu Ile His Tyr Ser Tyr Gly Ala Gly Ser Thr
 370 375 380
 Glu Lys Gly Asp Ile Pro Asp Gly Tyr Lys Ala Ser Arg Pro Ser Gln
 385 390 395 400
 Glu Asn Phe Ser Leu Ile Leu Glu Leu Ala Thr Pro Ser Gln Thr Ser
 405 410 415
 Val Tyr Phe Cys Ala Ser Gly Asp Asn Ser Ala Glu Thr Leu Tyr Phe
 420 425 430
 Gly Pro Gly Thr Arg Leu Leu Val Leu Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr
 435 440 445
 Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn
 450 455 460
 Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp
 465 470 475 480
 His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly
 485 490 495
 Val Ser Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys
 500 505 510
 Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg
 515 520 525
 Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp
 530 535 540
 Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala
 545 550 555 560
 Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr His
 565 570 575
 Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys

580 585 590
 Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Gly Leu Val Leu Met Ala Met
 595 600 605
 Val Lys Lys Lys Asn Ser
 610
 <210> 262
 <211> 1845
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H-Y TCR alpha and beta
 <400> 262
 atgttccccg ttaccatatt gctcctgagt gctttcttca gtttgcgagg gaactctgcc 60
 caatctgtcg atcagccaga tgcacacgtt accctttccg aggggtgcgtc acttgaactg 120
 aggtgttctct atagctactc agcagcccct tatctgtttt ggtacgtaca ataccagggg 180
 cagagctctcc aatttctct taaatatata accggggaca ctgtagttaa ggggactaaa 240
 ggttttgaag cagagtttag gaagagcaac agctccttca accttaagaa gtcacccgca 300
 cactggctcag actccgcgaa atacttctgt gctctggaag ggcaagacca ggggtggaagt 360
 gccaaattga tatttggta gggactaaa ttgactgtta gctcaccaga catccagaac 420
 ccagaacctg ctgtgtacca gttaaagat cctcggcttc aggacagcac cctctgctg 480
 ttcaccgact ttgactccca aatcaatgtg ccgaaaacca tggaatctgg aacgttcac 540
 actgacaaaa ctgtgctgga catgaaagct atggattcca agagcaatgg ggccattgcc 600
 tggagcaacc agacaagctt cacctgcca gatatcttca aagagacca cgccacctac 660
 cccagttcag acgttcctg tgatgccacg ttgaccgaga aaagcttga aacagatatg 720
 aacctaaact ttcaaaact gtcagttatg ggactccgaa tcctcctgct gaaagtagcg 780
 ggatttaacc tgetcatgac gctgaggctg tgggtccagtc gggccaagcg gtccggatcc 840
 ggagccacca acitcagcct gctgaagcag gccggcgacg tggaggagaa ccccggcccc 900
 atgtctaata ctgcatttcc agatccggcc tggaaacta cactccttag ttgggttgcc 960
 ctcttctctc ttggcacgaa gcacatggaa gccgccgtca cccagagtcc gagaaacaaa 1020
 gtagcggta ccggcggtaa ggtaacattg agttgtaacc aaacgaaca ccataacaat 1080
 atgtactggt atagacaaga cacaggccat ggcttgcgcc tgattcacta cagctatgga 1140
 gcggggagta cggagaaggg tgatattccc gatggctata aagcctctcg gcctagccag 1200
 gagaatttta gttgatcct ggagctcgca acccccagtc agactagcgt ctacttttgt 1260

gcctcaggcg acaatagtc ggaaaccctt tacttcggcc ctgggacaag acttttggtt 1320

ctagaggatc tgagaaatgt gactccacc aaggtctcct tgtttgagcc atcaaaagca 1380

gagattgcaa acaaacaaaa ggctaccctc gtgtgcttgg ccaggggctt cttccctgac 1440

cacgtggagc tgagctgggt ggtgaatggc aaggaggtcc acagtggggt cagcacggac 1500

cctcaggcct acaaggagag caattatagc tactgcctga gcagccgctt gaggtctctt 1560

gtacacttct ggcacaatcc tcgaaaccac ttccgctgcc aagtgcagtt ccatgggctt 1620

tcagaggagg acaagtggcc agagggtca cccaaacctg tcacacagaa catcagtgca 1680

gaggcctggg gccgagcaga ctgtggaatc acttcagcat cctatcatca gggggttctg 1740

tctgcaacca tcctctatga gatcctactg gggaaggcca ccctatatgc tgtgctggtc 1800

agtggcctgg tgctgatggc catggtcaag aaaaaaatt cctag 1845

<210> 263

<211> 619

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H-Y TCR alpha and beta

<400> 263

Met Phe Pro Val Thr Ile Leu Leu Leu Ser Ala Phe Phe Ser Leu Arg

1 5 10 15

Gly Asn Ser Ala Gln Ser Val Asp Gln Pro Asp Ala His Val Thr Leu

20 25 30

Ser Glu Gly Ala Ser Leu Glu Leu Arg Cys Ser Tyr Ser Tyr Ser Ala

35 40 45

Ala Pro Tyr Leu Phe Trp Tyr Val Gln Tyr Pro Gly Gln Ser Leu Gln

50 55 60

Phe Leu Leu Lys Tyr Ile Thr Gly Asp Thr Val Val Lys Gly Thr Lys

65 70 75 80

Gly Phe Glu Ala Glu Phe Arg Lys Ser Asn Ser Ser Phe Asn Leu Lys

85 90 95

Lys Ser Pro Ala His Trp Ser Asp Ser Ala Lys Tyr Phe Cys Ala Leu

100 105 110

Glu Gly Gln Asp Gln Gly Gly Ser Ala Lys Leu Ile Phe Gly Glu Gly

His Gly Leu Arg Leu Ile His Tyr Ser Tyr Gly Ala Gly Ser Thr Glu
 370 375 380
 Lys Gly Asp Ile Pro Asp Gly Tyr Lys Ala Ser Arg Pro Ser Gln Glu
 385 390 395 400
 Asn Phe Ser Leu Ile Leu Glu Leu Ala Thr Pro Ser Gln Thr Ser Val
 405 410 415

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

 Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val
 485 490 495
 Cys Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser
 500 505 510
 Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln
 515 520 525
 Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser
 530 535 540

 Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile
 545 550 555 560
 Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu
 565 570 575
 Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu
 580 585 590
 Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu
 595 600 605

 Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly

gtggagctga gctgggtgggt gaatgggaag gaggtgcaca gtggggtctg cacagaccg 1500

cagccccca aggagcagcc cgcctcaat gactccagat actgcctgag cagccgctg 1560

agggtgtcgg ccaccttctg gcagaacccc cgcaaccact tccgctgtca agtccagttc 1620

tacgggctct cggagaatga cgagtggacc caggataggg ccaaacctgt caccagatc 1680

gtcagcgccc aggctgggg tagagcagac tgtggcttca cctccgagtc ttaccagcaa 1740

ggggtcctgt ctgccacat cctctatgag atcttctag ggaaggccac cttgtatgcc 1800

gtgctggta gtcacctgt gctgatggc atggtcaaga gaaaggattc cagaggctag 1860

<210> 265

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NY-ESO-1

<400> 265

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val

1 5

<210> 266

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA-1(R) peptide

<400> 266

Val Leu Arg Asp Asp Leu Leu Glu Ala

1 5

<210> 267

<211> 607

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NY-ESO-1 TCR alpha and beta

<400> 267

Met Glu Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp

1 5 10 15

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

Ser Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly
 275 280 285
 Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Ile Gly Leu Leu Cys Cys
 290 295 300
 Ala Ala Leu Ser Leu Leu Trp Ala Gly Pro Val Asn Ala Gly Val Thr
 305 310 315 320
 Gln Thr Pro Lys Phe Gln Val Leu Lys Thr Gly Gln Ser Met Thr Leu
 325 330 335

 Gln Cys Ala Gln Asp Met Asn His Glu Tyr Met Ser Trp Tyr Arg Gln
 340 345 350
 Asp Pro Gly Met Gly Leu Arg Leu Ile His Tyr Ser Val Gly Ala Gly
 355 360 365
 Ile Thr Asp Gln Gly Glu Val Pro Asn Gly Tyr Asn Val Ser Arg Ser
 370 375 380
 Thr Thr Glu Asp Phe Pro Leu Arg Leu Leu Ser Ala Ala Pro Ser Gln
 385 390 395 400

 Thr Ser Val Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Tyr Val Gly Asn Thr Gly Glu
 405 410 415
 Leu Phe Phe Gly Glu Gly Ser Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys
 420 425 430
 Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu
 435 440 445
 Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe
 450 455 460

 Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val
 465 470 475 480
 His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala
 485 490 495
 Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala
 500 505 510
 Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe

ttcagcctgc tgaagcaggc cggcgacgtg gaggagaacc ccggcccat gagcatcggc 900
 ctctgtgtct gtgcagcctt gtctctctctg tgggcaggtc cagtgaatgc tgggtcact 960
 cagaccccaa aattccaggt cctgaagaca ggacagagca tgacactgca gtgtgccag 1020
 gatatgaacc atgaatacat gtcctgggat cgacaagacc caggcatggg gctgaggctg 1080

attcattact cagttgggtc tggatcact gaccaaggag aagtcccaa tggctacaat 1140
 gtctccagat caaccacaga ggatttcccg ctccaggtgc tgcggctgc tcctcccag 1200
 acatctgtgt acttctgtgc cagcagttac gtcgggaaca ccggggagct gtttttga 1260
 gaaggctcta ggctgaccgt actggaggac ctgaaaaacg tgttcccacc cgaggtcgt 1320
 gtgtttgagc catcagaagc agagatctcc cacacccaaa aggccacact ggtgtgctg 1380
 gccacaggct tctacccga ccacgtggag ctgagctggt gggtgaatgg gaaggagtg 1440
 cacagtgggg tctgcacaga cccgcagccc ctcaaggagc agcccgcct caatgactcc 1500

agatactgcc tgagcagccg cctgagggtg tcggccacct tctggcagaa ccccccaac 1560
 cacttccgct gtcaagtcca gttctacggg ctctcggaga atgacgagtg gaccaggat 1620
 agggccaaac ctgtcaccca gatcgtcagc gccgaggcct ggggtagagc agactgtggc 1680
 ttcacctccg agtcttacca gcaaggggtc ctgtctgcca ccatctcta tgagatcttg 1740
 ctagggaagg ccaccttgta tgccgtgctg gtcagtgcc tcgtgctgat ggccatggtc 1800
 aagagaaagg attccagagg ctag 1824

<210> 269

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS TCR

<400> 269

Met Gln Arg Asn Leu Gly Ala Val Leu Gly Ile Leu Trp Val Gln Ile

1 5 10 15

Cys Trp Val Arg Gly Asp Gln Val Glu Gln Ser Pro Ser Ala Leu Ser

20 25 30

Leu His Glu Gly Thr Asp Ser Ala Leu Arg Cys Asn Phe Thr Thr Thr

35 40 45

Met Arg Ser Val Gln Trp Phe Arg Gln Asn Ser Arg Gly Ser Leu Ile

50 55 60

Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly
 565 570 575

Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr
 580 585 590

Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys
 595 600 605

Arg Lys Asn Ser
 610

<210> 270

<211> 1839

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> KRAS TCR

<400> 270

atgcagagga acctgggagc tgtgctgggg attctgtggg tgcagatttg ctgggtgaga 60
 ggggatcagg tggagcagag tccttcagcc ctgagcctcc acgaggaac cgattctgct 120

 ctgagatgca attttacgac caccatgagg agtgtgcagt ggttccgaca gaattccagg 180
 ggcagcctca tcagtttgtt ctacttggct tcaggaacaa aggagaatgg gaggctaag 240
 tcagcatttg attctaagga gcggcgctac agcacctgc acatcagga tgcccagctg 300
 gaggactcag gcacttactt ctgtgctgct gactcttcga acacgggtta ccagaacttc 360
 tattttggga aaggaacaag tttgactgtc attccaaca tccagaacc agaactgct 420
 gtgtaccagt taaaagatcc tcggtctcag gacagcacc tctgcctgtt caccgacttt 480
 gactccaaa tcaatgtgcc gaaaaccatg gaatctggaa cgttcatcac tgacaaaact 540

 gtgctggaca tgaagctat ggattccaag agcaatgggg ccattgcctg gagcaaccag 600
 acaagcttca cctgccaaga tatcttcaaa gagaccaacg ccacctacce cagttcagac 660
 gttccctgtg atgccacgtt gaccgagaaa agctttgaaa cagatatgaa cctgaacttt 720
 caaaacctgt cagttatggg actccgaatc ctctgctga aagtagcggg atttaacctg 780
 ctcatgacgc tgaggctgtg gtccagtcgg gccaagcggg ccggatecgg agccaaccaac 840
 ttcagcctgc tgaagcaggc cggcgacgtg gaggagaacc ccggcccat gtctaact 900
 gccttcctg accccgctg gaacaccacc ctgctatctt gggttgctct ctttctcctg 960

