



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년10월04일
(11) 등록번호 10-2712254
(24) 등록일자 2024년09월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/725 (2006.01) A61K 35/17 (2015.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01) C07K 14/735 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01) C07K 16/42 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 14/7051 (2013.01)
A61K 35/17 (2023.05)

(21) 출원번호 10-2019-7031539

(22) 출원일자(국제) 2018년03월26일

심사청구일자 2021년03월02일

(85) 번역문제출일자 2019년10월24일

(65) 공개번호 10-2019-0133723

(43) 공개일자 2019년12월03일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/057566

(87) 국제공개번호 WO 2018/177966

국제공개일자 2018년10월04일

(30) 우선권주장

17163090.8 2017년03월27일

유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌

WO2016040441 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

에프. 호프만-라 로슈 아게

스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라체 124

(72) 발명자

슈투벤라우히 카이-군나르

독일 82377 펜츠베르크 논넨발트 2 로세 디아그노스틱스 게엠베하 씨/오

피쓰너 에케하르트

스위스 8952 솔리렌 바기슈트라체 10 로슈 글리카트 아게 씨/오

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 22 항

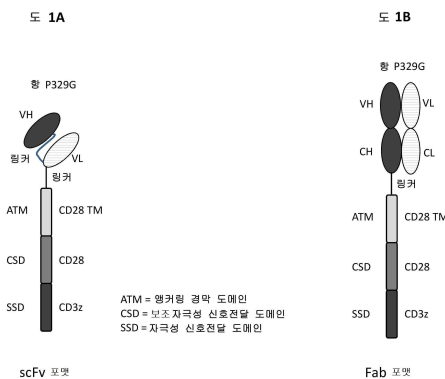
심사관 : 이미경

(54) 발명의 명칭 개선된 항원 결합 수용체

(57) 요약

본 공개는 일반적으로 Fc 수용체 결합이 감소된 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체 및 이러한 항원 결합 수용체를 발현하는 T 세포에 관한 것이다. 더욱 정확히, 본 출원은 CD28 내부 및 경막 도메인에 커플링된 CD3 세포내 도메인으로 이루어지는 조작된 Fc 수용체를 다룬다. 세포의 부분은 바람직하게는 항 Pro329Gly 항체 가변 도메인으로 이루어진다. 암 치료 및 진단에서의 용도.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/70521 (2013.01)
C07K 14/70535 (2013.01)
C07K 16/28 (2013.01)
C07K 16/2887 (2013.01)
C07K 16/3007 (2013.01)
C07K 16/40 (2013.01)
C07K 16/4283 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)

다로브스키 디아나

스위스 8952 솔리렌 바기슈트라쎄 10 로슈 글리카
트 아게 씨/오

(72) 발명자

클라인 크리스티안

스위스 8952 솔리렌 바기슈트라쎄 10 로슈 글리카
트 아게 씨/오

명세서

청구범위

청구항 1

앵커링 경막 도메인, 및 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포외 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체로서, 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 단편 결정가능 (Fc) 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 비교하여 EU 번호매김에 따른 아미노산 돌연변이 P329G 를 포함하고, 항원 결합 모이어티는 scFv 이고,

항원 결합 모이어티는 하기를 포함하는 항원 결합 수용체:

(i) 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH)

(a) 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 RYWMN (SEQ ID NO:1);

(b) CDR H2 아미노산 서열 EITPDSSTINYTPSLKD (SEQ ID NO:2); 및

(c) CDR H3 아미노산 서열 PYDYGAWFAS (SEQ ID NO:3); 및

(ii) 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)

(d) 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:4);

(e) CDR L2 아미노산 서열 GTNKRAP (SEQ ID NO:5); 및

(f) CDR L3 아미노산 서열 ALWYSNHWV (SEQ ID NO:6).

청구항 2

제 1 항에 있어서, 돌연변이된 Fc 도메인의 Fc 수용체 결합은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인의 Fc 수용체 결합과 비교하여 감소되는 항원 결합 수용체.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 앵커링 경막 도메인은 CD8, CD3z, FCGR3A, NKG2D, CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 경막 도메인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 경막 도메인인 항원 결합 수용체.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 자극성 신호전달 도메인 및/또는 보조자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함하는 항원 결합 수용체.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 자극성 신호전달 도메인은 CD3z, FCGR3A 및 NKG2D 의 세포내 도메인으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택되는 항원 결합 수용체.

청구항 6

제 4 항에 있어서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12 의 세포내 도메인으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택되는 항원 결합 수용체.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 항원 결합 수용체는 CD28 의 세포내 도메인을 포함하는 하나의 자극성 신호전달 도메인을 포함하고, 항원 결합 수용체는 CD3z 의 세포내 도메인을 포함하는 하나의 보조자극성 신호전달 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체.

청구항 8

제 1 항에 있어서, scFv 는 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에 연결되는 항원 결합 수용체.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

청구항 10

제 9 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터.

청구항 11

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포.

청구항 12

하기를 포함하는, 암의 치료에서 사용하기 위한 키트:

- (A) 제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포; 및
- (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;

여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.

청구항 13

하기를 포함하는, 암의 치료에서 사용하기 위한 키트:

- (A) 제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드; 및
- (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;

여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.

청구항 14

제 12 항에 있어서, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 섬유아세포 활성화 단백질 (FAP), 암배 항원 (CEA), 메소텔린 (MSLN), CD20, 폴레이트 수용체 1 (FOLR1), 및 테나신 (TNC) 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원에 특이적 결합을 할 수 있는 키트.

청구항 15

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 암의 치료에서 사용하기 위한 항원 결합 수용체로서, 치료는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포의 투여를 포함하며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 항원 결합 수용체.

청구항 16

제 11 항에 있어서, 암의 치료에서 사용하기 위한 형질도입된 T 세포로서, 치료는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포의 투여를 포함하며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 형질도입된 T 세포.

청구항 17

제 2 항에 있어서, Fc 수용체는 Fc γ 수용체 또는 신생아 Fc 수용체 (FcRn) 인 항원 결합 수용체.

청구항 18

제 3 항에 있어서, 앵커링 경막 도메인은 CD28 경막 도메인인 항원 결합 수용체.

청구항 19

제 5 항에 있어서, 자극성 신호전달 도메인은 CD3z 세포내 도메인인 항원 결합 수용체.

청구항 20

제 6 항에 있어서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD28 세포내 도메인인 항원 결합 수용체.

청구항 21

제 8 항에 있어서, scFv 는 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에 펩티드 링커를 통해 연결되는 항원 결합 수용체.

청구항 22

제 13 항에 있어서, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 섬유아세포 활성화 단백질 (FAP), 암배 항원 (CEA), 메소텔린 (MSLN), CD20, 플레이트 수용체 1 (FOLR1), 및 테나신 (TNC) 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원에 특이적 결합을 할 수 있는 키트.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 일반적으로 Fc 수용체 결합이 감소된 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체 및 이러한 항원 결합 수용체를 발현하는 T 세포에 관한 것이다. 더욱 정확히, 본 발명은 치료적 항체의 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적으로 결합/그와 상호작용함으로써 동원되는 항원 결합 수용체로 형질감염된/형질도입된, T 세포에 관한 것이다. 게다가, 본 발명은 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현하는 본 발명의 T 세포 및/또는 핵산 분자, 벡터 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 종양 표적화 항체/항체들을 포함하는 키트에 관한 것이다. 본 발명은 또한 종양-특이적 항체와 함께 특정 질환의 치료 방법에서의 T 세포의 생산 및 용도 뿐만 아니라 T 세포 및/또는 치료적 항체를 포함하는 약학 조성물/약제를 제공하며, 여기에서 T 세포는

[0001]

Fc 수용체 결합이 감소된 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적-종양 표적화 항체/항체들과의 조합으로 투여된다.

배경 기술

[0002] 양자 T 세포 요법 (adoptive T cell therapy) (ACT) 은 암-특이적 T 세포를 사용하는 강력한 치료 접근법이다 (Rosenberg and Restifo, Science 348(6230) (2015), 62-68). ACT 은 T 세포 또는 키메라 항원 수용체를 사용하는 유전자 조작에 의해 특이적으로 만든 T 세포 또는 자연 발생 종양-특이적 세포를 사용할 수 있다 (Rosenberg and Restifo, Science 348(6230) (2015), 62-68). ACT 은 후기 및 아니면 난치성 질환 예컨대 급성 림프성 백혈병, 비호지킨 림프종 또는 흑색종을 앓는 환자에서도 성공적으로 치료할 수 있고 차도를 유도할 수 있다 (Dudley et al., J Clin Oncol 26(32) (2008), 5233-5239; Grupp et al., N Engl J Med 368 (16) (2013), 1509-1518; Kochenderfer et al., J Clin Oncol. (2015) 33(6):540-549, doi: 10.1200/JCO.2014.56.2025. Epub 2014 Aug 25).

[0003] 그러나, 인상 깊은 임상 효능에도 불구하고, ACT 은 치료-관련 독성에 의해 제한된다. ACT 에서 사용되는 조작된 T 세포의 특이성, 및 결과적인 온-타겟 및 오프-타겟 효과는 주로 키메라 항원 수용체 (chimeric antigen receptor) (CAR) 에서 구현되는 종양 표적화 항원 결합 모이어티에 의해 추진된다. 종양 항원의 비-배타적 발현 또는 발현 수준의 일시적 차이는 치료의 용인될 수 없는 독성으로 인해 심각한 부작용 또는 심지어는 ACT 의 중단을 초래할 수 있다.

[0004] 부가적으로, 효율적 종양 세포 용해를 위한 종양-특이적 T 세포의 이용가능성은 생체내에서 조작된 T 세포의 장기간 생존 및 증식 능력에 의존적이다. 다른 한편으로는, T 세포의 생체내 생존 및 증식은 제어되지 않는 CAR-T 응답의 지속성으로 인해 원치 않는 장기간 효과를 초래될 수 있다 (Grupp et al. 2013 N Engl J Med 368(16):1509-18, Maude et al. 2014 2014 N Engl J Med 371(16):1507-17).

[0005] 심각한 치료 관련 독성을 제한하고 ACT 의 안전성을 개선하기 위한 하나의 접근법은 어답터 분자를 면역학적 시냅스에 도입함으로써 CAR-T 세포의 활성화 및 증식을 제한하는 것이다. 그러한 어답터 분자는 소분자 바이모듈 스위치 (bimodular switch) 예를 들어 최근에 기술된 플레이트-FITC 스위치 (Kim et al. J Am Chem Soc 2015; 137:2832-2835) 를 포함한다. 추가의 접근법은 표적 종양 세포에 대한 CAR-T 세포의 특이성을 안내 및 유도하는 태그를 포함하는 인공적으로 변형된 항체를 포함했다 (Ma et al. PNAS 2016; 113(4):E450-458, Cao et al. Angew Chem 2016; 128:1-6, Rogers et al. PNAS 2016; 113(4):E459-468, Tamada et al. Clin Cancer Res 2012; 18(23):6436-6445).

[0006] 그러나, 기존의 접근법은 여러 제약을 갖는다. 분자 스위치에 의존하는 면역학적 시냅스는 면역 반응을 유발하거나 또는 비특이적 오프-타겟 효과를 초래할 수 있는 부가적 요소의 도입을 요구한다. 게다가, 그러한 다성분 시스템의 복잡성은 치료 효능 및 용인성을 제한할 수 있다. 다른 한편으로는, 기존 치료적 모노클로날 항체에 태그 구조의 도입은 이러한 구성체의 효능 및 안전성 프로파일에 영향을 미칠 수 있다.

[0007] 따라서, 표적화 종양 요법, 특히 양자 T 세포 요법은 암 환자의 필요를 충족시키기 위해서 개선될 필요가 있다. 따라서, ACT 의 안전성 및 효능을 개선시키고 상기 단점들을 극복할 잠재성을 갖는 개선된 수단을 제공하는 것이 여전히 요구된다.

발명의 내용

[0008] 본 발명은 일반적으로 Fc 수용체 결합이 감소된 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체 및 이러한 항원 결합 수용체를 발현하는 T 세포에 관한 것이다.

[0009] 하나의 양태에서 본 발명은 앵커링 경막 도메인, 및 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체에 관한 것이며, 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 단편 결정가능 (fragment crystallizable) (Fc) 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함한다.

[0010] 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인의 Fc 수용체 결합은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인의 Fc 수용체 결합과 비교하여 감소되며, 특히 Fc 수용체는 Fc γ 수용체 또는 신생아 Fc 수용체 (neonatal Fc receptor) (FcRn) 이다. 하나의 실시형태에서, Fc 수용체 결합은 표면 플라스몬 공명 (Surface Plasmon Resonance)

(SPR) 에 의해 25℃ 에서 측정된다.

- [0011] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 scFv, Fab, crossFab, 또는 scFab 이다. 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 scFv 이다. 또다른 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 Fab 또는 crossFab 이다.
- [0012] 하나의 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD8, CD3z, FCGR3A, NKG2D, CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 경막 도메인 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 경막 도메인이다.
- [0013] 하나의 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD28 경막 도메인이며, 특히 앵커링 경막 도메인은 SEQ ID NO:11 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0014] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인 및/또는 적어도 하나의 보조 자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 CD3z, FCGR3A 및 NKG2D 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 CD3z 의 세포내 도메인의 단편이며, 특히 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 SEQ ID NO:13 의 아미노산 서열을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 보조자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 보조자극성 신호전달 도메인은 CD28 세포내 도메인의 단편이다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 CD3z 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편을 포함하는 하나의 자극성 신호전달 도메인을 포함하고, 항원 결합 수용체는 CD28 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편을 포함하는 하나의 보조자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 자극성 신호전달 도메인은 SEQ ID NO:13 의 아미노산 서열을 포함하고, 보조자극성 신호전달 도메인은 SEQ ID NO:12 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0015] 하나의 실시형태에서, 세포의 도메인은 앵커링 경막 도메인으로, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결된다. 하나의 실시형태에서, 펩티드 링커는 아미노산 서열 GGGGS (SEQ ID NO:17) 을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 공-신호전달 도메인에 또는 신호전달 도메인에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결된다. 하나의 실시형태에서, 신호전달 및/또는 공-신호전달 도메인은, 임의로 적어도 하나의 펩티드 링커를 통해, 연결된다.
- [0016] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 scFv 단편이며, scFv 단편은 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결된다.
- [0017] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 Fab 단편 또는 crossFab 단편이며, Fab 또는 crossFab 단편은 중쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결된다.
- [0018] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하나의 공-신호전달 도메인을 포함하며, 공-신호전달 도메인은 N-말단에서 앵커링 경막 도메인의 C-말단으로 연결된다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하나의 자극성 신호전달 도메인을 포함하며, 자극성 신호전달 도메인은 N-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 C-말단으로 연결된다.
- [0019] 하나의 실시형태에서, 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG4 Fc 도메인, 특히 인간 IgG1 Fc 도메인이다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 L234, L235, I253, H310, P331, P329 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이를 포함하며, 특히 아미노산 돌연변이는 L234A, L235A, I253A, N297A, H310A, P329G 및/또는 H435A 이다.
- [0020] 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 L234, L235 및 P329 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 특히 아미노산 돌연변이 L234A, L235A 및 P329G ("PGLALA") 를 포함한다.
- [0021] 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 아미노산 돌연변이 P329G 를 포함하며, 돌연변이된 Fc 도메인의 Fc γ 수용체 결합은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인의 Fc γ 수용체 결합과 비교하여 감소되며, 특히 Fc γ 수용체는 인간 Fc γ RIIIa 및/또는 Fc γ RIIa 이다.
- [0022] 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 I253, H310 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 특히 아미노산 돌연변이 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 를 포함하며, 돌연변이된 Fc 도메인의 FcRn 결합은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인의 FcRn 결합과

비교하여 감소된다.

[0023] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 항원 결합 모이어티는 하기를 포함한다:

[0024] (i) 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH)

[0025] (a) 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 RYWMN (SEQ ID NO:1);

[0026] (b) CDR H2 아미노산 서열 EITPDSSTINYTPSLKD (SEQ ID NO:2); 및

[0027] (c) CDR H3 아미노산 서열 PYDYGAWFAS (SEQ ID NO:3); 및

[0028] (ii) 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)

[0029] (d) 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:4);

[0030] (e) CDR L2 아미노산 서열 GTNKRAP (SEQ ID NO:5); 및

[0031] (f) CDR L3 아미노산 서열 ALWYSNHWV (SEQ ID NO:6).

[0032] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:8 및 SEQ ID NO:32 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH), 및 SEQ ID NO:9 및 SEQ ID NO:33 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.