 ggaacaagtt cagcaaattc tggggttgtc cagtctcaa gatacataat caaaggaaag 1020

ggagaaaggt ccattctaaa atgtattccc atctctggac atctctctgt gccttggtat 1080
 caacagactc aggggcagga actaaagttc ttattcagc attatgataa aatggagaga 1140
 gataaaggaa acctgccag cagattctca gtccaacagt ttgatgacta tcactctgag 1200
 atgaacatga gtgccttggg gctagaggac tctgccgtgt acttctgtgc cagctctctc 1260
 acagatccgc tagactccga ctacacctc ggctcagga ccaggctttt ggtaatagag 1320
 gatctgagaa atgtgactcc acccaaggtc tccttgittg agccatcaaa agcagagatt 1380

gcaaacaaac aaaaggctac cctcgtgtgc ttggccaggg gcttcttccc tgaccacgtg 1440
 gagctgagct ggtgggtgaa tggcaaggag gtccacagtg gggtcagcac ggaccctcag 1500
 gcctacaagg agagcaatta tagctactgc ctgagcagcc gcctgagggt ctctgctacc 1560
 ttctggcaca atcctcgcaa ccacttccgc tgccaagtgc agttccatgg gctttcagag 1620
 gaggacaagt ggccagaggg ctcacccaaa cctgtcacac agaacatcag tgcagaggcc 1680
 tggggccgag cagactgtgg gattacctca gcatcctatc aacaaggggt ctgtgtgcc 1740
 accatcctct atgagatcct gctagggaaa gccaccctgt atgctgtgct tgcagtaca 1800

ctggtggtga tgctatggt caaaagaaag aattcatag 1839

<210> 271

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T2A self cleaving peptide

<400> 271

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro

1 5 10 15

Gly Pro

<210> 272

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E2A self cleaving peptide

<400> 272

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

1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 273

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F2A self cleaving peptide

<400> 273

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

1

5

10

15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 274

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ITIM

<220><221> Z

<222

> (1)..(1)

<223> Z is S, I V or L

<220><221> X

<222> (2)..(2)

<223> X is any amino acid

<220><221> X

<222> (4)..(5)

<223> X is any amino acid

<220><221> Z

<222> (6)..(6)

<223> Z is I, V or L

<400> 274

Glx Xaa Tyr Xaa Xaa Glx

1

5

<210> 275

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 ScFv

<400> 275

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu
 115 120 125

Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys
 130 135 140

Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg
 145 150 155 160

Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser
 165 170 175

Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile
 180 185 190

Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln
 195 200 205

Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly

210 215 220
 Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val
 225 230 235 240
 Ser Ser

<210> 276

<211> 726

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 ScFv

<400> 276

gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
 atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gatggaactg ttaaactcct gatctacat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240
 gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatcgc ttccgtacac gttcggaggg 300
 gggaccaagc tggagatcac aggtggcggg ggctcgggcg gtggtgggtc gggcggcggc 360
 ggatctgagg tgaactgca ggagtcagga cctggcctgg tggcgcctc acagagcctg 420
 tccgtacat gcaactgtc aggggtctca ttaccgact atgggtgaag ctggattcgc 480
 cagcctccac gaaagggtct ggagtggctg ggagtaatat ggggtagtga aaccacatac 540

tataattcag ctctcaaac cagactgacc atcatcaagg acaactcaa gagccaagtt 600
 ttcttaaaaa tgaacagtct gcaactgat gacacagcca ttactactg tgccaaacat 660
 tattactacg gtggtagcta tgctatggac tactggggcc aaggaacctc agtcaccgtg 720
 tcctca 726

<210> 277

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 ScFv

<400> 277

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15

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

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

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

 Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr
 210 215 220
 Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
 225 230 235 240
 Thr Val Ser Ser

<210> 278

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 ScFv

<400> 278

```

gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgct ctctgggaga cagagtcacc      60
atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aatatattaa attggtatca gcagaaacca      120

gatggaactg ttaaactcct gatctacat acatcaagat tacactcagg agtcccatca      180
agttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa      240
gaagatattg ccaattactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg      300
gggaccaagc tggagatcac aggcggaggt ggaagcggag ggggaggatc tggcggcgga      360
ggaagcggag gcgaggtgaa actgcaggag tcaggacctg gcctggtggc gcctcacag      420
agcctgtccg tcacatgcac tgtctcaggg gtctcattac ccgactatgg tgtaagctgg      480
attcgccagc ctccacgaaa gggctctggag tggtctggag taatatgggg tagtgaacc      540

acatactata attcagctct caaatccaga ctgacatca tcaaggacaa ctccaagagc      600
caagttttct taaaaatgaa cagtctgcaa actgatgaca cagccattta ctactgtgcc      660
aaacattatt actacggtgg tagctatgct atggactact ggggccaagg aacctcagtc      720
accgtgtcct ca                                                    732