[0033] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:8 의 중쇄 가변 영역 (VH) 및 SEQ ID NO:9 의 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.

[0034] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 이며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:7 및 SEQ ID NO:31 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:7 의 아미노산 서열을 포함한다.

[0035] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 Fab 단편이며, 항원 결합 수용체는 하기를 포함한다:

[0036] a) SEQ ID NO:39 및 SEQ ID NO:48 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 융합체 폴리펩티드; 및

[0037] b) SEQ ID NO:41 및 SEQ ID NO:50 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 폴리펩티드.

[0038] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하기를 포함한다:

[0039] a) SEQ ID NO:39 의 중쇄 융합체 폴리펩티드; 및

[0040] b) SEQ ID NO:41 의 경쇄 폴리펩티드.

[0041] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 항원 결합 모이어티는 하기를 포함한다:

[0042] (i) 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH)

[0043] (a) 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 SYGMS (SEQ ID NO:53);

[0044] (b) CDR H2 아미노산 서열 SSGGSY (SEQ ID NO:54); 및

- [0045] (c) CDR H3 아미노산 서열 LGMITGYAMDY (SEQ ID NO:55); 및
- [0046] (ii) 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)
- [0047] (d) 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSQTIHVHSTGHTYLE (SEQ ID NO:56);
- [0048] (e) CDR L2 아미노산 서열 KVSNRFS (SEQ ID NO:57); 및
- [0049] (f) CDR L3 아미노산 서열 FQGSHVPTY (SEQ ID NO:58).
- [0050] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:61 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 SEQ ID NO:62 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.
- [0051] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 하기를 포함한다:
- [0052] a) SEQ ID NO:61 의 중쇄 가변 영역 (VH); 및
- [0053] b) SEQ ID NO:62 의 경쇄 가변 영역 (VL).
- [0054] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 이며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:59 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:59 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0055] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 Fab 단편이며, 항원 결합 수용체는 하기를 포함한다:
- [0056] a) SEQ ID NO:39 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 융합체 폴리펩티드; 및
- [0057] b) SEQ ID NO:41 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 폴리펩티드.
- [0058] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하기를 포함한다:
- [0059] a) SEQ ID NO:39 의 중쇄 융합체 폴리펩티드; 및
- [0060] b) SEQ ID NO:41 의 경쇄 폴리펩티드.
- [0061] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드이다. 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체의 중쇄 융합체 폴리펩티드 또는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드이다. 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 중쇄 융합체 폴리펩티드를 인코딩하는 제 1 단리된 폴리뉴클레오티드, 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 제 2 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 인코딩하는 조성물이다.
- [0062] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 본원에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오티드에 의해 또는 본원에 기재된 바와 같은 조성물에 의해 인코딩되는 폴리펩티드이다.
- [0063] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 본원에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오티드(들)을 포함하는 벡터, 특히 발현 벡터이다.
- [0064] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 본원에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오티드(들) 또는 본원에 기재된 바와 같은 벡터를 포함하는 형질도입된 T 세포이다. 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포이다. 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 본원에 기재된 바와 같은 형질도입된 T 세포이며, 형질도입된 T 세포는 표적 항원에 특이적 결합을 할 수 있는 T 세포 수용체 (TCR) 로 동시형질도입된다.

- [0065] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 하기를 포함하는 키트이다:
- [0066] (A) 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포; 및
- [0067] (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;
- [0068] 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.
- [0069] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 하기를 포함하는 키트이다:
- [0070] (A) 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드; 및
- [0071] (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;
- [0072] 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.
- [0073] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 하기를 포함하는 키트이다:
- [0074] (A) 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 인코딩하는 본원에 기재된 바와 같은 조성물 또는 벡터; 및
- [0075] (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;
- [0076] 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.
- [0077] 하나의 실시형태에서, 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG4 Fc 도메인, 특히 인간 IgG1 Fc 도메인이다. 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 EU 번호매김에 따른 L234, L235, I253, H310, P331, P329 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인이며, 특히 아미노산 돌연변이는 L234A, L235A, I253A, N297A, H310A, P329G 및/또는 H435A 이다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 L234, L235 및 P329 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 특히 아미노산 돌연변이 L234A, L235A 및 P329G ("PGLALA") 를 포함한다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 아미노산 돌연변이 P329G 를 포함한다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 I253, H310 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 특히 아미노산 돌연변이 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 를 포함한다.
- [0078] 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 종양 세포의 표면 상의 항원에 및/또는 인간 주요 조직적합 복합체 (MHC) 의 분자에 결합된 펩티드에 특이적 결합을 할 수 있으며, 특히 항원은 FAP, CEA, p95, BCMA, EpCAM, MSLN, MCSP, HER-1, HER-2, HER-3, CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, CD52F1t3, FOLR1, Trop-2, CA-12-5, HLA-DR, MUC-1 (뮤신), A33-항원, PSMA, PSCA, 트랜스페린-수용체, TNC (테나신) 및 CA-IX 로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 섬유아세포 활성화 단백질 (fibroblast activation protein) (FAP), 암배 항원 (carcinoembryonic antigen) (CEA), 메소텔린 (mesothelin) (MSLN), CD20, 폴레이트 수용체 1 (folate receptor 1) (FOLR1) 및 테나신 (tenascin) (TNC) 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원에 특이적 결합을 할 수 있다.
- [0079] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 약제로서 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 키트이다.
- [0080] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 약제로서 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체 또는 형질도입된 T 세포이며, 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없다.
- [0081] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 악성 질환의 치료에서 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 키트이다. 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 악성 질환의 치료에서 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체 또는 형질도입된 T 세포이며, 치료는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포의 투여를 포함하며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없다.

- [0082] 하나의 실시형태에서, 상기 악성 질환은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암으로부터 선택된다.
- [0083] 하나의 실시형태에서, 형질도입된 T 세포는 치료될 대상체로부터 단리된 세포에서 유래한다. 하나의 실시형태에서, 형질도입된 T 세포는 치료될 대상체로부터 단리된 세포에서 유래하지 않는다.
- [0084] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 대상체에서 질환을 치료하는 방법이며, 이 방법은 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포를 투여하는 것 및 형질도입된 T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 치료적 유효량의 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체를 투여하는 것을 포함하며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없다. 하나의 실시형태에서, T 세포는 부가적으로 대상체로부터 단리되고, 형질도입된 T 세포는 단리된 T 세포를 본원에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오티드, 조성물 또는 벡터로 형질도입함으로써 생성된다. 하나의 실시형태에서, T 세포는 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터 구성체로 또는 비-바이러스 벡터 구성체로 형질도입된다. 하나의 실시형태에서, 비-바이러스 벡터 구성체는 슬리핑 뷰티 미니서클 벡터 (sleeping beauty minicircle vector) 이다.
- [0085] 하나의 실시형태에서, 형질도입된 T 세포는 대상체에게 정맥내 주입에 의해 투여된다. 하나의 실시형태에서, 형질도입된 T 세포는 대상체에게 투여에 앞서 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체와 접촉된다. 하나의 실시형태에서, 형질도입된 T 세포는 대상체에게 투여에 앞서 적어도 하나의 사이토카인과, 바람직하게는 인터류킨-2 (IL-2), 인터류킨-7 (IL-7), 인터류킨-15 (IL-15), 및/또는 인터류킨-21, 또는 그의 변이체와 접촉된다.
- [0086] 하나의 실시형태에서, 질환은 악성 질환이다. 하나의 실시형태에서, 악성 질환은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암으로부터 선택된다.
- [0087] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 표적 세포의 용해를 유도하는 방법이며, 이 방법은 표적 세포를 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 존재 하에 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없다.
- [0088] 하나의 실시형태에서, 표적 세포는 암 세포이다. 하나의 실시형태에서, 표적 세포는 FAP, CEA, p95, BCMA, EpCAM, MSLN, MCSP, HER-1, HER-2, HER-3, CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, CD52F1t3, FOLR1, Trop-2, CA-12-5, HLA-DR, MUC-1 (뮤신), A33-항원, PSMA, PSCA, 트랜스페린-수용체, TNC (테나신) 및 CA-IX 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원을 발현한다. 하나의 실시형태에서, 표적 세포는 암배 항원 (CEA), 메소텔린 (MSLN), CD20, 폴레이트 수용체 1 (FOLR1), 및 테나신 (TNC) 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원을 발현한다.
- [0089] 하나의 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오티드 또는 형질도입된 T 세포는 약제의 제조를 위해 사용된다. 하나의 실시형태에서, 약제는 악성 질환의 치료를 위한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0090] 도 1 은 본 발명에 따른 예시적 항원 결합 수용체의 구조를 나타낸다. 도 1A 는 항-P329G-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 포맷 및 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 포맷의 구조를 보여준다. 보여지는 것은 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포외 도메인이다. 항원 결합 모이어티는 가변 중쇄 및 가변 경쇄로 이루어진다. 둘 모두 (Gly₄Ser)₄ 링커에 의해 연결된다. 가변 경쇄에 부착된, Gly₄Ser 링커는 항원 인지 도메인을 CD28 경막 도메인 (transmembrane domain) (TM) 과 연결시키고, CD28 경막 도메인 (TM) 은 CD28 의 세포내 보조자극성 신호전달 도메인 (co-stimulatory signaling domain) (CSD) 에 융합되고, CD28 의 세포내 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 은 결국 CD3z 의 자극성 신호전달 도메인 (stimulatory signaling domain) (SSD) 에 융합된다. 도 1B 는 항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 및 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 포맷의 구조를 보여준다. 보여지는 것은 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포외 도메인이다. 항원 결합 모이어티는 Ig 중쇄 및 Ig 경쇄로 이루어진다. 중쇄에 부착된, Gly₄Ser 링커는 항원 인지 도메인을 CD28 경막 도메인과 연결시키고, CD28 경막 도메인은 CD28 의 세포내 보조자극성 신호전달 도메인에 융합되고, CD28 의 세포내 보조자극성 신호전달 도메인은 결국 CD3z 의 자극성 신호전달 도메인에 융합된다.

도 2 는 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 예시적 발현 구성체의 모듈 조성을 예시하는 도해적 표현을 나타낸다. 도 2A 는 P329G-표적화 scFv 포맷을 나타낸다. 도 2B 는 P329G-표적화 Fab 포맷을 나타낸다.

도 3 는 본 발명의 항-P329G 항원 결합 수용체에 의해 인지되는 P329G 돌연변이를 Fc 도메인에 보유하는 예시적 IgG1 분자를 나타낸다.

도 4 는 P329G 돌연변이를 보유하는 종양 관련 항원 (tumor associated antigen) (TAA) 결합된 IgG 의 도해적 표현을 나타낸다. 이러한 항체는 결국 항-P329G 항원 결합 수용체 발현 T 세포에 의해 인지될 수 있으며, 그에 의해 T 세포가 활성화된다.

도 5 는 저카트 (Jurkat) NFAT T 세포 리포터 어세이의 도해적 표현을 보여준다. P329G 돌연변이를 보유하는 TAA 결합된 IgG 는 항-P329G 항원 결합 수용체 발현 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지될 수 있다. 이러한 인지는 세포의 활성화를 초래하며, 활성화는 발광 (cps) 을 측정함으로써 검출될 수 있다.

도 6 은 CD20 발현 SUDHL4 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. P329G 돌연변이를 보유하는 항-CD20 IgG 항체 (GA101) 를 사용했으며, 이는 한편으로는 종양 관련 항원을 인지하고 다른 한편으로는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 도 6A 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 분류된 풀 (sorted pool) 을 이펙터 세포로서 사용했다. 도 6B 에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다.

도 7 은 CD20 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. P329G 돌연변이를 보유하는 항-CD20 IgG 항체 (GA101) 를 사용했으며, 이는 종양 관련 항원을 인지하고 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 도 7A 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 단일 클론 5 를 이펙터 세포로서 사용하고, WSUDLCL2 세포를 종양 세포로서 사용했다. 도 7B 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 단일 클론 2 를 이펙터 세포로서 사용하고, WSUDLCL2 세포를 종양 세포로서 사용했다. 도 7C 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 단일 클론 5 를 이펙터 세포로서 사용하고, SUDHL4 세포를 종양 세포로서 사용했다. 도 7D 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 단일 클론 2 를 이펙터 세포로서 사용하고, SUDHL4 를 종양 세포로서 사용했다.

도 8 은 부착성 FAP 발현 NIH/3T3-huFAP c1 19 종양 세포를 표적 세포로서 사용하여 수행된 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. P329G 돌연변이를 보유하는 항-FAP IgG 항체 클론 4B9 를 사용했으며, 이는 종양 관련 항원을 인지하고 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다.

P329G 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 (isotype) 대조군으로서 포함시켰다. 도 8A 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다.

도 8B 에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다. 도 8C 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다. 도 8D 에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다.

도 9 는 부착성 CEA 발현 MKN45 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. 둘 모두 P329G 돌연변이를 보유하는 항-CEA IgG 클론 A5B7 또는 항-CEA IgG 클론 T84 LCHA 를 사용했으며, 이는 종양 관련 항원을 인지하고 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 추가로 P329G 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다. 도 9A 및 도 9B 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다. 도 9C 및 도 9D 에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다.

도 10 은 부착성 CEA 발현 MKN45 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. 둘 모두 P329G 돌연변이를 보유하는 항-CEA 클론 CH1A1A 98 99 또는 항-CEA IgG 클론 hMN14 IgG 를 사용했으며, 이는 종양 관련 항원을 인지하고 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 추가로 P329G 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다.

도 10A 및 도 10B 에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터

세포로서 사용했다. 도 10C 및 도 10D 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다.

도 11 은 부착성 TNC 발현 CT26TNC c1 19 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. P329G 돌연변이를 보유하는 항-TNC IgG 클론 A2B10 을 IgG 항체로서 사용했으며, 이는 종양 관련 항원을 인지하고 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 추가로 P329G 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다. 도 11A 및 도 11B 에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다. 도 11C 및 도 11D 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다.

도 12A 및 도 12B 는 부착성 TNC 발현 CT26TNC c1 19 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. P329G 돌연변이를 보유하는 항-TNC IgG 클론 A2B10 을 사용했으며, 이는 종양 관련 항원을 인지하고 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 추가로 P329G 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다. 항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 분류된 풀을 이펙터 세포로서 사용했다.

도 13 은 CD20 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. 종양 관련 항원을 검출하기 위해서 P329G 및 LALA 돌연변이, P329G 및 D265A 돌연변이, LALA 돌연변이 단독을 보유하거나 또는 돌연변이를 전혀 보유하지 않는 항-CD20 IgG 항체 (GA101) 를 사용했으며, 이는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 도 13A 에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 풀을 이펙터 세포로서 사용하고, SUDHL4 세포를 종양 세포로서 사용했다. 도 13B 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 풀을 이펙터 세포로서 사용하고, SUDHL4 세포를 종양 세포로서 사용했다.

도 14 는 CD20 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이를 나타낸다. 종양 관련 항원을 검출하기 위해서 P329G 및 LALA 돌연변이, P329G 돌연변이 단독, LALA 돌연변이 단독을 보유하거나 또는 돌연변이를 전혀 보유하지 않는 항-CD20 IgG 항체 (GA101) 를 사용했으며, 이는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 도 14A 에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 풀을 이펙터 세포로서 사용하고, SUDHL4 세포를 종양 세포로서 사용했다.

도 14B 에서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 풀을 이펙터 세포로서 사용하고, SUDHL4 세포를 종양 세포로서 사용했다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0091] 상세한 설명

[0092] 정의

[0093] 용어는 하기에 달리 정의하지 않으면, 당해 기술분야에서 일반적으로 사용되는 바와 같이 본원에서 사용된다.

[0094] "활성화 Fc 수용체" 는 항체의 Fc 도메인에 의한 관여 이후에 수용체-보유 세포를 자극하여 이펙터 기능을 수행하게 하는 신호전달 사건을 유발시키는 Fc 수용체이다. 인간 활성화 Fc 수용체는 Fc γ R11a (CD16a), Fc γ RI (CD64), Fc γ R11a (CD32), 및 Fc α RI (CD89) 를 포함한다.

[0095] 항체-의존적 세포-매개 세포독성 ("ADCC") 은 면역 이펙터 세포에 의해 항체-코팅된 표적 세포의 용해를 야기시키는 면역 기전이다. 표적 세포는 일반적으로 Fc 영역의 N-말단인 단백질 부분을 통해서, Fc 영역을 포함하는 항체 또는 이의 유도체가 특이적으로 결합하는 세포이다. 본원에서 사용되는 용어 "감소된 ADCC" 는 상기 정의된 ADCC 의 기전에 의해 표적 세포 주변 배지 중 항체의 소정 농도에서, 소정 시점에 용해되는 표적 세포의 개수의 감소, 및/또는 ADCC 의 기전에 의해 소정 시점에 표적 세포의 소정 개수의 용해를 달성하는데 요구되는 표적 세포 주변의 배지 중 항체의 농도 증가로서 정의된다. ADCC 의 감소는 돌연변이되지 않았지만, (당업자에게 알려진) 동일한 표준 제조, 정제, 제제화 및 저장 방법을 사용하여, 동일한 유형의 숙주 세포에 의해 생성되는 동일 항체에 의해 매개된 ADCC 에 대한 것이다. 예를 들어, ADCC 를 감소시키는 아미노산 돌연변이를 이의 Fc 도메인에 포함하는 항체에 의해 매개되는 ADCC 의 감소는 Fc 도메인 내 이러한 아미노산 돌연변이가 없는 동일 항체에 의해 매개되는 ADCC 에 비해서이다. ADCC 를 측정하기 위한 적합한 어세이는 당해 기술분야에 잘 알려져 있다 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2006/082515 또는 PCT 공개 번호 WO 2012/130831).

- [0096] 작용제 (예를 들어, 항체) 의 "유효량" 은 투여되는 세포 또는 조직에서 생리적 변화를 야기시키는데 필요한 양을 의미한다.
- [0097] "친화도" 는 분자의 단일 결합 부위 (예를 들어, 수용체) 및 이의 결합 파트너 (예를 들어, 리간드) 사이의 비공유적 상호작용의 총합의 강도를 의미한다. 달리 표시하지 않으면, 본원에서 사용되는 "결합 친화도" 는 결합쌍의 구성원 (예를 들어, 항원 결합 모이어티 및 항원 및/또는 수용체 및 이의 리간드) 간 1:1 상호작용을 반영하는 고유한 결합 친화도를 의미한다. 이의 파트너 Y 에 대한 분자 X 의 친화도는 일반적으로, 해리 및 결합 속도 상수 (각각 k_{off} 및 k_{on}) 의 비율인, 해리 상수 (K_D) 로 표시될 수 있다. 따라서, 당량의 친화도는 속도 상수의 비율이 동일하게 남아있는 한, 상이한 속도 상수를 포함할 수 있다. 친화도는 본원에 기술된 것들을 포함하여, 당해 기술분야에 알려진 충분히-확립된 방법으로 측정될 수 있다. 친화도를 측정하기 위해 바람직한 방법은 표면 플라즈몬 공명법 (SPR) 이고 측정에 바람직한 온도는 25°C 이다.
- [0098] 용어 "아미노산" 은 천연 발생 및 합성 아미노산 뿐만 아니라, 천연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 의미한다. 천연 발생 아미노산은 유전자 코드에 의해 인코딩되는 것을 비롯하여, 예를 들어 히드록시프롤린, γ -카르복시글루타메이트, 및 0-포스포세린으로 이후에 변형되는 아미노산이다. 아미노산 유사체는 천연 발생 아미노산으로서 동일한 기본 화학 구조, 즉 수소, 카르복실 기, 아미노 기, 및 R 기에 결합된 α 탄소를 갖는 화합물, 예를 들어 호모세린, 노르류신, 메티오닌 술포시드, 메티오닌 메틸 술포늄을 의미한다. 이러한 유사체는 변형된 R 기 (예를 들어, 노르류신) 또는 변형된 펩티드 골격을 갖지만, 천연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조는 유지한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만, 천연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화학적 화합물을 의미한다. 아미노산은 그들의 통상적으로 알려진 3글자 기호를 통해서 또는 IUPAC-IUB 생화학 명명법 위원회가 추천하는 1글자 기호를 통해 본원에서 언급될 수 있다.
- [0099] 본원에서 사용되는 용어 "아미노산 돌연변이" 는 아미노산 치환, 결실, 삽입 및 변형을 포괄하는 의미이다. 치환, 결실, 삽입 및 변형의 임의 조합은 최종 구성체에 도달하게 할 수 있고, 단 최종 구성체는 바람직한 특성, 예를 들어 Fc 수용체에 대한 감소된 결합을 보유한다. 아미노산 결실 및 삽입은 아미노산의 아미노-말단 및/또는 카복시-말단 결실 및 삽입을 포함한다. 특정한 아미노산 돌연변이는 아미노산 치환이다. 예를 들어, Fc 영역의 결합 특성을 변경하기 위한 목적을 위해, 비보존성 아미노산 치환, 즉 한 아미노산을 상이한 구조적 및/또는 화학적 특성을 갖는 다른 아미노산으로의 치환이 특히 바람직하다. 아미노산 치환은 비천연 발생 아미노산 또는 20 개 표준 아미노산의 천연 발생 아미노산 유도체 (예를 들어, 4-히드록시프롤린, 3-메틸히스티딘, 오르니틴, 호모세린, 5-히드록시리신) 에 의한 치환을 포함한다. 아미노산 돌연변이는 당해 기술분야에 충분히 알려진 유전자 또는 화학 방법을 사용해 생성시킬 수 있다. 유전자 방법은 부위-지정 돌연변이 유발법, PCR, 유전자 합성 등을 포함할 수 있다. 유전자 조작 이외의 방법에 의한 아미노산의 측쇄기를 변경시키는 방법, 예컨대 화학적 변형이 또한 유용할 수 있다는 것을 고려한다. 동일한 아미노산 돌연변이를 표시하기 위해 본원에서 다양한 명명법이 사용될 수 있다. 예를 들어, Fc 도메인의 위치 329 의 프롤린의 글리신으로의 치환은 329G, G329, G₃₂₉, P329G, 또는 Pro329Gly 로서 표시될 수 있다.
- [0100] 본원에서 용어 "항체" 는 광범위한 의미로 사용되고, 제한없이 그들이 바람직한 항원-결합 활성을 나타내는 한, 단일클론 항체, 다클론 항체 및 항체 단편을 포함한, 다양한 항체 구조를 포괄한다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 용어 항체는 전체 면역글로불린 분자를 비롯하여 이러한 면역글로불린 분자의 일부에 관한 것이다. 뿐만 아니라, 이 용어는 본원에서 논의되는 바와 같이, 변형 및/또는 변경된 항체 분자, 특히 돌연변이된 항체 분자에 관한 것이다. 이 용어는 또한 재조합적으로 또는 합성적으로 생성/합성된 항체에 관한 것이다. 본 발명의 맥락에서, 용어 항체는 용어 면역글로불린과 호환되게 사용된다.
- [0101] "항체 단편" 은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부분을 포함하는 온전한 항체 이외의 분자를 의미한다. 항체 단편의 예는 제한없이 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, 디아바디, 선형 항체, 단쇄 항체 분자 (예를 들어, scFv), 및 단일-도메인 항체를 포함한다. 일정한 항체 단편의 고찰을 위해서, 문헌 [Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)] 을 참조한다. scFv 단편의 고찰을 위해, 예를 들어, 문헌 [Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibody, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)] 를 참조하고, 또한 WO 93/16185; 및 미국 특허 출원 제5,571,894호 및 제5,587,458호를 참조한다. 디아바디는 2가 또는 이특이적일 수 있는 2 개 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, EP 404,097; WO 1993/01161; [Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)]; 및 [Hollinger et al., Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993)] 를 참조한다. 트리아바디 및 테트라바

다가 또한 문헌 [Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)] 에 기술되어 있다. 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부분 또는 항체의 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부분을 포함하는 항체 단편이다 (Domantis, Inc., Waltham, MA; 예를 들어, 미국 특허 제6,248,516호 B1 참조). 항체 단편은 본원에 기술된 바와 같이, 제한없이 온전한 항체의 단백질가수분해적 분해를 비롯하여 재조합 숙주 세포 (예를 들어, 이. 콜라이 또는 파지) 에 의한 생산을 포함한, 다양한 기술로 제조될 수 있다.

[0102] 본원에 기술된 바와 같이, 용어 "항원 결합 분자" 는 이의 광범위한 의미로 항원 결정기에 특이적으로 결합하는 분자를 의미한다. 항원 결합 분자의 예는 면역글로불린 및 유도체, 예를 들어 이의 단편을 비롯해 항원 결합 수용체 및 이의 유도체를 의미한다.

[0103] 본원에서 사용되는 용어 "항원 결합 모이어티" 는 항원 결정기에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 분자를 의미한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 이것이 부착된 독립체 (예를 들어, 면역글로불린 또는 항원 결합 수용체) 가 표적 부위, 예를 들어 항원 결정기를 보유하는 특별한 유형의 종양 세포 또는 종양 기질 또는 종양 세포 상의 항원 결정부에 결합되는 면역글로불린에 대해 유도될 수 있게 한다. 다른 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 이의 표적 항원을 통해서 신호전달을 활성화시킬 수 있고, 예를 들어 신호전달은 T 세포 상의 항원 결합 수용체와 항원 결정기의 결합 시에 활성화된다. 본 발명의 맥락에서, 항원 결합 모이어티는 본원에 더욱 정의되는 바와 같은 항체 및 이의 단편을 비롯하여 항원 결합 수용체 및 이의 단편을 포함할 수 있다. 항원 결합 모이어티는 면역글로불린 중쇄 가변 영역 및 면역글로불린 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항원 결합 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 본원에서 더욱 정의되고 당해 기술분야에 알려진 바와 같은 면역글로불린 불변 영역을 포함할 수 있다. 유용한 중쇄 불변 영역은 5 개 이소타입 중 어느 하나를 포함한다: α , δ , ϵ , γ , 또는 μ . 유용한 경쇄 불변 영역은 2 개 이소타입 중 어느 하나를 포함한다: κ 및 λ .

[0104] 본 발명의 맥락에서, 용어 "항원 결합 수용체" 는 앵커링 경막 도메인, 및 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 분자에 관한 것이다. 항원 결합 수용체는 상이한 공급원 유래의 폴리펩티드 부분으로 만들어질 수 있다. 따라서, 또한 "융합 단백질" 및/또는 "키메라 단백질" 로서 이해할 수 있다. 일반적으로, 융합 단백질은 본래 개별 단백질을 인코딩하는 둘 이상의 유전자 (또는 바람직하게 cDNA) 의 연결을 통해 생성된 단백질이다. 이러한 융합 유전자 (또는 융합 cDNA) 의 번역은 바람직하게 본래 단백질 각각으로부터 유래된 기능적 특성을 갖는 단일 폴리펩티드를 생성시킨다. 재조합 융합 단백질은 생물학적 연구 또는 치료법에서 사용을 위한 재조합 DNA 기술에 의해 인공적으로 생성된다. 본 발명의 항원 결합 수용체에 대한 추가의 상세한 설명은 하기 본원에 기술되어 있다. 본 발명의 맥락에서, CAR (chimeric antigen receptor) 은 그 자체가 CD3z 및 CD28 의 세포내 신호전달 도메인과 융합된 앵커링 경막 도메인에 스페이서 서열에 의해 융합된 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 부분을 포함하는 항원 결합 수용체로 이해된다.

[0105] "항원 결합 부위" 는 항원과의 상호작용을 제공하는 항원 결합 분자의 부위, 즉 하나 이상의 아미노산 잔기를 의미한다. 예를 들면, 항체의 항원 결합 부위 또는 항원 결합 수용체는 상보성 결정 영역 (CDR) 유래의 아미노산 잔기를 포함한다. 천연 면역글로불린 분자는 전형적으로 2 개의 항원 결합 부위를 갖고, Fab 또는 scFv 분자는 전형적으로 1 개의 항원 결합 부위를 갖는다.

[0106] 용어 "항원 결합 도메인" 은 항원의 일부분 또는 전체에 특이적으로 결합하고 상보적인 영역을 포함하는 항체의 일부분 또는 항원 결합 수용체를 의미한다. 항원 결합 도메인은 예를 들어 하나 이상의 가변 도메인 (또한 가변 영역이라고도 함) 에 의해 제공될 수 있다. 특히, 항원 결합 도메인은 면역글로불린 경쇄 가변 영역 (VL) 및 면역글로불린 중쇄 가변 영역 (VH) 을 포함한다.

[0107] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인" 은 항원과의 결합에 관여하는 면역글로불린 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 의미한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄 (각각 VH 및 VL) 의 가변 도메인은 일반적으로 유사한 구조를 갖고, 각각의 도메인은 4개의 보존성 프레임워크 영역 (FR) 및 3 개의 초가변 영역 (HVR) 을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Kindt et al., Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co, page 91 (2007)] 을 참조한다. 단일 VH 또는 VL 도메인은 일반적으로 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분하다.

[0108] 본원에서 사용되는 용어 "ATD" 는 세포의 세포막(들)으로 통합될 수 있는 폴리펩티드 스트렛치를 한정하는 "앵커링 경막 도메인" 을 의미한다. ATM 은 세포외 및/또는 세포내 폴리펩티드 도메인에 더욱 융합될 수 있고 이들 세포외 및/또는 세포내 폴리펩티드 도메인은 역시 세포막에 한정될 것이다. 본 발명의 항원 결합 수용체의 맥락에서, ATM 은 본 발명의 항원 결합 수용체의 한정 및 막부착을 부여한다. 본 발명의 항원 결합 수

용체는 적어도 하나의 ATM, 및 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함한다. 추가로, ATM 은 추가의 세포내 신호전달 도메인에 융합될 수 있다.

[0109] 본 발명의 항원 결합 수용체의 맥락에서 사용되는 용어 "~에 결합하는" 은 "항원-상호작용-부위" 및 서로의 항원의 결합 (상호작용) 을 정의한다. 용어 "항원-상호작용-부위" 는 본 발명의 항원 결합 수용체에 따라서, 특정 항원 또는 항원의 특정 기 (즉, 돌연변이된 Fc 도메인) 와 특이적 상호작용하는 능력을 보이는 폴리펩티드의 모티프를 정의한다. 상기 결합/상호작용은 또한 "특이적 인지" 를 정의하는 것으로 이해한다. 용어 "특이적으로 인지하는" 은 본 발명에 따라서 항원 결합 수용체가 본원에서 정의하는 바와 같은 변형된 분자와 특이적으로 상호작용할 수 있고/있거나 결합할 수 있지만 변형되지 않은 분자는 인지되지 않는다는 것을 의미한다. 항원 결합 수용체의 항원 결합 모이어티는 동일한 분자 상의 항이한 에피토프를 인지할 수 있고/있거나, 상호작용할 수 있고/있거나 결합할 수 있다. 이 용어는 항원 결합 수용체의 특이성, 즉 본원에 정의된 바와 같은 변형된 분자, 즉 돌연변이된 Fc 도메인의 특별한 영역들을 구별하는 이의 능력에 관한 것이다. 이의 특정 항원과 항원-상호작용-부위의 특이적 상호작용은 그 결과로 예를 들어 항원을 포함하는 폴리펩티드의 입체형태의 변화 유도, 항원을 포함하는 폴리펩티드의 올리고머화, 항원 결합 수용체의 올리고머화 등에 기인하여, 신호의 개시를 일으킬 수 있다. 따라서, 항원-상호작용-부위의 아미노산 서열의 특별한 모티프 및 항원은 그들의 1차, 2차 또는 3차 구조의 결과를 비롯하여 상기 구조의 이차적 변형의 결과로서 서로 결합된다. 따라서, 용어 ~에 결합하는은 선형 에피토프에 관한 것뿐만 아니라 또한 입체구성적 에피토프, 구조적 에피토프, 또는 표적 분자의 2 개 영역 또는 이의 일부분으로 이루어진 불연속 에피토프에 관한 것이다.