```

<210> 279

<211> 509

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 CAR

<400> 279

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1           5           10           15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
           20           25           30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
           35           40           45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln

```


Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro
 325 330 335

Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala
 340 345 350

Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 355 360 365

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
 370 375 380

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
 385 390 395 400

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln
 405 410 415

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
 420 425 430

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 435 440 445

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
 450 455 460

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
 465 470 475 480

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
 485 490 495

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 500 505

<210> 280

<211> 1527

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 CAR

<400> 280

gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc

atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gatggaactg ttaaactcct gatctacat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240
 gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg 300
 gggaccaagc tggagatcac aggtggcgtt ggctcgggcg gtggtgggtc gggcggcggc 360
 ggatctgagg tgaactgca ggagtcagga cctggcctgg tggcgcctc acagagcctg 420
 tccgtcacat gcactgtctc aggggtctca ttacccgact atggtgtaag ctggattcgc 480

cagcctccac gaaagggtct ggagtggctg ggagtaatat ggggtagtga aaccacatac 540
 tataattcag ctctcaaate cagactgacc atcatcaagg acaactcaa gagccaagtt 600
 ttcttaaaaa tgaacagtct gcaactgat gacacagcca ttactactg tgccaaacat 660
 tattactacg gtggtagcta tgctatggac tactggggcc aaggaacctc agtcaccgtg 720
 tcctcaacca cgacgccagc gccgcgacca ccaacaccgg cgcccacat cgcgtcgag 780
 ccctgtccc tgcgccaga ggcgtgccgg ccagcggcgg gggcgcagc gcacacgagg 840
 gggctggact tcgctgtga tttctgggtg ctggtcgttg tggcggcgt gctggcctgc 900

tacagcctgc tggtagacgt ggccttcac atcttttggg tgaggagcaa gcggagcaga 960
 ctgctgcaca gcgactacat gaacatgacc ccccggaggc ctggcccccac ccggaagcac 1020
 taccagcct acgcccccc cagggatttc gccgcctacc ggagcaaacg gggcagaaag 1080
 aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgaggccag taaaactac tcaagaggaa 1140
 gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1200
 ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac aagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1260
 ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agcgtlagagg ccgggaccct 1320

gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1380
 aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1440
 aaggggcacg atggccttta ccagggactc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1500
 cttcacatgc aggcctgcc ccctcgc 1527

<210> 281

<211> 509

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 CAR

<400> 281

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

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

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

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

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

Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
 260 265 270

Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe
 275 280 285

Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu
 290 295 300

Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg
 305 310 315 320

Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro
 325 330 335

Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala
 340 345 350

Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 355 360 365

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
 370 375 380

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
 385 390 395 400

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln
 405 410 415

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
 420 425 430

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 435 440 445

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
 450 455 460

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
 465 470 475 480

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
 485 490 495

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

500 505

<210> 282

<211> 246

<212> PRT

<213> CEA ScFv

<400> 282

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln
 130 135 140

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
 145 150 155 160

Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln
 165 170 175

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg
 180 185 190

Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

gtgtattact gtgcgagatg ggacttcgct tattacgtgg aggctatgga ctactggggc 1140
 caagggacca cggtcaccgt ctccctcaggc ggaggtggaa gcggaggggg aggatctggc 1200
 ggccggaggaa gcggaggcga tatccagatg acccagctct catcctccct gtctgcatct 1260
 gtgggagaca gagtcacat cacttgcaag gccagtcaga atgtgggtac taatgttgcc 1320
 tggatcagc agaaaccagg gaaagcacct aagctcctga tctattcggc atcctaccgc 1380

tacagtggag tcccatcaag gttcagtggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 1440
 atcagcagtc tgcaacctga agatttcgca acttactact gtcaccaata ttacacctat 1500
 cctctattca cgtttggcca gggcaccaag ctcgagatca ag 1542

<210> 284

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA ScFv

<400> 284

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg

180 185 190

Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr

210 215 220

Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu Phe Thr Phe Gly Gln Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys

245

<210> 285

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA ScFv

<400> 285

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcggcga gtaagaac ctggagctag tgtgaagtg 60

tcttcaagg ccagcggcta cacctcacc gatttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120

ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180

gtggaagagt tcaagggcag agtgacctc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240

atggaactgc ggagcctgag aagcgcgac accgccgtgt actactgccc cagatgggac 300

ttcgcttatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360

agcggcggag gtggaagcgg agggggagga tctggcggcg gaggaagcgg aggcgatatc 420

cagatgacce agtctccatc ctccctgtct gcactctgtg gagacagagt caccatcact 480

tgcaaggcca gtgcggctgt gggtagctat gttgctggt atcagcagaa accagggaaa 540

gcacctaagc tctgatcta ttccgcatcc taccgcaaaa ggggagtccc atcaaggttc 600

agtggcagtg gatctgggac agatttcact ctccatca gcagtctgca acctgaagat 660

ttcgcaactt actactgtca ccaatattac acctatcctc tattcacggtt tggccagggc 720
 accaagctcg agatcaag 738

<210> 286
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CEA ScFv
 <400> 286

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Trp Asp Phe Ala His Tyr Phe Gln Thr Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln
 130 135 140
 Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
 145 150 155 160
 Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr Val Ala Trp Tyr Gln Gln
 165 170 175
 Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg
 180 185 190

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

<210> 287

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA ScFv

<400> 287

caggtgcagc tgggtcaatc tgggtctgag ttgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg ctcttgata caccttcaact gagtttggaa tgaactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg ataaacacca aaactggaga ggcaacatat 180

gttgaagagt ttaagggacg gtttctcttc tccttgaca cctctgtcag cacggcatat 240

ctgcagatca gcagcctaaa ggctgaagac actgccgtgt attactgtgc gagatgggac 300

tttgcctcatt acittcagac tatggactac tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360

tcaggcggag gtggaagcgg agggggagga tctggcggcg gaggaagcgg aggcgatc 420

cagatgacce agtctccatc ctccctgtct gcatctgtgg gagacagagt caccatcaact 480

tgcaaggcca gtgcggctgt gggctacgtat gttgcgtggt atcagcagaa accagggaaa 540

gcacctaagc tcctgatcta ttcggcatcc taccgcaaaa ggggagtccc atcaaggttc 600

agtggcagtg gatctgggac agatttcaact ctccatca gcagtctgca acctgaagat 660

ttcgcaactt actactgtca ccaatattac acctatctc tattcacgtt tggccagggc 720

accaagctcg agatcaag 738

<210> 288

<211> 535

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CAR

<400> 288

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu
 20 25 30
 Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 35 40 45
 Tyr Thr Phe Thr Glu Phe Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 50 55 60
 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala
 65 70 75 80
 Thr Tyr Val Glu Glu Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr
 85 90 95
 Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu
 115 120 125
 Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 165 170 175
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
 180 185 190
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 195 200 205
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 210 215 220
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 225 230 235 240

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> 289

<211> 1608

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CAR

<400> 289

atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct cggaggtgcc 60
 agatgtcagg tgcagctggt gcaatctggg tctgagttga agaagcctgg ggcctcagtg 120
 aagtttctct gcaaggcttc tggatacacc ttactgagt ttggaatgaa ctgggtgcga 180
 caggcccctg gacaaggctt tgagtggatg ggatggataa acaccaaacc tggagaggca 240
 acatatgttg aagagtttaa gggacggttt gtcttctcct tggacacctc tgtcagcacg 300
 gcatactcgc agatcagcag cctaaaggct gaagacactg ccgtgtatta ctgtgcgaga 360

 tgggacttcg cttattacgt ggaggctatg gactactggg gccaaaggac cacggtcacc 420
 gtctcctcag gcggagggtg aagcggaggg ggaggatctg gcggcggagg aagcggaggc 480
 gatatccaga tgaccacgac tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 540
 atcacttgca aggccagtca gaatgtgggt actaatgttg cctggatca gcagaaacca 600
 gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gctacagtgg agtcccatca 660
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 720
 gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 780

 cagggcacca agctcgagat caagacaacg acgccagctc cccgcccgcc aaccctgca 840
 cctacgattg catcacaacc gctgtccctg cggcctgaag cttgtcgccc agccgcaggt 900
 ggcccgctac atacacgggg gctggatttt gcctgtgatt tctgggtgct ggtcgttgtg 960
 ggccggcgtg tggcctgcta cagcctgctg gtgacagtgg ccttcatcat cttttgggtg 1020
 aggagcaagc ggagtcgact gctgcacagc gactacatga acatgacccc ccggaggcct 1080
 ggccccacc ggaagcacta ccagccctac gccctccca gggatttcgc cgctaccgg 1140

agcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gaggccagta 1200
 caaactactc aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 1260
 tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgctacaa gcagggccag 1320
 aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag 1380
 cgtagaggcc gggaccctga gatgggggga aagccgagaa ggaagaacct tcaggaaggc 1440
 ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa 1500
 ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat gcctttacc agggactcag tacagccacc 1560
 aaggacacct acgagccct tcacatgcag gccctgcccc ctcgctag 1608

<210> 290

<211> 537

<212> PRT

<213> CEA CAR

<400> 290

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

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu

20 25 30

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly

35 40 45

Tyr Thr Phe Thr Glu Phe Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

50 55 60

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala

65 70 75 80

Thr Tyr Val Glu Glu Phe Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr

85 90 95

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu

115 120 125

Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 165 170 175
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
 180 185 190
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 195 200 205
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 210 215 220
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 225 230 235 240
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
 245 250 255
 Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Thr Thr
 260 265 270
 Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
 275 280 285
 Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
 290 295 300
 Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val
 305 310 315 320
 Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala
 325 330 335
 Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser
 340 345 350
 Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His
 355 360 365
 Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys
 370 375 380
 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg

385 390 395 400
 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 405 410 415
 Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 420 425 430
 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu

 435 440 445
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 450 455 460
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 465 470 475 480
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 485 490 495
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp

 500 505 510
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 515 520 525
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

 530 535

<210> 291

<211> 1614

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CAR

<400> 291

atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60

agatgtcagg tgcagctggt gcagctctggc gccgaagtga agaaacctgg agctagtgtg 120

aaggtgtcct gcaaggccag cggtacacc ttaccgagt tcggcatgaa ctgggtccga 180

caggctccag gccagggcct cgaatggatg ggctggatca acaccaagac cggcgaggcc 240

acctactgag aagattcaa gggcagagtg accttcacca cggacaccag caccagcacc 300

gctacatgg aactcggag cctgagaagc gacgacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga 360

tgggacttcg cttattactg ggaagccatg gactactggg gccagggcac caccgtgacc 420

gtgtctagcg gcgaggtgg aagcggaggg ggaggatctg gcggcggagg aagcggaggc 480
 gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 540

 atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca 600
 gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca 660
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 720
 gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 780
 cagggcacca agctcgagat caagcgtacg acaacgacgc cagctccccg cccgccaacc 840
 cctgcaccta cgattgcatc acaaccgctg tccttgcggc ctgaagcttg tcgcccagcc 900
 gcaggtggcg ccgtacatac acgggggctg gattttgcct gtgatttctg ggtgctggtc 960

 gttgtggcg gctgctggc ctgctacagc ctgctggtga cagtggcctt catcatcttt 1020
 tgggtgagga gcaagcggag tcgactgctg cacagcgact acatgaacat gacccccgg 1080
 aggcctggcc ccaccggaa gcactaccag ccctacgcc ctcccagga tttcgccgcc 1140
 taccggagca aacggggcag aaagaaactc ctgtatata tcaaacaacc atttatgagg 1200
 ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1260
 ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag 1320
 ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgtttg 1380

 gacaagcgtg gaggccggga ccctgagatg ggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1440
 gaaggctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1500
 atgaaaggcg agcgcggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg actcagtaca 1560
 gccaccaagg acacctagca cgcccttac atgcaggccc tgcccctcg ctag 1614

 <210> 292
 <211> 536
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CEA CAR
 <400> 292

 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu
 20 25 30

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

Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 290 295 300
 His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val
 305 310 315 320
 Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe
 325 330 335

 Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp
 340 345 350
 Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr
 355 360 365
 Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg
 370 375 380
 Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
 385 390 395 400

 Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
 405 410 415
 Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
 420 425 430
 Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
 435 440 445
 Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
 450 455 460

 Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
 465 470 475 480
 Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
 485 490 495
 Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
 500 505 510
 Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
 515 520 525

 His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

530

535

<210> 293

<211> 1611

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CAR

<400> 293