본 발명의 맥락에서, 입체구성적 에피토프는 폴리펩티드가 천연 단백질로 폴딩될 때 분자의 표면 상에 함께 오게되는 1차 서열에서 떨어져 있는 둘 이상의 개별 아미노산 서열에 의해 정의된다 (Sela, Science 166 (1969), 1365 및 Laver, Cell 61 (1990), 553-536). 게다가, 용어 "~에 결합하는" 은 용어 "~와 상호작용하는" 과 본 발명의 맥락에서 호환되게 사용된다. 특별한 표적 항원 결정기에 결합하는 항원 결합 수용체 또는 항체의 항원 결합 모이어티 (예를 들어, Fab 또는 scFv 도메인) 의 능력은 효소-연결 면역측정 어세이 (ELISA) 또는 당업자에게 익숙한 다른 기술, 예를 들어 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술 (BIAcore 장비에서 분석) (Liljeblad et al., Glyco J 17, 323-329 (2000)), 및 전통적인 결합 어세이 (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)) 를 통해서 측정될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 미관련된 단백질에 대한 항원 결합 모이어티의 결합 정도는 특히 SPR 에 의해 측정되는 표적 항원에 대한 항원 결합 모이어티의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시형태에서, 표적 항원에 결합하는 항원 결합 모이어티는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M) 의 해리 상수 (K_D) 를 갖는다. 본 발명에 따라 사용되는 용어 "특이적 결합" 은 본 발명의 분자가 유사한 구조의 (폴리-) 펩티드와, 즉, 본 발명의 항원 결합 수용체가 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 경우에 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 교차 반응하지 않거나 또는 본질적으로 교차 반응하지 않는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명의 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적으로 결합한다/그와 상호작용한다. 조사 중인 구성체의 패널의 교차-반응성은 예를 들어 관심의 돌연변이된 Fc 도메인 뿐만 아니라 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 대해 통상의 조건 하에서 항원 결합 모이어티의 패널의 결합을 평가하여 시험될 수 있다 (예를 들어, [Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1988)] 및 [Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1999)]).

관심의 돌연변이된 Fc 도메인에 결합하지만 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에는 결합하지 않거나 또는 본질적으로 결합하지 않는 구성체 (즉, Fab 단편, scFv 등) 만이 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적인 것으로 간주되고 본원에 제공된 방법에 따른 추가 실험에 선택된다. 이들 방법은 특히 구조적으로 및/또는 기능적으로 밀접하게 관련된 Fc 도메인에 의한 결합 실험, 차단 및 경쟁 실험을 포함할 수 있다. 결합 실험은 또한 FACS 분석, 표면 플라즈몬 공명 (SPR, 예를 들어, BIAcore®), 분석적 초원심분리, 등은 적정 열량계, 형광 이방성, 형광 분광법 또는 방사성 표지 리간드 결합 어세이를 포함한다.

[0110] 본원에서 적용되는 용어 "CDR" 은 당해 기술분야에 충분히 알려진 "상보성 결정 영역"에 관한 것이다. CDR 은 상기 분자의 특이성을 결정하고 특이적 리간드와 접촉하는 면역글로불린 또는 항원 결합 수용체의 일부이다. CDR 은 분자의 가장 가변적인 부분이고 이들 분자의 항원 결합 다양성에 기여한다. 각각의 V 도메인에 3 개의 CDR 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3 이 존재한다. CDR-H 는 가변 중쇄의 CDR 영역을 의미하고 CDR-L 은 가변 경쇄의 CDR 영역에 관한 것이다. VH 는 가변 중쇄를 의미하고 VL 은 가변 경쇄를 의미한다. Ig-유래 영역의 CDR 영역은 "Kabat" (Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5th edit. NIH Publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services (1991); Chothia J. Mol. Biol. 196

(1987), 901-917) 또는 "Chothia" (Nature 342 (1989), 877-883) 에 기술된 바와 같이 결정될 수 있다.

- [0111] 용어 "CD3z" 는 "T-세포 수용체 T3 제타 사슬" 및 "CD247" 로도 알려진, T-세포 표면 당단백질 CD3 제타 사슬을 의미한다.
- [0112] 용어 "키메라 항원 수용체" 또는 "키메라 수용체" 또는 "CAR" 은 CD3z 및 CD28 의 세포내 신호전달 도메인에 스페이스 서열에 의해 융합된 항원 결합 모이어티 (예를 들어, 단일 사슬 항체 도메인) 의 세포외 부분으로 구성된 항원 결합 수용체를 의미한다. 본 발명은 추가로 항원 결합 수용체를 제공하고, 여기서 항원 결합 모이어티는 Fab 또는 crossFab 단편이다. 용어 "CAR" 은 이의 광범위한 형태로 임의로 하나 또는 몇개의 펩티드 링커를 통해서, CD3z 및 이의 단편 및 CD28 및 이의 단편을 포함하는 세포외 부분으로 구성된 항원 결합 수용체를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0113] 항체 또는 면역글로불린의 "클래스" 는 이의 중쇄에 의해 보유되는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 의미한다. 5 개의 주요한 클래스의 항체: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM 이 존재하고, 이들 중 몇개는 서브클래스 (이소타입) 예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂ 로 더욱 분류될 수 있다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ , 및 μ 라고 한다.
- [0114] "crossover Fab 분자" (또한 "crossFab" 또는 "crossover Fab 단편"이라고 함) 란 Fab 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 또는 불변 영역이 교환된 Fab 분자를 의미하며, 즉 crossFab 단편은 경쇄 가변 영역 및 중쇄 불변 영역으로 구성된 펩티드 사슬, 및 중쇄 가변 영역 및 경쇄 불변 영역으로 구성된 펩티드 사슬을 포함한다. 명확성을 위해, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 영역이 교환되어 있는 crossFab 단편에서, 중쇄 불변 영역을 포함하는 펩티드 사슬은 본원에서 crossover Fab 분자의 중쇄로서 언급된다. 반대로, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 불변 영역이 교환되어 있는 crossFab 단편에서, 중쇄 가변 영역을 포함하는 펩티드 사슬은 본원에서 crossFab 단편의 중쇄로서 언급된다. 따라서, crossFab 단편은 중쇄 가변 및 경쇄 불변 영역 (VH-CL) 으로 구성된 중쇄 또는 경쇄, 및 경쇄 가변 및 중쇄 불변 영역 (VL-CH1) 으로 구성된 중쇄 또는 경쇄를 포함한다. 이와 반대로, "통상의 Fab" 분자란 이의 천연 구성의, 즉 중쇄 가변 및 불변 영역 (VH-CH1) 으로 구성된 중쇄, 및 경쇄 가변 및 불변 영역 (VL-CL) 으로 구성된 경쇄를 포함하는, Fab 분자를 의미한다.
- [0115] 본원에서 사용되는 용어 "CSD" 는 보조자극성 신호전달 도메인을 의미한다.
- [0116] 용어 "이펙터 기능" 은 항체 이소타입에 따라 다양한, 항체의 Fc 영역에 기인한 그들의 생물학적 활성을 의미한다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합 및 보체 의존적 세포독성 (CDC), Fc 수용체 결합, 항체-의존적 세포-매개 세포독성 (ADCC), 항체-의존적 세포의 식균작용 (ADCP), 사이토킨 분비, 항원 제시 세포에 의한 면역 복합체-매개 항원 흡수, 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체) 의 하향 조절, 및 B 세포 활성화를 포함한다.
- [0117] 본원에서 사용되는 용어 "조작하다", "조작된", "조작하는" 은 펩티드 골격의 임의 조작 또는 천연 발생 또는 재조합 폴리펩티드 또는 이의 단편의 번역후 변형을 포함하는 것으로 간주된다. 조작하는은 아미노산 서열, 글리코실화 패턴, 또는 개별 아미노산의 측쇄기의 변형을 비롯하여, 이들 접근법의 조합을 포함한다.
- [0118] 용어 "발현 카세트" 는 표적 세포에서 특정한 핵산의 전사를 허용하는 일련의 명시된 핵산 엘리먼트와 함께 재조합적으로 또는 합성적으로 생성된 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 재조합 발현 카세트는 플라스미드, 염색체, 미토콘드리아 DNA, 플라스티드 DNA, 바이러스, 또는 핵산 단편에 도입될 수 있다. 전형적으로, 발현 벡터의 재조합 발현 카세트 부분은 다른 서열 중에서도, 전사하려는 핵산 서열 및 프로모터를 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 발현 카세트는 본 발명의 항원 결합 분자 또는 이의 단편을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0119] "Fab 분자" 는 항원 결합 분자의 중쇄 ("Fab 중쇄") 의 VH 및 CH1 도메인 및 경쇄 ("Fab 경쇄") 의 VL 및 CL 도메인으로 이루어진 단백질질을 의미한다.
- [0120] 본원에서 용어 "Fc 도메인" 또는 "Fc 영역" 은 불변 영역의 적어도 일부분을 함유하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. 용어는 천연 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. IgG 중쇄의 Fc 영역의 경계가 약간 다양할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 Cys226, 또는 Pro230 으로부터 중쇄의 카르복실-말단으로 확장되는 것으로 정의된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 리신 (Lys447) 은 존재할 수 있거나 또는 존재하지 않을 수 있다. 본원에서 다르게 명시되지 않으면, Fc 영역 또는 불변 영역의 아미노산 잔기의 번호매김은 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed.

Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991] 에 기술된 바와 같이, EU 지수라고도 하는, "EU 번호매김" 체계에 따른다. 본원에서 사용되는 Fc 도메인의 서브유닛은 이량체 Fc 도메인을 형성하는 2 개 폴리펩티드 중 하나, 즉 안정하게 자기-회합할 수 있는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 의미한다. 예를 들어, IgG Fc 도메인의 서브유닛은 IgG CH2 및 IgG CH3 불변 도메인을 포함한다.

[0121] "프레임워크" 또는 "FR" 은 추가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 의미한다. 가변 도메인의 FR 은 일반적으로 4개 FR 도메인: FR1, FR2, FR3, 및 FR4로 이루어진다. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL) 에서 하기의 서열로 표시된다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0122] 용어 "전장 항체" 는 2 개의 "전장 항체 중쇄" 및 2 개의 "전장 항체 경쇄" 로 이루어진 항체를 의미한다. "전장 항체 중쇄" 는 N-말단에서 C-말단 방향으로 VH-CH1-HR-CH2-CH3 로 축약되는 항체 중쇄 가변 도메인 (VH), 항체 불변 중쇄 도메인 1 (CH1), 항체 힌지 영역 (HR), 항체 중쇄 불변 도메인 2 (CH2), 및 항체 중쇄 불변 도메인 3 (CH3); 및 IgE 서브클래스의 항체 경우 임의로 항체 중쇄 불변 도메인 4 (CH4) 로 이루어진 폴리펩티드이다. 바람직하게 "전장 항체 중쇄" 는 N-말단에서 C-말단으로 VH, CH1, HR, CH2 및 CH3 으로 이루어진 폴리펩티드이다. "전장 항체 경쇄" 는 N-말단에서 C-말단으로, VL-CL로 축약되는, 항체 경쇄 가변 도메인 (VL), 및 항체 경쇄 불변 도메인 (CL) 으로 이루어진 폴리펩티드이다. 항체 경쇄 불변 도메인 (CL) 은 κ (카파) 또는 λ (람다) 일 수 있다. 2 개의 전장 항체 사슬은 전장 항체 중쇄의 힌지 영역 사이 및 CL 도메인 및 CH1 도메인 사이의 폴리펩티드간 다이설파이드 결합을 통해 함께 연결된다. 전형적인 전장 항체의 예는 IgG (예를 들어, IgG 1 및 IgG2), IgM, IgA, IgD, 및 IgE) 와 같은 천연 항체이다. 본 발명에 따라 사용되는 전장 항체는 단일 중 예를 들어 인간으로부터 유래할 수 있거나, 또는 키메라 또는 인간화 항체일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에 따라 사용되는 전장 항체, 즉, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체는 한 쌍의 VH 및 VL 에 의해 각각 형성되는 두 개의 항원 결합 부위를 포함하며, 두 개의 항원 결합 부위 둘 모두는 동일한 항원에 특이적으로 결합한다. 추가의 실시형태에서, 본 발명에 따라 사용되는 전장 항체는 한 쌍의 VH 및 VL 에 의해 각각 형성되는 두 개의 항원 결합 부위를 포함하며, 두 개의 항원 결합 부위는 상이한 항원에 결합하며, 예를 들어 항체는 이중특이적이다. 상기 전장 항체의 중쇄 또는 경쇄의 C-말단은 상기 중쇄 또는 경쇄 C-말단의 마지막 아미노산을 나타낸다.

[0123] "융합된" 이란 성분 (예를 들어, Fab 및 경막 도메인) 이 하나 이상의 펩티드 링커를 통해서 또는 직접적으로 펩티드 결합에 의해 연결된 것을 의미한다.

[0124] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양물" 은 호환되게 사용되고 이러한 세포의 자손을 포함하여, 외생 핵산이 도입된 세포를 의미한다. 숙주 세포는 초대 형질전환된 세포 및 계대수와 무관하게 그로부터 유래된 자손을 포함한 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함한다. 자손은 부모 세포와 핵산 내용물이 완전하게 동일하지 않을 수 있으며, 돌연변이를 함유할 수 있다. 본래 형질전환된 세포에 대해 스크리닝되거나 또는 선택된 바와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손이 본원에 포함된다. 숙주 세포는 본 발명에 따라서 사용되는 항체를 생성시키는데 사용될 수 있는 임의 유형의 세포 시스템이다. 숙주 세포는 배양된 세포, 예를 들어, 포유동물 배양된 세포, 몇가지만 언급하면, 예컨대 CHO 세포, BHK 세포, NSO 세포, SP2/0 세포, YO 골수종 세포, P3X63 마우스 골수종 세포, PER 세포, PER.C6 세포 또는 하이브리도마 세포, 효모 세포, 곤충 세포, 및 식물 세포뿐만 아니라, 유전자이식 동물, 유전자이식 식물 또는 배양된 식물 또는 동물 조직에 포함된 세포를 포함한다.

[0125] 본원에서 사용되는 용어 "추가변 영역" 또는 "HVR" 은 서열이 추가변이고/이거나 구조적으로 한정된 루프 ("추가변 루프") 인 항체 가변 도메인의 각각의 영역을 의미한다. 일반적으로, 천연의 4개-사슬 항체는 6개 HVR 을 포함하는데, VH (H1, H2, H3) 에 3 개, 및 VL (L1, L2, L3) 에 3 개를 포함한다. HVR 은 일반적으로 추가변 루프 및/또는 상보성 결정 영역 (CDR) 로부터의 아미노산 잔기를 포함하고, 후자는 최고의 서열 가변성을 갖고/갖거나 항원 인지에 관여된다. VH의 CDR1 을 제외하고, CDR 은 일반적으로 추가변 루프를 형성하는 아미노산 잔기를 포함한다. 추가변 영역 (HVR) 은 또한 상보성 결정 영역 (CDR) 이라고 하고, 이들 용어는 항원 결합 영역을 형성하는 가변 영역의 일부분에 대해서 호환되게 본원에서 사용된다. 이러한 특정한 영역은 [Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983)] 및 [Chothia et al., J Mol Biol 196:901-917 (1987)] 에 기술되어 있고, 그 정의는 서로에 대해 비교시 아미노산 잔기의 서브셋 또는 중복을 포함한다. 그럼에도 불구하고, 항원 결합 수용체 또는 이의 변이체 및/또는 항체의 CDR 을 언급하는 정의의 적용은 본원에서 정의하고 사용하는 용어의 범주 내에 포함하고자 한다. 상기 인용된 참조 각각에 의해 정의되는 CDR 을 포괄하는 적절한 아미노산 잔기는 비교로서

하기 표 1 에 기재된다. 특정한 CDR 을 포괄하는 정확한 잔기의 수는 CDR의 서열 및 크기에 의존하여 다양할 것이다. 당업자는 항체의 가변 영역 아미노산 서열이 주어지면 어떠한 잔기가 특정한 CDR 을 포함하는가를 통상적으로 결정할 수 있다.

표 1. CDR 정의¹

CDR	카밧	코티아	AbM ²
V _H CDR1	31-35	26-32	26-35
V _H CDR2	50-65	52-58	50-58
V _H CDR3	95-102	95-102	95-102
V _L CDR1	24-34	26-32	24-34
V _L CDR2	50-56	50-52	50-56
V _L CDR3	89-97	91-96	89-97

¹ 표 1 의 모든 CDR 정의의 번호매김은 Kabat 등이 기재한 번호매김 협약에 따른다 (하기 참조).

² 표 1 에서 사용되는 소문자 "b"를 갖는 "AbM"은 Oxford Molecular 의 "AbM" 항체 모델링 소프트웨어에 의해 정의된 CDR 을 의미한다.

[0126]

[0127]

Kabat 등은 또한 임의 항체에 적용가능한 가변 영역 서열에 대한 번호매김 체계를 정의하였다. 당업자는 서열 자체 이외에 임의의 실험 데이터에 의존하지 않고, 임의 가변 영역 서열에 대해 이러한 카밧 번호매김 체계를 분명하게 지정할 수 있다. 본원에서 사용되는 "카밧 번호매김" 은 [Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983)] 에 기재된 번호매김 체계를 의미한다. 다르게 명시되지 않으면, 항원 결합 모이어티 가변 영역 내 특별한 아미노산 잔기 위치의 번호매김에 대한 참조는 카밧 번호매김 체계에 따른다. 서열 목록의 폴리펩티드 서열은 카밧 번호매김 체계에 따라 번호매겨지지 않는다. 그러나, 서열 목록의 서열의 번호매김을 카밧 번호매김으로 전환시키는 것은 당업자의 통상의 기술 내에서 충분하다.