```

atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc      60
agatgtcagg tgcagctggt gcaatctggg tctgagttga agaagcctgg ggcctcagtg      120
aaggtttcct gcaaggcttc tggatacacc ttacttgagt ttggaatgaa ctgggtgcga      180
caggccctg gacaagggtc tgagtggatg ggatggataa acacaaaac tggagaggca      240
acatatgttg aagagtttaa gggacggttt gtcttctcct tggacacctc tgtcagcacg      300

gcatactgc agatcagcag cctaaaggct gaagacactg ccgtgtatta ctgtgcgaga      360
tgggactttg ctcattactt tcagactatg gactactggg gccaaaggac cacggtcacc      420
gtctcctcag gcgaggtgg aagcggaggg ggaggatctg gcggcggagg aagcggaggc      480
gatatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc      540
atcacttgca aggccagtc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca      600
gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca      660
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct      720

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc      780
cagggcacca agctcgagat caagcgtaca acgacgccag ctccccgcc gccaacccct      840
gcacctacga ttgcatcaca accgctgtcc ctgcggcctg aagcttgtcg cccagccgca      900
ggtggcgccg tacatacacg ggggctggat ttgacctgtg atttctgggt gctggctggt      960
gtggcgccg tgctggcctg ctacagcctg ctggtgacag tggccttcat catcttttg      1020
gtgaggagca agcggagtcg actgctgcac agcgactaca tgaacatgac cccccggagg      1080
cctggcccca cccggaagca ctaccagccc tacgccctc ccagggattt cgccgcctac      1140

cggagcaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatattca aacaaccatt tatgaggcca      1200
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga      1260
ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg agcgcagacg cccccgcta caagcagggc      1320
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttgac      1380
aagcgtagag gccgggacct tgagatgggg gaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa      1440
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg      1500

```

aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggact cagtacagcc 1560

accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc ccctcgcta g 1611

<210> 294

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-H1

<400> 294

Glu Phe Gly Met Asn

1 5

<210> 295

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-H2

<400> 295

Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 296

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-H3

<400> 296

Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 297

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-H3

<400> 297

Trp Asp Phe Ala His Tyr Phe Gln Thr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 298

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-L1

<400> 298

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 299

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-L1

<400> 299

Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr Val Ala

1 5 10

<210> 300

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-L2

<400> 300

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 301

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-L2

<400> 301

Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg

1 5

<210> 302

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CEA CDR-L3

<400> 302

His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu Phe Thr

1 5 10

<210> 303

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-CYBA-1Y peptide

<220><221> X

<222> (10)..(10)

<223> X is Y or H

<400> 303

Ser Thr Met Glu Arg Trp Gly Gln Lys Xaa

1 5 10

<210> 304

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-OAS1-1R

<220><221> X

<222> (7)..(7)

<223> X is R or T

<400> 304

Glu Thr Asp Asp Pro Arg Xaa Tyr Gln Lys Tyr

1 5 10

<210> 305

<211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HA-2 peptide
 <220><221> X
 <222> (9)..(9)
 <223> X is V or M
 <400> 305

Tyr Ile Gly Glu Val Leu Val Ser Xaa

1 5

<210> 306

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA-8 peptide

<220><221> X

<222> (1)..(1)

<223> X is R or P

<400> 306

Xaa Thr Leu Asp Lys Val Leu Glu Val

1 5

<210> 307

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA-3 peptide

<220><221> X

<222> (2)..(2)

<223> X is T or M

<400> 307

Val Xaa Glu Pro Gly Thr Ala Gln Tyr

1 5

<210> 308

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> HwA11-S peptide

<220><221> X

<222> (6)..(6)

<223> X is S or T

<400> 308

Cys Ile Pro Pro Asp Xaa Leu Leu Phe Pro Ala

1 5 10

<210> 309

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-ADIR-1F peptide

<220><221> X

<222> (9)..(9)

<223> X is F or S

<400> 309

Ser Val Ala Pro Ala Leu Ala Leu Xaa Pro Ala

1 5 10

<210> 310

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> LB-HIVEP1-1S peptide

<220><221> X

<222> (6)..(6)

<223> X is S or N

<400> 310

Ser Leu Pro Lys His Xaa Val Thr Ile

1 5

<210> 311

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-NISCH-1A peptide

<220><221> X

<222> (7)..(7)

<223> X is A or V

<400> 311

Ala Leu Ala Pro Ala Pro Xaa Glu Val

1 5

<210> 312

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-SSR1-1S peptide

<220><221> X

<222> (1)..(1)

<223> X is S or L

<400> 312

Xaa Leu Ala Val Ala Gln Asp Leu Thr

1 5

<210> 313

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-WNK1-1I peptide

<220><221> X

<222> (7)..(7)

<223> X is I or M

<400> 313

Arg Thr Leu Ser Pro Glu Xaa Ile Thr Val

1 5 10

<210> 314

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T4A peptide

<220><221> X

<222> (10)..(10)

<223> X is A or E

<400> 314

Gly Leu Tyr Thr Tyr Trp Ser Ala Gly Xaa

1 5 10

<210> 315

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> UTA2-1 peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is L or P

<400> 315

Gln Leu Xaa Asn Ser Val Leu Thr Leu

1 5

<210> 316

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-CLYBL-1Y peptide

<220><221> X

<222> (5)..(5)

<223> X is Y or D

<400> 316

Ser Leu Ala Ala Xaa Ile Pro Arg Leu

1 5

<210> 317

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TRIM22 peptide
 <220><221> X
 <222> (7)..(7)
 <223> X is C or R
 <400> 317

Met Ala Val Pro Pro Cys Xaa Ile Gly Val
 1 5 10

<210> 318
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> PARP10-1L peptide
 <220><221> X
 <222> (3)..(3)
 <223> X is L or P
 <400> 318

Gly Leu Xaa Gly Gln Glu Gly Leu Val Glu Ile
 1 5 10

<210> 319
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> FAM119A-1T peptide
 <220><221> X
 <222> (8)..(8)
 <223> X is T or I
 <400> 319

Ala Met Leu Glu Arg Gln Phe Xaa Val
 1 5

<210> 320
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> GLRX3-1S peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is S or P

<400> 320

Phe Leu Xaa Ser Ala Asn Glu His Leu

1 5

<210> 321

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HNF4G-1M peptide

<220><221> X

<222> (2)..(2)

<223> X is M or I

<400> 321

Met Xaa Tyr Lys Asp Ile Leu Leu Leu

1 5

<210> 322

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HMMR-1V peptide

<220><221> X

<222> (6)..(6)

<223> X is V or A

<400> 322

Ser Leu Gln Glu Lys Xaa Ala Lys Ala

1 5

<210> 323

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BCL2A1 peptide

<220><221> X

<222> (4)..(4)

<223> X is N or K

<400> 323

Val Leu Gln Xaa Val Ala Phe Ser Val

1 5

<210> 324

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDC26-1F peptide

<220><221> X

<222> (1)..(1)

<223> X is F or S

<400> 324

Xaa Val Ala Gly Thr Gln Glu Val Phe Val

1 5 10

<210> 325

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> APOBEC3F-1S/A peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is S or A

<400> 325

Phe Leu Xaa Glu His Pro Asn Val Thr Leu

1 5 10

<210> 326

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-PRCP-1D peptide

<220><221> X

<222> (8)..(8)

<223> X is D or E

<400> 326

Phe Met Trp Asp Val Ala Glu Xaa Leu

1 5

<210> 327

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-PRCP-1D peptide

<220><221> X

<222> (8)..(8)

<223> X is D or E

<400> 327

Phe Met Trp Asp Val Ala Glu Xaa Leu Lys Ala

1 5 10

<210> 328

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-CCL4-1T peptide

<220><221> X

<222> (7)..(7)

<223> X is T or S

<400> 328

Cys Ala Asp Pro Ser Glu Xaa Trp Val

1 5

<210> 329

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-NCAPD3-1Q peptide

<220><221>

> X

<222> (3)..(3)

<223> X is Q or R

<400> 329

Trp Leu Xaa Gly Val Val Pro Val Val

1 5

<210> 330

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-NDC80-1P peptide

<220><221> X

<222> (7)..(7)

<223> X is P or A

<400> 330

His Leu Glu Glu Gln Ile Xaa Lys Val

1 5

<210> 331

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-TTK-1D peptide

<220><221> X

<222> (4)..(4)

<223> X is D or E

<400> 331

Arg Leu His Xaa Gly Arg Val Phe Val

1 5

<210> 332

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> WDR27-1L peptide

<220><221> X

<222> (2)..(2)

<223> X is L or P

<400> 332

Ser Xaa Asp Asp His Val Val Ala Val

1 5

<210> 333

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MIIP peptide

<220><221> X

<222> (8)..(8)

<223> X is K or E

<400> 333

Ser Glu Glu Ser Ala Val Pro Xaa Arg Ser Trp

1 5 10

<210> 334

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MIIP peptide

<220><221> X

<222> (7)..(7)

<223> X is K or E

<400> 334

Glu Glu Ser Ala Val Pro Xaa Arg Ser Trp

1 5 10

<210> 335

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-DHX33-1C peptide

<220><221> X

<222> (9)..(9)

<223> X is C or R

<400> 335

Tyr Leu Tyr Glu Gly Gly Ile Ser Xaa

1 5

<210> 336

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> PANE1 peptide

<400> 336

Arg Val Trp Asp Leu Pro Gly Val Leu Lys

1 5 10

<210> 337

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SP110 peptide

<220><221> X

<222> (4)..(4)

<223> X is R or G

<400> 337

Ser Leu Pro Xaa Gly Thr Ser Thr Pro Lys

1 5 10

<210> 338

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ACC-1C/Y

<220><221> X

<222> (5)..(5)

<223> X is Y or C

<400> 338

Asp Tyr Leu Gln Xaa Val Leu Gln Ile

1 5

<210> 339
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> P2RX7 peptide
 <220><221> X
 <222> (6)..(6)
 <223> X is H or R
 <400> 339
 Trp Phe His His Cys Xaa Pro Lys Tyr

1 5

<210> 340
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ACC-4 peptide

 <220><221> X
 <222> (9)..(9)
 <223> X is R or G
 <400> 340

Ala Thr Leu Pro Leu Leu Cys Ala Xaa
 1 5
 <210> 341
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ACC-5
 <220><221> X
 <222> (10)..(10)
 <223> X is R or G
 <400> 341

Trp Ala Thr Leu Pro Leu Leu Cys Ala Xaa
 1 5 10

<210> 342

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AKAP13 peptide

<220><221> X

<222> (9)..(9)

<223> X is M or T

<400> 342

Ala Pro Ala Gly Val Arg Glu Val Xaa

1 5

<210> 343

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-APOBEC3B-1K peptide

<220><221> X

<222> (1)..(1)

<223> X is K or E

<400> 343

Xaa Pro Gln Tyr His Ala Glu Met Cys Phe

1 5 10

<210> 344

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> APOBEC3H peptide

<220><221> X

<222> (5)..(5)

<223> X is K or E

<400> 344

Lys Pro Gln Gln Xaa Gly Leu Arg Leu

1 5

<210> 345

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-ARHGDIB-1R peptide

<220><221> X

<222> (6)..(6)

<223> X is R or P

<400> 345

Pro Arg Ala Cys Trp Xaa Glu Ala

1 5

<210> 346

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-BCAT2-1R peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is R or T

<400> 346

Gln Pro Xaa Arg Ala Leu Leu Phe Val Ile

1 5 10

<210> 347

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> BFAR peptide

<220><221> X

<222> (11)..(11)

<223> X is M or R

<400> 347

Ala Pro Asn Thr Gly Arg Ala Asn Gln Gln Xaa

1 5 10

<210> 348

<211> 11

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> C14orf169 peptide
 <220><221> X
 <222> (4)..(4)
 <223> X is A or V
 <400> 348
 Arg Pro Arg Xaa Pro Thr Glu Glu Leu Ala Leu

1 5 10
 <210> 349
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> LB-C16ORF-1R peptide
 <220><221> X
 <222> (1)..(1)
 <223> X is R or W
 <400> 349
 Xaa Pro Cys Pro Ser Val Gly Leu Ser Phe Leu

1 5 10
 <210> 350
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> C18orf21 peptide
 <220><221> X
 <222> (6)..(6)
 <223> X is A or T
 <400> 350
 Asn Pro Ala Thr Pro Xaa Ser Lys Leu

1 5
 <210> 351
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> LB-EBI3-1I peptide
 <220><221> X
 <222> (8)..(8)
 <223> X is I or V
 <400> 351

Arg Pro Arg Ala Arg Tyr Tyr Xaa Gln Val
 1 5 10

<210> 352
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> POP1 peptide
 <220><221> X
 <222> (7)..(7)
 <223> X is N or K
 <400> 352

Leu Pro Gln Lys Lys Ser Xaa Ala Leu
 1 5

<210> 353
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SCRIB peptide
 <220><221> X
 <222> (7)..(7)
 <223> X is L or P
 <400> 353

Leu Pro Gln Gln Pro Pro Xaa Ser Leu
 1 5

<210> 354
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MTRR peptide

<220><221> X

<222> (5)..(5)

<223> X is S or L

<400> 354

Ser Pro Ala Ser Xaa Arg Thr Asp Leu

1 5

<210> 355

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LLGL2

<220><221> X

<222> (5)..(5)

<223> X is R or H

<400> 355

Ser Pro Ser Leu Xaa Ile Leu Ala Ile

1 5

<210> 356

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-ECGF-1H peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is H or R

<400> 356

Arg Pro Xaa Ala Ile Arg Arg Pro Leu Ala Leu

1 5 10

<210> 357

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-ERAP1-1R peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is R or P

<400> 357

His Pro Xaa Gln Glu Gln Ile Ala Leu Leu Ala

1 5 10

<210> 358

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-ERAP1-1R peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is R or P

<400> 358

His Pro Xaa Gln Glu Gln Ile Ala Leu

1 5

<210> 359

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> LB-FUCA2-1V peptide

<220><221> X

<222> (5)..(5)

<223> X is V or M

<400> 359

Arg Leu Arg Gln Xaa Gly Ser Trp Leu

1 5

<210> 360

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-GEMIN4-1V peptide

<220><221> X

<222> (9)..(9)

<223> X is V or E

<400> 360

Phe Pro Ala Leu Arg Phe Val Glu Xaa

1 5

<210> 361

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HDGF peptide

<220>

><221> X

<222> (11)..(11)

<223> X is L or P

<400> 361

Leu Pro Met Glu Val Glu Lys Asn Ser Thr Xaa

1 5 10

<210> 362

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-PDCD11-1F peptide

<220><221> X

<222> (8)..(8)

<223> X is F or L

<400> 362

Gly Pro Asp Ser Ser Lys Thr Xaa Leu Cys Leu

1 5 10

<210> 363

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-PFAS-1P peptide

<220><221> X

<222> (2)..(2)

<223> X is P or S

<400> 363

Ala Xaa Gly His Thr Arg Arg Lys Leu

1 5

<210> 364

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-TEP1-1S peptide

<220><221> X