[0128]

"개체" 또는 "대상체" 는 포유동물이다. 포유동물은 제한없이 가축 (예를 들어, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류 (예를 들어, 인간 및 인간 이외의 영장류 예컨대 원숭이), 토끼, 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트) 를 포함한다. 특히, 개체 또는 대상체는 인간이다.

[0129]

"단리된 핵산" 분자 또는 폴리뉴클레오티드란 이의 천연 환경으로부터 제거된 핵산 분자, DNA 또는 RNA를 의미한다. 예를 들어, 벡터에 함유된 폴리펩티드를 인코딩하는 재조합 폴리뉴클레오티드는 본 발명의 목적을 위해 단리된 것으로 간주된다. 단리된 폴리뉴클레오티드의 추가 예는 이중성 숙주 세포에 유지된 재조합 폴리뉴클레오티드 또는 (부분적으로 또는 실질적으로) 정제된 용액 중 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 단리된 폴리뉴클레오티드는 정상적으로 폴리뉴클레오티드 분자를 함유하는 세포에 함유된 폴리뉴클레오티드 분자를 포함하지만, 그 폴리뉴클레오티드 분자는 염색체외에 또는 이의 천연 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에 존재한다. 단리된 RNA 분자는 본 발명의 생체내 또는 시험관내 RNA 전사물을 비롯하여, 양성 및 음성 가닥 형태, 및 이중 가닥 형태를 포함한다. 본 발명에 따른 단리된 폴리뉴클레오티드 또는 핵산은 합성적으로 제조된 이러한 분자를 추가로 포함한다. 또한, 폴리뉴클레오티드 또는 핵산은 조절성 엘리먼트 예컨대 프로모터, 리보솜 결합 부위 또는 전사 종결인자일 수 있거나 또는 그를 포함할 수 있다.

[0130]

본 발명의 기준 뉴클레오티드 서열과 적어도, 예를 들어 95% 가 "동일한" 뉴클레오티드 서열을 갖는 핵산 또는 폴리뉴클레오티드란, 폴리뉴클레오티드 서열이 기준 뉴클레오티드 서열의 각각의 100 개 뉴클레오티드 당 최대 5 개의 점 돌연변이를 포함할 수 있는 것을 제외하고 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열이 기준 서열과 동일한 것을 의도한다. 달리 말해서, 기준 뉴클레오티드 서열과 적어도 95% 가 동일한 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드를 얻기 위해서, 기준 서열의 뉴클레오티드의 최대 5% 는 결실될 수 있거나 또는 다른 뉴클레오티드로 치환될 수 있거나, 또는 기준 서열의 전체 뉴클레오티드의 최대 5%의 다수의 뉴클레오티드가 기준 서열에 삽입될 수 있다. 기준 서열의 이들 변경은 기준 뉴클레오티드 서열의 5' 또는 3' 말단 위치에서 또는 기준 서열 내에서 하나 이상의 인접한 그룹으로 또는 기준 서열 내 잔기 중에서 개별적으로 산재된, 말단 위치 사이의 임의 위치에서 일어날 수 있다. 실질적으로, 임의의 특정한 폴리뉴클레오티드 서열이 본 발명의 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 가 동일한지 여부는 통상적으로 기지의 컴퓨터 프로그램, 예컨대 폴리펩티드에 대해 하기에 논의되는 것 (예를 들어, ALIGN-2) 을 사용하여 결정될 수 있다.

- [0131] "단리된 폴리펩티드" 또는 이의 변이체 또는 유도체란 이의 자연 환경에 존재하지 않는 폴리펩티드를 의도한다. 특정한 정제 수준이 요구되지 않는다. 예를 들어, 단리된 폴리펩티드는 이의 천연 또는 자연 환경으로부터 제거될 수 있다. 숙주 세포에서 발현된 재조합으로 생성된 폴리펩티드 및 단백질은 천연으로서 또는 임의의 적합한 기술에 의해 분리, 분획화 또는 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 재조합 폴리펩티드로서, 본 발명의 목적을 위해 단리된 것으로 간주된다.
- [0132] 기준 폴리펩티드 서열에 대한 "아미노산 서열 동일성 백분율 (%)" 은 서열을 정렬하고 필요하다면 최대 서열 동일성 백분율을 획득하기 위해 갭을 도입하고 서열 동일성의 일부로서 임의의 보존성 치환은 고려하지 않은 후에, 기준 폴리펩티드 서열의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성 백분율을 결정하기 위한 목적의 정렬은 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공공으로 입수가 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여, 당해 기술분야의 기술 내에서 다양한 방식으로 획득될 수 있다. 당업자는 비교하려는 서열의 전장 상에서 최대 정렬을 획득하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 서열을 정렬하기 위해 적절한 매개변수를 결정할 수 있다. 그러나, 본원에서의 목적을 위해서, 아미노산 서열 동일성 % 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2 를 사용해 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc. 가 만들었고, 소스 코드는 미국 저작권 협회 (U.S. Copyright Office) (Washington D.C., 20559) 에서 사용자 문서로 제출되었고, 미국 저작권 등록 번호 TXU510087 로 등록되었다. ALIGN-2 프로그램은 Genentech, Inc. (South San Francisco, California) 에서 공공으로 입수가 가능하거나 또는 소스 코드로부터 컴파일될 수 있다. ALIGN-2 프로그램은 디지털 UNIX V4.0D 을 포함하는 UNIX 운용 체제 상에서 사용을 위해 컴파일되어야 한다. 모든 서열 비교 매개변수는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되고 가변적이지 않다. ALIGN-2 이 아미노산 서열 비교에 적용되는 상황에서, 소정 아미노산 서열 B 에 대해, 그와, 또는 그에 대응하는 소정 아미노산 서열 A 의 아미노산 서열 동일성의 % (소정 아미노산 서열 B 에 대해, 그와, 또는 그에 대응하는 일정한 아미노산 서열 동일성 % 를 갖거나 또는 포함하는 소정 아미노산 서열 A 로서 대안적으로 표현될 수 있음) 는 다음과 같이 계산된다:
- [0133] $100 \times \text{분수 } X/Y$
- [0134] 여기서 X 는 그 프로그램의 A 및 B 의 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2 에 의해 동일한 일치로서 점수매겨진 아미노산 잔기의 수이고 Y 는 B 의 아미노산 잔기의 총 개수이다. 아미노산 서열 A 의 길이가 아미노산 서열 B 의 길이와 동일하지 않은 경우, B 에 대한 A 의 아미노산 서열 동일성 % 는 A 에 대한 B 의 아미노산 서열 동일성 % 와 같지 않을 수 있다는 것을 이해할 것이다. 구체적으로 다르게 명시되지 않으면, 본원에서 사용되는 모든 아미노산 서열 동일성 % 는 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 사용하여 바로 앞의 단락에서 기술된 바와 같이 얻어진다.
- [0135] 용어 "핵산 분자" 는 폴리뉴클레오티드에 의해 포함된 푸린- 및 피리미딘 염기를 포함하는 염기의 서열에 관한 것으로, 상기 염기는 핵산 분자의 1차 구조를 의미한다. 본원에서, 용어 핵산 분자는 DNA, cDNA, 게놈 DNA, RNA, DNA 의 합성 형태 및 둘 이상의 이들 분자를 포함하는 혼합 중합체를 포함한다. 또한, 용어 핵산 분자는 센스 및 안티센스 가닥 둘 모두를 포함한다. 게다가, 본원에 기술된 핵산 분자는 당업자가 쉽게 이해하게 되는 바와 같이, 비천연 또는 유도된 뉴클레오티드 염기를 함유할 수 있다.
- [0136] 용어 "패키지 삽입부" 는 이러한 치료 제품의 사용에 관한 증상, 용법, 용량, 투여, 병용 요법, 금기 사항 및/또는 경고에 대한 정보를 함유하는 치료 제품의 상업적 패키지에 통상적으로 포함되는 지시서를 의미하는데 사용된다.
- [0137] 용어 "약학 조성물" 은 그에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 하는 형태로 존재하고, 제제가 투여되는 대상체에게 허용불가하게 유독한 추가 성분을 함유하지 않는 조제물을 의미한다. 약학 조성물은 일반적으로 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체(들)를 포함한다.
- [0138] "약학적으로 허용가능한 담체" 는 대상체에게 무독성인, 활성 성분 이외의, 약학 조성물 중 성분을 의미한다. 약학적으로 허용가능한 담체는 제한없이 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함한다.
- [0139] 본원에서 사용되는 용어 "폴리펩티드" 는 아미드 결합 (펩티드 결합이라고도 알려짐) 을 통해 선형적으로 연결된 단량체 (아미노산) 로 구성된 분자를 의미한다. 용어 폴리펩티드는 둘 이상의 아미노산의 임의 사슬을 의미하고, 생성물의 특별한 길이를 의미하지 않는다. 따라서, 펩티드, 디펩티드, 트리펩티드, 올리고펩티드, 단백질, 아미노산 사슬, 또는 둘 이상의 아미노산의 사슬을 언급하기 위해 사용된 임의의 다른 용어는 폴리펩티드의 정의 내에 포함되고, 용어 폴리펩티드가 임의의 이들 용어 대신에 또는 그와 호환되게 사

용될 수 있다. 용어 폴리펩티드는 또한 제한없이 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아마이드화, 기지의 보호/차단 기에 의한 유도체화, 단백질가수분해 절단, 또는 비천연 발생 아미노산에 의한 변형을 포함하는, 폴리펩티드의 발현후 변형의 생성물을 의미하고자 한다. 폴리펩티드는 천연 생물학적 공급원으로부터 유래될 수 있거나 또는 재조합 기술로 제조될 수 있지만, 반드시 지정된 핵산 서열로부터 번역되지는 않는다. 화학 합성을 포함하여 임의의 방식으로 생성될 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드는 약 3 개 이상, 5 개 이상, 10 개 이상, 20 개 이상, 25 개 이상, 50 개 이상, 75 개 이상, 100 개 이상, 200 개 이상, 500 개 이상, 1,000 개 이상, 또는 2,000 개 이상의 아미노산 크기일 수 있다. 폴리펩티드는 그들이 반드시 그러한 구조를 가질 필요는 없지만, 정해진 3차원 구조를 가질 수 있다. 정해진 3차원 구조를 갖는 폴리펩티드는 폴딩되었다고 하고, 정해진 3차원 구조를 갖지 않지만, 대신에 다수의 상이한 입체구성을 채택할 수 있는 것은 언폴딩되었다고 한다.

- [0140] 용어 "폴리뉴클레오티드" 는 단리된 핵산 분자 또는 구성체, 예를 들어 메신저 RNA (mRNA), 바이러스 유래된 RNA, 또는 플라스미드 DNA (pDNA) 를 의미한다. 폴리뉴클레오티드는 통상의 포스포디에스테르 결합 또는 비통상의 결합 (예를 들어, 예진대 펩티드 핵산 (PNA) 에 존재하는 것과 같은 아마이드 결합) 을 포함할 수 있다. 용어 핵산 분자는 임의의 하나 이상의 핵산 절편, 예를 들어 폴리뉴클레오티드에 존재하는, DNA 또는 RNA 단편을 의미한다.
- [0141] "감소된 결합", 예를 들어 Fc 수용체에 대한 감소된 결합은 예를 들어 SPR 에 의해 측정시 개별 상호작용에 대한 친화도의 감소를 의미한다. 명확함을 위해서 이 용어는 또한 0 (또는 분석 방법의 검출 한계 이하) 까지 친화도의 감소, 즉 상호작용의 완전한 제거를 포함한다. 반 대로, "증가된 결합" 은 개별 상호작용에 대한 결합 친화도의 증가를 의미한다.
- [0142] 용어 "조절 서열" 은 그들이 결합되는 코딩 서열의 발현을 실행하는데 필수적인 DNA 서열을 의미한다. 이러한 제어 서열의 성질은 숙주 유기체에 의존적으로 상이하다. 원핵생물에서, 제어 서열은 일반적으로 프로모터, 리보솜 결합 부위, 및 종결인자를 포함한다. 진핵생물에서 일반적으로 제어 서열은 프로모터, 종결인자, 및 일부 예에서, 인핸서, 트랜스활성인자 또는 전사 인자를 포함한다. 용어 "제어 서열" 은 그 존재가 발현에 필수적인 모든 성분을 최소로 포함하고자 하고, 또한 추가의 유리한 성분을 포함할 수 있다.
- [0143] 본원에서 사용되는 용어 "단일-사슬" 은 펩티드 결합에 의해 선형적으로 연결된 아미노산 단량체를 포함하는 분자를 의미한다. 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티 중 하나는 scFv 단편, 즉 펩티드 링커에 의해 연결된 VH 도메인 및 VL 도메인이다. 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티 중 하나는 단일-사슬 Fab 분자이고, 즉 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄가 펩티드 링커에 의해 연결되어 단일 펩티드 사슬을 형성하는 Fab 분자이다. 특정한 이러한 실시형태에서, Fab 경쇄의 C-말단은 단일-사슬 Fab 분자 내 Fab 중쇄의 N-말단에 연결된다.
- [0144] 본원에서 사용되는 용어 "SSD" 는 자극성 신호전달 도메인을 의미한다.
- [0145] 본원에서 사용되는 "치료" (및 이의 문법적 별형 예컨대 "치료하다" 또는 "치료하는") 는 치료하려는 개체에서 질환의 자연적 과정을 변경시키려는 시도의 임상적 중재술을 의미하고 임상 병리학적 과정 동안 또는 예방학적으로 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 제한없이 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 경감, 질환의 임의의 직접 또는 간접적 병리학적 결과의 감소, 전이의 예방, 질환의 진행 속도의 감소, 질환 상태의 완화 또는 일시적 완화, 및 차도 또는 개선된 예후를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현하는 세포는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체와 함께 질환의 발병을 지연시키거나 또는 질환의 진행을 둔화시키는데 사용된다.
- [0146] 본 발명에서 사용되는 용어 "표적 항원 결정기" 는 "표적 항원", "표적 에피토프" 및 "표적 세포 항원" 과 동의어이고, 항체가 결합하여 항원 결합 모이어티-항원 복합체를 형성하는 폴리펩티드 거대분자 상의 부위 (예를 들어, 아미노산의 인접하는 스트레치 또는 비인접한 아미노산의 상이한 영역으로 구성된 입체구성적 구성) 를 의미한다. 유용한 항원 결정기는 예를 들어 종양 세포의 표면, 바이러스-감염된 세포의 표면, 다른 질환 세포의 표면, 면역 세포의 표면 상에서, 혈류 및/또는 세포외 매트릭스 (ECM) 에서 유리되어 존재할 수 있다. 본원에서 항원으로서 언급되는 단백질 (예를 들어, CD20, CEA, FAP, TNC) 은 달리 표시하지 않으면 영장류 (예를 들어, 인간) 및 설치류 (예를 들어, 마우스 및 래트) 와 같은 포유동물을 포함하는, 임의의 척추동물 공급원 유래 단백질의 임의의 천연 형태일 수 있다. 특정한 실시형태에서, 표적 항원은 인간 단백질이다. 본원에서 특이적 표적 단백질을 언급하는 경우에, 그 용어는 "전장", 미처리된 표적 단백질을 비롯하여 표적 세포에서 처리된 표적 단백질의 임의 형태를 포괄한다. 이 용어는 또한 표적 단백질의 천연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이싱 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포괄한다. 항원으로서 유용한 예시적인 인간 표적 단백질

은 제한없이 CD20, CEA, FAP, TNC, MSLN, Fo1R1, HER1 및 HER2 를 포함한다. 특이적 표적 항원 결정기에 결합하는 항체의 능력은 효소-연결된 면역흡착 어세이 (ELISA) 또는 당업자에게 친숙한 다른 기술, 예를 들어 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술 (BIAcore 장비에서 분석) (Liljeblad et al., Glyco J 17, 323-329 (2000)), 및 전통적 결합 어세이 (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)) 를 통해서 측정할 수 있다. 하나의 실시 형태에서, 미관련된 단백질에 대한 항체의 결합 정도는 예를 들어 SPR 로 측정시 표적 항원에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 특정 실시형태에서, 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M) 의 친화도 해리 상수 (K_D) 로 표적 항원에 결합된다.

[0147] 본 발명에 따른 "돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체", 즉, 치료적 항체는 하나, 둘, 셋 또는 더 많은 수의 결합 도메인을 가질 수 있고, 단일특이적, 이중특이적 또는 다중특이적일 수 있다. 항체는 단일 종으로부터 유래하는 전장이거나, 또는 키메라 또는 인간화된 것일 수 있다. 두 개 이상의 항원 결합 도메인을 갖는 항체의 경우에, 일부 결합 도메인은 동일할 수 있고/있거나 동일한 특이성을 가질 수 있다.

[0148] 본원에서 사용되는 "T 세포 활성화" 는 증식, 분화, 사이토카인 분비, 세포독성 이펙터 분자 방출, 세포독성 활성, 및 활성화 마커의 발현으로부터 선택된, T 림프구, 특히 세포독성 T 림프구의 하나 이상의 세포 반응을 의미한다. 본 발명의 항원 결합 수용체는 T 세포 활성화를 유도할 수 있다. T 세포 활성화를 측정하기 위한 적합한 어세이는 본원에 기술되고 당해 기술분야에 알려져 있다.

[0149] 본 발명에 따라서 용어 "T 세포 수용체" 또는 "TCR" 은 당해 기술분야에서 통상적으로 알려져 있다. 특히, 본원에서 용어 "T 세포 수용체" 는 임의의 T 세포 수용체를 의미하고, 단 하기의 3 개 기준을 충족한다: (i) 종양 특이성, (ii) 항원 또는 표적이 (대부분의) 종양 세포에서 발현되어야 하는 것을 의미하는, (대부분의) 종양 세포의 인지, 및 (iii) TCR 이 치료하려는 대상체의 HLA-유형과 일치. 이러한 맥락에서, 상기 언급된 3 개 기준을 충족하는 적합한 T 세포 수용체는 NY-ESO-1 (서열 정보(들)는 예를 들어, PCT/GB2005/001924 를 참조함) 및/또는 HER2neu (서열 정보(들)는 WO-A1 2011/0280894 를 참조함) 를 인지하는 수용체와 같이, 당해 기술분야에 알려져 있다.

[0150] 작용제, 예를 들어 약학 조성물의 "치료적 유효량" 은 바람직한 치료적 또는 예방적 결과를 획득하기 위해, 필요한 시간 기간 동안 및 용량에서 유효한 양을 의미한다. 예를 들어 작용제의 치료적 유효량은 질환의 불리한 효과를 제거하거나, 감소시키거나, 지연시키거나, 최소화시키거나 또는 예방한다.

[0151] 용어 "백터" 또는 "발현 백터" 는 "발현 구성체"와 동의어이고 표적 세포에서 작동적으로 회합된 특별한 유전자의 발현을 도입시켜서 유도시키는데 사용되는 DNA 분자를 의미한다. 이 용어는 자기-복제 핵산 구조로서 백터를 비롯하여 도입되는 숙주 세포의 게놈에 통합되는 백터를 포함한다. 본 발명의 발현 백터는 발현 카세트 포함한다. 발현 백터는 대량의 안정한 mRNA 의 전사를 가능하게 한다. 발현 백터가 표적 세포 내부에 존재하면, 리보핵산 분자 또는 유전자에 의해 인코딩된 단백질은 세포 전사 및/또는 번역 기구에 의해 생성된다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 발현 백터는 본 발명의 항원 결합 수용체 또는 이의 단편을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 카세트를 포함한다.

[0152] **돌연변이된 Fc 도메인(들)에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체**

[0153] 본 발명은 항체, 즉, 암 세포를 표적화하는 치료적 항체의 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체에 관한 것이다. 바람직한 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하며, 돌연변이된 Fc 도메인에 의한 Fc 수용체 결합은 돌연변이되지 않은 Fc 도메인에 의한 Fc 수용체 결합과 비교하여 감소된다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체에 관한 것이며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 비교하여 L234, L235, I253, H310, P331, P329 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하며, 특히 아미노산 돌연변이는 L234A, L235A, I253A, N297A, H310A, P329G 및/또는 H435A 이며, 돌연변이된 Fc 도메인에 의한 Fc 수용체 결합은 돌연변이되지 않은 Fc 도메인에 의한 Fc 수용체 결합과 비교하여 감소된다. 하나의 바람직한 실시형태에서, 아미노산 돌연변이는 P329G 이며,

Fc γ 수용체에 대한 결합은 25°C 에서 SPR 에 의해 측정시 감소된다. 추가의 바람직한 실시형태에서, 아마노산 돌연변이는 I253A, H310A 및 H435A 이며, 신생아 Fc 수용체 (FcRn) 에 대한 결합은 25°C 에서 SPR 에 의해 측정시 감소된다.

[0154] 본 발명은 또한 T 세포, 예컨대 CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, CD3+ T 세포, γ δ T 세포 또는 자연 살해 (NK) T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를, 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체로 형질도입하는 것 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체 분자, 예를 들어 치료적 항체에 의한, 예를 들어, 종양으로의, 그들을 표적화되는 동원에 관한 것이다. 하나의 실시형태에서, 항체는 종양 세포의 표면 상에서 자연 발생적인 종양-특이적 항원에 특이적 결합을 할 수 있다.

[0155] 첨부된 실시예에서 보여지는 바와 같이, 본 발명의 개념의 증거로서, 본 발명에 따른 앵커링 경막 도메인 및 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체 pETR17096 (SEQ ID NO:19 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩되는 SEQ ID NO:7) 는 P329G 돌연변이를 포함하는 치료적 항체 (SEQ ID NO ID: 112 의 중쇄 및 SEQ ID NO:113 의 경쇄를 포함하는 항-CD20 항체에 의해 대표됨) 에 특이적 결합을 할 수 있도록 구축되었다. 항-P329G-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 단백질 (SEQ ID NO:19 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩되는 SEQ ID NO:7) 을 발현하는 형질도입된 T 세포 (저카트 NFAT T 세포) 는 CD20 양성 종양 세포와 함께 P329G 돌연변이를 Fc 도메인에 포함하는 항-CD20 항체와의 공동인큐베이션에 의해 강하게 활성화될 수 있었다. 본 발명자들은 발명의 개념의 증거를 지지하기 위해서 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 항원 결합 수용체의 다수의 구성을 추가로 제공했다.

[0156] 항-P329G-Fab-ds-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 단백질 (SEQ ID NOs: 44 (DNA) 및 39, 41 (단백질)) 을 발현하는 형질도입된 T 세포와 함께 종양 항원을 향해 유도되는 항체 (여기에서 항체는 P329G 돌연변이를 포함한다) 의 조합에 의한 종양 세포의 치료는 놀랍게도 항-P329G-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD (SEQ ID NOs: 19 (DNA) 및 7 (단백질)) 융합체 단백질을 발현하는 형질도입된 T 세포와 비교하여 형질도입된 T 세포의 더 강한 활성화를 초래한다 (참고, 예를 들어 도 6 및 8 내지 11).

[0157] 따라서, 놀랍게도 예상 외로 발견된 점은 본 발명의 항원 결합 수용체로 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 종양-특이적 항체의 사용에 의해 특이적으로 자극되고, 연결 요소로서의 종양-특이적 항체에 의해 종양 세포로 동원될 수 있다는 점이다. 따라서, 놀랍게도 예상 외로 본 발명에서 보여진 점은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 종양-특이적 항체, 즉, 치료적 항체와, 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는/그것으로 이루어지는 항원 결합 수용체로 형질도입된 T 세포를 짝짓는 것 (pairing) 은 T 세포의 특이적 활성화 및 종양 세포의 후속적 용해를 초래할 것이라는 점이다. 이러한 접근법은 종래의 T 세포 기반 접근법에 비해 유의한 안전성 이점을 보유하며, 그 이유는 T 세포는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 부재 하에 불활성일 것이고, 그들의 이용가능성은 선택되는 항체 분자 구성에 의해 제어될 수 있기 때문이다 (즉, 더 짧은 반감기를 위해서 더 작은 분자 및 그 반대의 경우도 마찬가지). 따라서, 본 발명은 T 세포를 위한 안내로서 종양 세포를 마크 또는 표지하기 위해 IgG 유형 항체가 사용될 수 있고, IgG 유형 항체의 돌연변이된 Fc 도메인에 대한 특이성을 제공함으로써 형질도입된 T 세포가 종양 세포를 향해 특이적으로 표적화되는 범용 치료적 플랫폼을 제공한다.

종양 세포의 표면 상의 항체의 돌연변이된 Fc 도메인에 결합한 후에, 본원에 기재된 바와 같은 형질도입된 T 세포는 활성화되고, 종양 세포는 후속적으로 용해될 것이다. 이 플랫폼은 다양한 (기존의 또는 새로 개발된) 표적 항체의 사용 또는 상이한 항원 특이성을 갖지만 동일한 돌연변이를 Fc 도메인에 포함하는 다수의 항체의 동시 적용을 허용함으로써 유연하고 특이적이다. 동시 적용되는 치료적 항체의 투여량을 조정함으로써 또는 상이한 항체 특이성 또는 구성으로 스위칭함으로써, T 세포 활성화의 정도는 추가로 조정될 수 있다.

본 발명에 따른 형질도입된 T 세포는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 표적화 항체의 동시 적용 없이는 불활성이며, 그 이유는 본원에 기재된 바와 같은 Fc 도메인에 대한 돌연변이는 천연 또는 돌연변이되지 않은 면역글로불린에서는 발생하지 않기 때문이다. 따라서, 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 야생형 면역글로불린에서는 자연적으로 발생하지 않는다.

[0158] 따라서, 본 발명은 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체에 관한 것이며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 비교하여 적어도 하나의 아마노산 돌연변이를 포함하며, 돌연변이된 Fc 도메인에 의한 Fc 수용체 결합 및/또는 돌연변이된 Fc 도메인에 의해 유도되는 이펙터 기능은 돌연변이되지 않은 Fc 도메인에 의한 Fc 수용체 결합 및/또는 돌연변이된 Fc 도메인에 의해 유도되는 이펙터 기능과 비교하여 감소된다. 감소된 이펙

터 기능을 갖는 치료적 항체를 암 요법에서 사용하는 것은 특히 바람직할 수 있으며, 그 이유는 이펙터 기능은 본원에서 추가로 기재되는 바와 같은 항체-기반 중앙 요법의 심각한 부작용을 초래할 수 있기 때문이다.

- [0159] 본 발명의 맥락에서, 항원 결합 수용체는 T 세포에서 또는 상에서 자연적으로 발생하지 않는 세포의 도메인을 포함한다. 따라서, 항원 결합 수용체는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 세포에 대한 맞춤 결합 특이성을 제공할 수 있다. 본 발명의 항원 결합 수용체(들)로 형질도입된 세포, 예를 들어 T 세포는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있게 되지만 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에는 특이적 결합을 할 수 있게 되지 않는다. 특이성은 항원 결합 수용체의 세포의 도메인의 항원 결합 모이어티에 의해 제공되며, 그러한 항원 결합 모이어티는 본원에서 기재된 바와 같은 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적인 것으로 여겨진다. 본 발명의 맥락에서 본원에서 설명되는 바와 같이, 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 Fc 도메인에 결합/그와 상호작용하지만, 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 결합/그와 상호작용하지 않는다.

[0160] 항원 결합 모이어티

- [0161] 본 발명의 예시적 실시형태에서, 개념의 증거로서, 앵커링 경막 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체가 제공되며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함한다.

- [0162] 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티 중 적어도 하나는 종래의 Fab 단편, 즉, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄로 이루어지는 Fab 분자이다. 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티 중 적어도 하나는 crossFab 단편, 즉, Fab 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 또는 불변 영역이 교환되어 있는, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄로 이루어지는 Fab 분자이다. 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티 중 적어도 하나는 scFv 단편이다. 특정 그러한 실시형태에서, 가변 중쇄 (VH) 의 C-말단은 scFv 분자 내의 가변 경쇄 (VL) 의 N-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결된다. 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티 중 적어도 하나는 단일-사슬 Fab 분자, 즉, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄가 펩티드 링커에 의해 연결되어 단일 펩티드 사슬을 형성하는 Fab 분자이다. 특정 그러한 실시형태에서, Fab 경쇄의 C-말단은 단일-사슬 Fab 분자 내의 Fab 중쇄의 N-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결된다.

- [0163] 따라서, 본 발명의 맥락에서, 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함한다.

- [0164] 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티는 예를 들어 포유동물 면역계의 면역화에 의해 생성될 수 있다. 그러한 방법은 당해 기술분야에 알려져 있고, 예를 들어 Burns in Methods in Molecular Biology 295:1-12 (2005) 에 기재되어 있다. 대안적으로, 본 발명의 항원 결합 모이어티는 바람직한 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대한 조합 라이브러리의 스크리닝을 통해 단리될 수 있다. 조합 라이브러리를 스크리닝하기 위한 방법은 예를 들어, [Lerner et al. in Nature Reviews 16:498-508 (2016)] 에서 고찰된다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리를 생성시키고 바람직한 결합 특성을 보유하는 항원 결합 모이어티에 대해 이러한 라이브러리를 스크리닝하기 위한 다양한 방법이 당해 기술분야에 알려져 있다. 이러한 방법은 예를 들어 [Frenzel et al. in mAbs 8:1177-1194 (2016)]; [Bazan et al. in Human Vaccines and Immunotherapeutics 8:1817-1828 (2012)] 및 [Zhao et al. in Critical Reviews in Biotechnology 36:276-289 (2016)] 뿐만 아니라 [Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)] 에 고찰되어 있고, 예를 들어 [McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991)]; [Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992)] 및 [Marks and Bradbury in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)]; [Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004)]; [Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004)]; [Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004)]; 및 [Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)] 에 더욱 기술되어 있다. 일정한 파지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자의 레파토리는 개별적으로 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 을 통해 클로닝되어 파지 라이브러리로 무작위로 조합되고, [Winter et al. in Annual Review of Immunology 12: 433-455 (1994)] 에 기술된 바와 같이 항원-결합 파지에 대해 스크리닝될 수 있다. 파지는 전형적으로 단일-사슬 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편으

로서, 항체 단편을 디스플레이한다. 면역화된 공급원 유래의 라이브러리는 하이브리도마 제작 요구없이 면역원에 대해 고친화도 항원 결합 모이어티를 제공한다. 대안적으로, 나이브 레파토리를 (예를 들어, 인간 유래) 클로닝하고 [Griffiths et al. in EMBO Journal 12: 725-734 (1993)] 에 기술된 바와 같이 임의의 면역화 없이 광범위한 비자기 및 또한 자기 항원에 대한 항원 결합 모이어티의 단일 공급원을 제공할 수 있다. 마지막으로, 나이브 라이브러리는 또한 [Hoogenboom and Winter in Journal of Molecular Biology 227: 381-388 (1992)] 에 기술된 바와 같이, 고도의 가변성 CDR3 영역을 인코딩하고 시험관 내에서 재배열을 수행하기 위해 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용하고, 줄기 세포로부터 비재배열된 V-유전자 절편을 클로닝하여 합성적으로 만들어질 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기술하는 공개 특허는 예를 들어, 미국 특허 제5,750,373호; 제7,985,840호; 제7,785,903호 및 제8,679,490호 뿐만 아니라 미국 공개 특허 출원 번호 2005/0079574, 2007/0117126, 2007/0237764 및 2007/0292936 및 2009/0002360 을 포함한다. 바람직한 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 스크리닝하기 위해 당해 기술분야에 알려진 방법의 추가 예는 리보솜 및 mRNA 디스플레이를 비롯하여, 박테리아, 포유동물 세포, 곤충 세포 또는 효모 세포 상에 항체 디스플레이 및 선택을 위한 방법을 포함한다. 효모 표면 디스플레이를 위한 방법은 예를 들어, [Scholler et al. in Methods in Molecular Biology 503:135-56 (2012)] 및 [Cherf et al. in Methods in Molecular biology 1319:155-175 (2015)] 뿐만 아니라 [Zhao et al. in Methods in Molecular Biology 889:73-84 (2012)] 에 고찰되어 있다. 리보솜 디스플레이를 위한 방법은 예를 들어, [He et al. in Nucleic Acids Research 25:5132-5134 (1997)] 및 [Hanes et al. in PNAS 94:4937-4942 (1997)] 에 기술되어 있다.