<222> (9)..(9)

<223> X is S or P

<400> 364

Ala Pro Asp Gly Ala Lys Val Ala Xaa Leu

1 5 10

<210> 365

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-TMEM8A-1I peptide

<220><221> X

<222> (7)..(7)

<223> X is I or V

<400> 365

Arg Pro Arg Ser Val Thr Xaa Gln Pro Leu Leu

1 5 10

<210> 366

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-USP15-1I peptide
 <220><221> X
 <222> (8)..(8)
 <223> X is I or T
 <400> 366
 Met Pro Ser His Leu Arg Asn Xaa Leu Leu
 1 5 10

<210> 367
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> LRH-1 peptide
 <400> 367
 Thr Pro Asn Gln Arg Gln Asn Val Cys

1 5
 <210> 368
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> LB-MOB3A-1C peptide
 <220><221> X
 <222> (1)..(1)
 <223> X is C or S
 <400> 368
 Xaa Pro Arg Pro Gly Thr Trp Thr Cys
 1 5

<210> 369
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> LB-ZDHC6-1Y peptide
 <220><221> X
 <222> (4)..(4)
 <223> X is Y or H

<400> 369
 Arg Pro Arg Xaa Trp Ile Leu Leu Val Lys Ile
 1 5 10

<210> 370
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ZAPHIR peptide

<400> 370
 Ile Pro Arg Asp Ser Trp Trp Val Glu Leu
 1 5 10

<210> 371
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HEATR1 peptide

<220><221> X
 <222> (7)..(7)
 <223> X is E or G

<400> 371
 Ile Ser Lys Glu Arg Ala Xaa Ala Leu
 1 5

<210> 372
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> LB-GSTP1-1V peptide

<220><221> X
 <222> (7)..(7)
 <223> X is V or I

<400> 372
 Asp Leu Arg Cys Lys Tyr Xaa Ser Leu
 1 5

<210> 373

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA-1/B60 peptide

<220><221> X

<222> (6)..(6)

<223> X is H or R

<400> 373

Lys Glu Cys Val Leu Xaa Asp Asp Leu

1 5

<210> 374

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-SON-1R peptide

<220><221> X

<222> (6)..(6)

<223> X is R or C

<400> 374

Ser Glu Thr Lys Gln Xaa Thr Val Leu

1 5

<210> 375

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-SWAP70-1Q peptide

<220><221> X

<222> (6)..(6)

<223> X is Q or E

<400> 375

Met Glu Gln Leu Glu Xaa Leu Glu Leu

1 5

<210> 376

<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> LB-TRIP10-1EPC peptide
<220><221> X
<222> (2)..(2)
<223> X is E or G

<220><221> X
<222> (3)..(3)
<223> X is P or S
<220><221> X
<222> (7)..(7)
<223> X is C or G
<400> 376

Gly Xaa Xaa Gln Asp Leu Xaa Thr Leu
1 5

<210> 377
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> LB-NUP133-1R peptide
<220><221> X
<222> (8)..(8)
<223> X is R or Q
<400> 377

Ser Glu Asp Leu Ile Leu Cys Xaa Leu
1 5

<210> 378
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> LB-ZNFX1-1Q peptide
<220><221> X

<222> (8)..(8)

<223> X is Q or H

<400> 378

Asn Glu Ile Glu Asp Val Trp Xaa Leu Asp Leu

1 5 10

<210> 379

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLC1A5 peptide

<220><221> X

<222> (3)..(3)

<223> X is A or P

<400> 379

Ala Glu Xaa Thr Ala Asn Gly Gly Leu Ala Leu

1 5 10

<210> 380

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ACC-2 peptide

<220><221> X

<222> (6)..(6)

<223> X is D or G

<400> 380

Lys Glu Phe Glu Asp Xaa Ile Ile Asn Trp

1 5 10

<210> 381

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ACC-6 peptide

<400> 381

Met Glu Ile Phe Ile Glu Val Phe Ser His Phe

1 5 10

<210> 382

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HB-1H/Y peptide

<220><221> X

<222> (8)..(8)

<223> X is H or Y

<400> 382

Glu Glu Lys Arg Gly Ser Leu Xaa Val Trp

1 5 10

<210> 383

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> DPH1 peptide

<220><221> X

<222> (2)..(2)

<223> X is V or L

<400> 383

Ser Xaa Leu Pro Glu Val Asp Val Trp

1 5

<210> 384

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> UGT2B17/A02 peptide

<400> 384

Cys Val Ala Thr Met Ile Phe Met Ile

1 5

<210> 385

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> UGT2B17/A29

<400> 385

Ala Glu Leu Leu Asn Ile Pro Phe Leu Tyr

1 5 10

<210> 386

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> UGT2B17/B44 peptide

<400> 386

Ala Glu Leu Leu Asn Ile Pro Phe Leu Tyr

1 5 10

<210> 387

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> DFFRY peptide

<220><221> X

<222> (4)..(4)

<223> X is C or S

<400> 387

Ile Val Asp Xaa Leu Thr Glu Met Tyr

1 5

<210> 388

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SMCY peptide

<400> 388

Phe Ile Asp Ser Tyr Ile Cys Gln Val

1 5

<210> 389

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TMSB4Y peptide

<400> 389

Glu Val Leu Leu Arg Pro Gly Leu His Phe Arg

1 5 10

<210> 390

<211

> 1533

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD19 CAR

<400> 390

gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gatggaactg ttaaacctct gatctacat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggaataacgc ttccgtacac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggagatcac aggcgggaggt ggaagcggag ggggaggatc tggcgcgga 360

ggaagcggag gcgaggtgaa actgcaggag tcaggacctg gcctggtggc gcctcacag 420
agcctgtccg tcacatgcac tgtctcaggg gtctcattac ccgactatgg tgtaagctgg 480
attcgcagc ctccacgaaa gggctctggag tggctgggag taatatgggg tagtgaaacc 540
acatactata attcagctct caaatccaga ctgacatca tcaaggacaa ctccaagagc 600
caagttttct taaaatgaa cagtctgcaa actgatgaca cagccattta ctactgtgcc 660
aaacattatt actacggtgg tagctatgct atggactact ggggccaagg aacctcagtc 720
accgtgtcct caaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 780

tcgcagcccc tgtccttcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 840
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatttc tgggtgctgg tcgttggtgg cggcgtgctg 900
gcctgtaca gcctgtggt gacagtggcc ttcatcatct tttgggtgag gagcaagcgg 960
agcagactgc tgcacagcga ctacatgaac atgaccccc ggaggcctgg ccccaccgg 1020
aagcactacc agccctacgc ccctcccagg gatttcgccg cctaccggag caaacggggc 1080
agaaagaaac tcctgtatat attcaaaaa ccatttatga ggccagtaca aactactcaa 1140

gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga 1200
 gtgaagttca gcaggagcgc agacgcccc gcgtacaagc agggccagaa ccagctctat 1260
 aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagcg tagaggccgg 1320
 gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg aagaacctc aggaaggcct gtacaatgaa 1380
 ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg 1440
 aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag ggactcagta cagccaccaa ggacacctac 1500
 gacgcccttc acatgcaggc cctgccccct cgc 1533

<210> 391

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR ScFv

<400> 391

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

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

 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Glu Ile Val Met Thr Gln
 130 135 140

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

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