[0165] 본 발명의 맥락에서, 본원에서 제공되는 것은 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 항원 결합 수용체이다. 따라서, 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 세포, 즉, T 세포는 항체, 즉, 치료적 항체의 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있다. Fc 도메인은 항체, 즉, 치료적 항체에, 표적 조직에서의 양호한 축적 및 유리한 조직-혈액 분포 비에 기여하는 긴 혈청 반감기를 포함하는 유리한 약동학적 특성을 제공한다. 동시에 그것은, 그러나, 바람직한 항원-보유 세포로 보다는 Fc 수용체를 발현하는 세포로 치료적 항체의 바람직하지 않은 표적화를 초래할 수 있다. 더욱이, Fc 수용체 신호전달 경로의 동시-활성화는 사이토카인 방출을 초래할 수 있으며, 이는 치료적 항체의 전신 투여시 사이토카인 수용체의 과잉 활성화 및 심각한 부작용을 초래한다. T 세포 이외의 (Fc 수용체-보유) 면역 세포의 활성화는 심지어는 면역 세포의 잠재적 파괴로 인해 치료적 항체의 효능을 감소시킬 수 있다. 따라서, 당해 기술 분야에 알려진 치료적 항체는, 예를 들어, 천연 IgG₁ Fc 도메인과 비교하여, Fc 수용체에 대한 감소된 결합 친화도 및/또는 감소된 이펙터 기능을 나타내도록 조작 또는 돌연변이될 수 있다. 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 사용하여 시험관내에서 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 발현하는 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포를 표적화하고/하거나 생체내에서 표적 세포에 특이적 결합을 할 수 있는 항체로 표지된 표적 세포, 즉, 종양 세포를 표적화할 수 있으며, 여기에서 항체는 본원에 기재된 바와 같은 조작된 및/또는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함한다.

[0166] 본 발명의 예시적 실시형태에서, 개념의 증거로서, 제공되는 것은 아미노산 돌연변이 P329G 를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체 및 상기 항원 결합 수용체를 발현하는 이펙터 세포이다. P329G 돌연변이는 Fc γ 수용체에 대한 결합 및 관련된 이펙터 기능을 감소시킨다. 따라서, P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 Fc 도메인과 비교하여 감소된 또는 상실된 친화도로 Fc γ 수용체에 결합한다. 본 발명의 대안적 예시적 실시형태에서, 개념의 증거로서 제공되는 것은 아미노산 돌연변이 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체이다. AAA 돌연변이는 FcRn 에 대한 결합을 본질적으로 없앤다.

[0167] 그러나, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 Fc 수용체 (FcR) 에 대한 결합 및/또는 이펙터 기능이 감소된, 개선된 또는 약화된 항체가 당해 기술분야에서 널리 사용된다. 따라서, 본원에서 제공되는 것은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체이며, 그러한 항체는 본원에서 또한 표적 항체로서 언급된다. 따라서, 하나의 실시형태에서 본 발명의 항원 결합 수용체는 Fc 수용체에 대한 감소된 결합 친화도 및/또는 감소된 이펙터 기능으로 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 표적 항체에 특이적 결합을 할 수 있다. 감소된 이펙터 기능을 갖는 표적 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 것을 포함한다 (미국 특허 No. 6,737,056). 그러한 Fc 돌연변이체는 잔기 265 및 297 의 알라닌으로의 돌연변이를 포함하는 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 포함하는, 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 둘 이상에서 돌연변이를 포함하는 Fc 돌연변이체를 포함한다 (미국 특허 No. 7,332,581). FcR 에 대한 결합이 개선된 또는 약화된 특정 항체 변이체가 기재되어 있다 (참고, 예를 들어,

미국 특허 No. 6,737,056; WO 2004/056312, 및 Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)). 특정 실시형태에서, ADCC 을 개선하는 하나 이상의 아미노산 돌연변이, 예를 들어, Fc 영역의 위치 298, 333, 및/또는 334 (잔기의 EU 번호매김) 에서의 돌연변이를 포함하는 Fc 영역을 포함하는 항체 돌연변이체에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체가 제공된다. 특정 실시형태에서, 표적 항체 돌연변이체는 FcRn 결합을 감소 또는 약화시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이, 예를 들어, Fc 영역의 위치 253, 및/또는 310, 및/또는 435 (잔기의 EU 번호매김) 에서의 돌연변이를 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 특정 실시형태에서, 표적 항체 돌연변이체는 위치 253, 310 및 435 에서 아미노산 돌연변이를 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 하나의 실시 형태에서 돌연변이는 인간 IgG1 Fc 영역에서 유래하는 Fc 영역에서의 I253A, H310A 및 H435A 이다. 참고, 예를 들어, Grevys, A., et al., J. Immunol. 194 (2015) 5497-5508.

[0168] 특정 실시형태에서, FcRn 결합을 감소 또는 약화시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이, 예를 들어, Fc 영역의 위치 310 및/또는, 433 및/또는 436 (잔기의 EU 번호매김) 중 하나에서 돌연변이를 포함하는 Fc 영역을 포함하는 항체 돌연변이체에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체가 제공된다. 특정 실시형태에서, 표적 항체 돌연변이체는 위치 310, 433 및 436 에서 아미노산 돌연변이를 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 하나의 실시 형태에서 돌연변이는 인간 IgG1 Fc 영역에서 유래하는 Fc 영역에서의 H310A, H433A 및 Y436A 이다. 특정 실시형태에서, 표적 항체 돌연변이체는 FcRn 결합을 증가시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이, 예를 들어, Fc 영역의 위치 252 및/또는, 254 및/또는 256 (잔기의 EU 번호매김) 에서 돌연변이를 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 특정 실시형태에서, 표적 항체 돌연변이체는 위치 252, 254, 및 256 에서 아미노산 돌연변이를 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 하나의 실시 형태에서 돌연변이는 인간 IgG1 Fc 영역에서 유래하는 Fc 영역에서의 M252Y, S254T 및 T256E 이다. 특정 실시형태에서, Fc γ R 결합을 약화시키는 아미노산 돌연변이, 예를 들어, Fc 영역의 위치 234, 235 및 329 (잔기의 EU 번호매김) 에서 돌연변이를 포함하는 Fc 영역을 포함하는 항체 돌연변이체에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체가 제공된다. 하나의 실시 형태에서 돌연변이는 L234A 및 L235A (LALA) 이다. 특정 실시형태에서, 표적 항체 돌연변이체는 인간 IgG1 Fc 영역에서 유래하는 Fc 영역에서 D265A 및/또는 P329G 를 추가로 포함한다. 하나의 실시 형태에서 돌연변이는 인간 IgG1 Fc 영역에서 유래하는 Fc 영역에서의 P329G ("PG") 이다. 또다른 실시 형태에서, 돌연변이는 인간 IgG1 Fc 영역에서 유래하는 Fc 영역에서의 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 이다.

[0169] 하나의 실시 형태에서 항원 결합 모이어티는 안정적 연합을 할 수 있는 제 1 및 제 2 서브유닛으로 구성되는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있다. 하나의 실시 형태에서 Fc 도메인은 IgG, 구체적으로 IgG₁ 또는 IgG₄, Fc 도메인이다. 하나의 실시 형태에서 Fc 도메인은 인간 Fc 도메인이다. 하나의 실시 형태에서 돌연변이된 Fc 도메인은 천연 IgG₁ Fc 도메인 과 비교하여 Fc 수용체에 대한 감소된 결합 친화도 및/또는 감소된 이펙터 기능을 나타낸다. 하나의 실시 형태에서 Fc 도메인은 Fc 수용체에 대한 결합 및/또는 이펙터 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다.

[0170] 하나의 바람직한 실시 형태에서 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 L234, L235, 및 P329 (카바트 번호매김) 의 군으로부터 선택되는 하나 이상 위치에 있다. 하나의 특정 실시 형태에서 Fc 도메인의 각각의 서브유닛은 활성화 Fc 수용체에 대한 결합 및/또는 이펙터 기능을 감소시키는 세 개의 아미노산 돌연변이를 포함하며, 상기 아미노산 돌연변이는 L234A, L235A 및 P329G 이다. 하나의 특정 실시 형태에서 Fc 수용체는 Fc γ 수용체이다. 하나의 실시 형태에서 이펙터 기능은 항체-의존적 세포-매개 세포독성 (ADCC) 이다.

[0171] 특정 실시 형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 P329G 돌연변이를 포함한다. 따라서, P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 Fc 도메인과 비교하여 감소된 또는 상실된 친화도로 Fc γ 수용체에 결합한다. 하나의 실시 형태에서, 항원 결합 수용체의 세포의 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 하기 중 적어도 하나를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다:

[0172] (a) RYWMN (SEQ ID NO:1) 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열;

[0173] (b) EITPDSSTINYTPSLKD (SEQ ID NO:2) 의 CDR H2 아미노산 서열; 및

[0174] (c) PYDYGAWFAS (SEQ ID NO:3) 의 CDR H3 아미노산 서열.

[0175] 하나의 실시 형태에서 항원 결합 수용체의 세포의 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 하기 중 적어도 하나를 포함하는 경쇄 가

변 영역을 포함한다:

- [0176] (d) RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:4) 의 경쇄 (CDR L) 1 아미노산 서열;
- [0177] (e) GTNKRAP (SEQ ID NO:5) 의 CDR L2 아미노산 서열; 및
- [0178] (f) ALWYSNHVW (SEQ ID NO:6) 의 CDR L3 아미노산 서열.
- [0179] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 및 SEQ ID NO:3 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 적어도 하나의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 및 SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 및 SEQ ID NO:6 의 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 경쇄 CDR 을 포함한다.
- [0180] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 및 SEQ ID NO:3 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 및 SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 및 SEQ ID NO:6 의 경쇄 CDR 을 포함한다.
- [0181] 하나의 바람직한 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역:
- [0182] (a) RYWMN (SEQ ID NO:1) 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열;
- [0183] (b) EITPDSSTINYTPSLKD (SEQ ID NO:2) 의 CDR H2 아미노산 서열;
- [0184] (c) PYDYGAWFAS (SEQ ID NO:3) 의 CDR H3 아미노산 서열;
- [0185] 및 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다:
- [0186] (d) RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:4) 의 경쇄 (CDR L) 1 아미노산 서열;
- [0187] (e) GTNKRAP (SEQ ID NO:5) 의 CDR L2 아미노산 서열; 및
- [0188] (f) ALWYSNHVW (SEQ ID NO:6) 의 CDR L3 아미노산 서열.
- [0189] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:8 및 SEQ ID NO:32 로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 SEQ ID NO:9 및 SEQ ID NO:33 로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.
- [0190] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:8 및 SEQ ID NO:32 로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH), 및 SEQ ID NO:9 및 SEQ ID NO:33 로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.
- [0191] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:32 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 SEQ ID NO:33 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.
- [0192] 하나의 바람직한 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:8 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 SEQ ID NO:9 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.
- [0193] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 scFv, Fab, crossFab 또는 scFab 단편이다. 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 Fab 단편이다.
- [0194] 바람직한 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, Fab 단편은 SEQ ID NO:40 의 중쇄 및 SEQ ID NO:41 의 경쇄를

포함한다.

- [0195] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 중쇄 가변 도메인 (VH), 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 링커로 이루어지는 폴리펩티드인 scFv 단편이며, 상기 가변 도메인 및 상기 링커는 N-말단에서 C-말단 방향으로 하기 구성 중 하나를 갖는다: a) VH-링커-VL 또는 b) VL-링커-VH. 바람직한 실시형태에서, scFv 단편은 구성 VH-링커-VL 을 갖는다.
- [0196] 바람직한 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, scFv 단편은 SEQ ID NO:10 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0197] 대안적 특정 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인은 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 돌연변이를 포함한다. AAA 돌연변이는 신생아 Fc 수용체 (FcRn) 에 대한 결합을 감소시킨다. 따라서, AAA 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 Fc 도메인과 비교하여 감소된 또는 상실된 친화도로 FcRn 에 결합한다.
- [0198] 따라서, 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 하기 중 적어도 하나를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다:
 - [0199] (a) SYGMS (SEQ ID NO:53) 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열;
 - [0200] (b) SSGGSY (SEQ ID NO:54) 의 CDR H2 아미노산 서열; 및
 - [0201] (c) LGMITTYGYAMDY (SEQ ID NO:55) 의 CDR H3 아미노산 서열.
- [0202] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 하기 중 적어도 하나를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다:
 - [0203] (d) RSSQTIVHSTGHTYLE (SEQ ID NO:56) 의 경쇄 (CDR L) 1 아미노산 서열;
 - [0204] (e) KVSNRFS (SEQ ID NO:57) 의 CDR L2 아미노산 서열; 및
 - [0205] (f) FQGSHPYPT (SEQ ID NO:58) 의 CDR L3 아미노산 서열.
- [0206] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54 및 SEQ ID NO:55 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 적어도 하나의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 및 SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57 및 SEQ ID NO:58 의 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 경쇄 CDR 을 포함한다.
- [0207] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54 및 SEQ ID NO:55 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDRs) 및 SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57 및 SEQ ID NO:58 의 경쇄 CDR 을 포함한다.
- [0208] 바람직한 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역:
 - [0209] (a) SYGMS (SEQ ID NO:53) 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열;
 - [0210] (b) SSGGSY (SEQ ID NO:54) 의 CDR H2 아미노산 서열;
 - [0211] (c) LGMITTYGYAMDY (SEQ ID NO:55) 의 CDR H3 아미노산 서열;
 및 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다:
 - [0213] (d) RSSQTIVHSTGHTYLE (SEQ ID NO:56) 의 경쇄 (CDR L) 1 아미노산 서열;
 - [0214] (e) KVSNRFS (SEQ ID NO:57) 의 CDR L2 아미노산 서열; 및

- [0215] (f) FQGSHVPTY (SEQ ID NO:58) 의 CDR L3 아미노산 서열.
- [0216] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:61 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 SEQ ID NO:62 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.
- [0217] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:61 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH), 및 SEQ ID NO:62 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함한다.
- [0218] 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 scFv, Fab, crossFab 또는 scFab 단편이다. 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 Fab 단편이다. 특정 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, Fab 단편은 SEQ ID NO:64 의 중쇄 및 SEQ ID NO:65 의 경쇄를 포함한다.
- [0219] 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 scFv 단편이다. 특정 실시형태에서 항원 결합 수용체의 세포외 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하며, scFv 단편은 SEQ ID NO:60 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0220] 본 발명에 따른 추가의 실시형태에서 세포외 도메인에 포함되는 항원 결합 모이어티는 단일 사슬 Fab 단편 또는 scFab 이다.
- [0221] Fab 및 scFab 단편은 CL 도메인과 CH1 도메인 사이의 천연 다이설파이드 결합을 통해 안정화된다. 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 경쇄 가변 도메인 (VL) 을 포함하는 항원 결합 모이어티, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 Fab, crossFab, scFv 및 scFab 단편은 VH 및 VL 도메인 사이에 사슬간 다이설파이드 브릿지를 도입함으로써 추가로 안정화될 수 있다. 따라서, 하나의 실시형태에서, 본 발명에 따른 항원 결합 수용체에 포함되는 Fab 단편(들), crossFab 단편(들), scFv 단편(들) 및/또는 scFab 단편(들)은 시스테인 잔기의 삽입 (예를 들어, 카바트 번호매김에 따른 가변 중쇄에서의 위치 44 및 가변 경쇄에서의 위치 100) 을 통해 사슬간 다이설파이드 결합의 생성에 의해 추가로 안정화될 수 있다. 그러한 안정화된 항원 결합 모이어티는 첨부된 실시예 및 도면에서 용어 "ds" 로 언급된다.
- [0222] 앵커링 경막 도메인
- [0223] 본 발명의 맥락에서, 본 발명의 항원 결합 수용체의 앵커링 경막 도메인은 포유동물 프로테아제에 대한 절단 부위를 갖지 않는 것을 특징으로 할 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 프로테아제는 프로테아제에 대한 절단 부위를 포함하는 경막 도메인의 아미노산 서열을 가수분해할 수 있는 단백질가수분해 효소를 의미한다. 이 용어 프로테아제는 엔도펩티다제 및 엑소펩티다제 둘 모두를 포함한다. 본 발명의 맥락에서 특히 CD-명명법에 의해 정해진 경막 단백질의 임의의 앵커링 경막 도메인은 본원에 기재된 바와 같은 돌연변이된 Fc 도메인에 결합시 T 세포, 바람직하게 CD8+ T 세포를 활성화시키는, 본 발명의 항원 결합 수용체를 생성시키는데 사용될 수 있다.
- [0224] 따라서, 본 발명의 맥락에서, 앵커링 경막 도메인은 쥐과/마우스 또는 바람직하게 인간 경막 도메인의 일부분을 포함할 수 있다. 이러한 앵커링 경막 도메인에 대한 예는 예를 들어, SEQ ID NO:11 로 본원에 표시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 CD28 의 경막 도메인이다 (SEQ ID NO:24 에 표시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨). 본 발명의 맥락에서, 본 발명의 항원 결합 수용체의 경막 도메인은 SEQ ID NO:11 에 표시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함할 수 있고/그로 이루어질 수 있다 (SEQ ID NO:24 에 표시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨).
- [0225] 본 발명의 예시적인 실시형태에서, 개념의 증거로서, SEQ ID NO:10 의 아미노산 서열 (SEQ ID NO:22 에 표시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨) 을 포함하는 항원 결합 모이어티, 및 SEQ ID NO:71 (SEQ ID NO:70 에 표시된 DNA

서열에 의해 인코딩됨)로서 본원에서 표시된 CD28 의 단편/폴리펩티드 (인간 CD28 의 Uniprot 등재 번호는 P10747 임 (서열의 버전 번호 173 및 버전 1)) 부분을 포함하는 항원 결합 수용체가 제공된다. 대안적으로, 특히 CD 명명법으로 제공되는, 경막 도메인을 갖는 임의의 단백질은 본 발명의 항원 결합 수용체 단백질의 앵커링 경막 도메인으로서 사용될 수 있다. 상기에 기술된 바와 같이 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:71 에 표시된 인간 전장 CD28 (SEQ ID NO:70 에 표시된 cDNA 에 의해 인코딩됨) 의 아미노산 153 내지 179, 154 내지 179, 155 내지 179, 156 내지 179, 157 내지 179, 158 내지 179, 159 내지 179, 160 내지 179, 161 내지 179, 162 내지 179, 163 내지 179, 164 내지 179, 165 내지 179, 166 내지 179, 167 내지 179, 168 내지 179, 169 내지 179, 170 내지 179, 171 내지 179, 172 내지 179, 173 내지 179, 174 내지 179, 175 내지 179, 176 내지 179, 177 내지 179 또는 178 내지 179 에 위치한 CD28 의 앵커링 경막 도메인을 포함할 수 있다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 앵커링 경막 도메인은 SEQ ID NO:11 에 표시된 바와 같은 아미노산 서열 (SEQ ID NO:24 에 표시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨) 을 포함할 수 있거나 또는 그로 이루어질 수 있다.

- [0226] 하나의 실시형태에서 제공되는 것은 앵커링 경막 도메인 및 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편을 포함하는 세포외 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체이며, 항원 결합 수용체는 하기를 포함한다:
- [0227] (a) C-말단에서 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커를 통해, 융합된 SEQ ID NO:64 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및
- [0228] (b) SEQ ID NO:65 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.
- [0229] 하나의 실시형태에서 제공되는 것은 앵커링 경막 도메인 및 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편을 포함하는 세포외 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체이며, 항원 결합 수용체는 하기를 포함한다:
- [0230] (a) C-말단에서 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커를 통해, 융합된 SEQ ID NO:40 및 SEQ ID NO:49 로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및
- [0231] (b) SEQ ID NO:41 및 SEQ ID NO:50 로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.
- [0232] 하나의 실시형태에서 제공되는 것은 앵커링 경막 도메인 및 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편을 포함하는 세포외 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체이며, 항원 결합 수용체는 하기를 포함한다:
- [0233] (a) C-말단에서 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커를 통해, 융합된 SEQ ID NO:40 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및
- [0234] (b) SEQ ID NO:41 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.
- [0235] 하나의 바람직한 실시형태에서 제공되는 것은 앵커링 경막 도메인 및 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편을 포함하는 세포외 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체이며, 항원 결합 수용체는 하기를 포함한다:
- [0236] (a) C-말단에서 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커를 통해, 융합된 SEQ ID NO:49 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및
- [0237] (b) SEQ ID NO:50 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄.
- [0238] 하나의 실시형태에서 제공되는 것은 앵커링 경막 도메인 및 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 단편을 포함하는 세포외 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체이며, 항원 결합 수용체는 C-말단에서 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커를 통해, 융합된 SEQ ID NO:60 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0239] 하나의 실시형태에서 제공되는 것은 앵커링 경막 도메인 및 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 단편을 포함하는 세포외 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체이며, 항원 결합 수용체는 C-말단에서 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커를 통해, 융합된 SEQ ID NO:10 및 SEQ ID NO:34 로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

- [0240] 하나의 바람직한 실시형태에서 제공되는 것은 앵커링 경막 도메인 및 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 단편을 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체이며, 항원 결합 수용체는 C-말단에서 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커를 통해, 융합된 SEQ ID NO:10 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0241] 하나의 실시형태에서 제공되는 것은 앵커링 경막 도메인 및 P329G 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFab 단편을 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체이며, scFv 단편은 C-말단에서 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커를 통해, 융합된 SEQ ID NO:34 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0242] 자극성 신호전달 도메인 (SSD) 및 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD)
- [0243] 바람직하게, 본 발명의 항원 결합 수용체는 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인 및/또는 적어도 하나의 보조 자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 따라서, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 바람직하게 T 세포 활성화를 제공하는, 자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 쥐과/마우스 또는 인간 CD3z (인간 CD3z 의 UniProt 등재 번호는 P20963 (서열번호 2 를 갖는 버전 번호 177; 쥐과/마우스 CD3z 의 UniProt 등재 번호는 P24161 (1차 인용가능 수탁 번호) 또는 Q9D3G3 (2차 인용가능 수탁 번호) (버전 번호 143 및 서열 번호 1 을 가짐) 임), Fcgr3A (인간 FCGR3A 의 UniProt 등재번호는 P08637 (서열번호 2 를 갖는 버전 번호 178) 임), 또는 NKG2D (인간 NKG2D 의 UniProt 등재 번호는 P26718 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 151) 임; 쥐과/마우스 NKG2D 의 UniProt 등재 번호는 054709 (서열번호 2 를 갖는 버전 번호 132) 임) 의 단편/폴리펩티드 단편인 자극성 신호전달 도메인을 포함할 수 있다.
- [0244] 따라서, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체에 포함되는 자극성 신호전달 도메인은 CD3z, Fcgr3A 또는 NKG2D 의 전장의 폴리펩티드 부분/단편일 수 있다. CD3z, 또는 NKG2D 의 쥐과/마우스 전장의 아미노산 서열은 본원에서 SEQ ID NOs: 96 (CD3z), 100 (Fcgr3A) 또는 104 (NKG2D) (SEQ ID NOs:97 (CD3z), 101 (FCGR3A) 또는 105 (NKG2D) 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩되는 쥐과/마우스) 로서 표시된다. 인간 전장 CD3z, Fcgr3A 또는 NKG2D 의 아미노산 서열은 SEQ ID NOs:94 (CD3z), 98 (FCGR3A) 또는 102 (NKG2D) (SEQ ID NOs:95 (CD3z), 99 (FCGR3A) 또는 103 (NKG2D) 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩되는 인간) 로서 본원에서 표시된다. 본 발명의 항원 결합 수용체는 자극성 도메인으로서 CD3z, Fcgr3A 또는 NKG2D 의 단편을 포함할 수 있고, 단 적어도 하나의 신호전달 도메인이 포함된다. 특히, CD3z, Fcgr3A, 또는 NKG2D 의 임의의 부분/단편은 적어도 하나의 신호전달 모티프가 포함되는 한 자극성 도메인으로서 적합하다. 그러나, 더 바람직하게, 본 발명의 항원 결합 수용체는 인간 기원으로부터 유래된 폴리펩티드를 포함한다. 따라서, 더욱 바람직하게는, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 SEQ ID NOs:94 (CD3z), 98 (FCGR3A) 또는 102 (NKG2D) (SEQ ID NOs:95 (CD3z), 99 (FCGR3A) 또는 103 (NKG2D) 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩되는 인간) 로서 본원에 표시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 항원 결합 수용체에 포함될 수 있는 인간 CD3z 의 단편/폴리펩티드 부분은 SEQ ID NO:13 (SEQ ID NO:26 에 표시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨) 에 표시된 아미노산 서열을 포함할 수 있거나 또는 그로 이루어진다. 따라서, 하나의 실시형태에서 항원 결합 수용체는 자극성 신호전달 활성을 갖는 것을 특징으로 하고 SEQ ID NO:13 에 표시된 바와 같은 서열 또는 SEQ ID NO:13 과 비교하여 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30 개의 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 서열을 포함한다. 자극성 신호전달 도메인 (SSD) 을 포함하는 항원 결합 수용체의 특별한 입체구성이 하기 및 실시예 및 도면에 제공된다. 자극성 신호전달 활성은 예를 들어, ELISA (IL-2, IFN γ , TNF α)로 측정되는 증강된 사이토카인 방출, 증강된 증식 활성 (증강된 세포수로 측정), 또는 LDH 방출 어세이로 측정시 증강된 용해 활성으로 결정될 수 있다.
- [0245] 게다가, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 바람직하게 T 세포에 대해 추가의 활성을 제공하는 적어도 하나의 보조자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 쥐과/마우스 또는 인간 CD28 (인간 CD28 의 UniProt 등재 번호는 P10747 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 173) 이고; 쥐과/마우스 CD28 의 UniProt 등재 번호는 P31041 (서열번호 2 를 갖는 버전 번호 134) 임), CD137 (인간 CD137 의 UniProt 등재 번호는 Q07011 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 145) 이고; 쥐과/마우스 CD137 의 UniProt 등재 번호는 P20334 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 139) 임), OX40 (인간 OX40 의 UniProt 등재 번호는 P23510 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 138) 이고; 쥐과/마우스 OX40 의 UniProt 등재 번호는 P43488 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 119) 임), ICOS (인간 ICOS 의 UniProt 등재 번호는 Q9Y6W8 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 126) 임); 쥐과/마우스 ICOS 는 Q9WV40 (1차 인용가능 수탁 번호) 또는 Q9JL17 (2차 인용가능 수탁 번호) (버전 번호 102 및 서열

버전 2) 임), CD27 (인간 CD27 의 UniProt 등재 번호는 P26842 (서열번호 2 를 갖는 버전 번호 160) 임); 쥐과/마우스 CD27 의 UniProt 등재 번호는 P41272 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 137) 임), 4-1-BB (쥐과/마우스 4-1-BB 의 UniProt 등재 번호는 P20334 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 140) 이고; 인간 4-1-BB 의 UniProt 등재 번호는 Q07011 (서열 버전을 갖는 버전 번호 146) 임), DAP10 (인간 DAP10 은 Q9UBJ5 (서열번호 1 을 갖는 버전 번호 25) 이고; 쥐과/마우스 DAP10 의 UniProt 등재 번호는 Q9QUJ0 (1차 인용가능 수탁 번호) 또는 Q9R1E7 (2차 인용가능 수탁 번호) (버전 번호 101 및 서열 번호 1) 임) 또는 DAP12 (인간 DAP12 의 UniProt 등재 번호는 O43914 (버전 번호 146 및 서열번호 1) 이고; 쥐과/마우스 DAP12 의 UniProt 등재 번호는 O054885 (1차 인용가능 수탁 번호) 또는 Q9R1E7 (2차 인용가능 수탁 번호) (버전 번호 123 및 서열번호 1) 임) 의 폴리펩티드 부분/단편인 보조자극성 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 본 발명의 항원 결합 수용체는 하나 이상의, 즉 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개의 본원에 정의된 바와 같은 보조자극성 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 본 발명의 항원 결합 수용체는 제1 보조자극성 신호전달 도메인으로서 쥐과/마우스 또는 바람직하게 인간 CD28 의 폴리펩티드 부분/단편을 포함할 수 있고 제2 보조자극성 신호전달 도메인은 쥐과/마우스 또는 바람직하게 인간 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12, 또는 이의 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직하게, 본 발명의 항원 결합 수용체는 인간 기원으로부터 유래된 보조자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 따라서, 더 바람직하게, 본 발명의 항원 결합 수용체에 포함된 보조자극성 신호전달 도메인(들)은 SEQ ID NO:12 (SEQ ID NO:25 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨) 에 표시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함할 수 있거나 또는 그로 이루어질 수 있다.

[0246] 따라서, 본원에 제공된 항원 결합 수용체에 임의로 포함될 수 있는 보조자극성 신호전달 도메인은 전장 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12 의 폴리펩티드 부분/단편이다. 쥐과/마우스 전장 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, CD27, DAP10 또는 DAP12 의 아미노산 서열은 본원에서 SEQ ID NOs:69 (CD27), 73 (CD28), 77 (CD137), 81 (OX40), 85 (ICOS), 89 (DAP10) 또는 93 (DAP12) (SEQ ID NOs:68 (CD27), 72 (CD28), 76 (CD137), 80 (OX40), 84 (ICOS), 88 (DAP10) 또는 92 (DAP12) 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩되는 쥐과/마우스) 로 제시된다. 그러나, 인간 서열이 본 발명의 맥락에서 가장 바람직하기 때문에, 본원에 제공되는 항원 결합 수용체 단백질에 임의로 포함될 수 있는 보조자극성 신호전달 도메인은 인간 전장 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 의 폴리펩티드 부분/단편이다. 인간 전장 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 의 아미노산 서열은 본원에서 SEQ ID NOs: 67(CD27), 71 (CD28), 75 (CD137), 79 (OX40), 83 (ICOS), 87 (DAP10) 또는 91 (DAP12) (SEQ ID NOs: 66 (CD27), 70 (CD28), 74 (CD137), 78 (OX40), 82 (ICOS), 86 (DAP10) 또는 90 (DAP12) 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩되는 인간) 로서 제시된다.

[0247] 하나의 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 도메인으로서 CD28 또는 이의 단편을 포함한다. 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 도메인으로서 CD28 의 단편을 포함할 수 있고, 단 CD28 의 적어도 하나의 신호전달 도메인이 포함된다. 특히, CD28 의 임의의 부분/단편은 CD28 의 적어도 하나의 신호전달 모티프가 포함되는 한 본 발명의 항원 결합 수용체에 적합하다. 예를 들어, 본 발명의 항원 결합 수용체 단백질에 포함되는 CD28 폴리펩티드는 SEQ ID NO:12 (SEQ ID NO:25 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨) 에 표시된 아미노산 서열을 포함할 수 있거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 본 발명에서, 보조자극성 신호전달 도메인으로서 기능하는 CD28 의 세포내 도메인은 서열(들) YNMN (SEQ ID NO:106) 및/또는 PYAP (SEQ ID NO:107) 을 갖는 CD28 폴리펩티드의 세포내 도메인으로부터 유래된 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게, 본 발명의 항원 결합 수용체는 인간 기원으로부터 유래된 폴리펩티드를 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 항원 결합 수용체에 포함될 수 있는 인간 CD28 의 폴리펩티드 부분/단편은 SEQ ID NO:12 (SEQ ID NO:25 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨) 에 표시된 아미노산을 포함할 수 있고 또는 그로 이루어질 수 있다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 활성을 갖는 것을 특징으로 하고, SEQ ID NO:12 에 제시된 서열 또는 SEQ ID NO:12와 비교하여 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 개 치환, 결실 또는 삽입을 갖는 서열을 포함한다. 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 을 포함하는 항원 결합 수용체의 특별한 입체구조는 하기 및 실시예 및 도면에 제공된다. 보조자극성 신호전달 활성은 ELISA에 측정시 증가된 사이토카인 방출 (IL-2, IFN γ , TNF α), 증강된 증식 활성 (증강된 세포수로 측정), 또는 LDH 방출 어세이로 측정시 증강된 용해 활성을 통해 결정될 수 있다.

[0248] 상기 언급된 바와 같이, 본 발명의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 보조자극성 신호전달 도메인은 인간 CD28 유전자 (Uni Prot 등재 번호: P10747 (등재 버전: 173 의 수탁 번호 및 서열의 버전 1)) 로부터 유래될 수 있고 형질도입된 T 세포처럼, 본원에 기술된 형질도입된 세포의 사이토카인 생성, 증식 및 용해 활성으로서 정의되는, CD28 활성을 제공한다. CD28 활성은 사이토카인 예컨대 인터페론-감마 (IFN- γ) 또는 인터루킨 2 (IL-2) 의 ELISA 또는 유세포측정에 의한 사이토카인의 방출, 예를 들어 ki67-측정에 의해 측정된 T 세포의 증

식, 유세포측정에 의한 세포 정량, 또는 표적 세포의 실시간 임피던스 측정으로 평가되는 용해 활성으로 측정될 수 있다 (예를 들어, [Thakur et al., Biosens Bioelectron. 35(1) (2012), 503-506]; [Krutzik et al., Methods Mol Biol. 699 (2011), 179-202]; [Ekkens et al., Infect Immun. 75(5) (2007), 2291-2296]; [Ge et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 99(5) (2002), 2983-2988]; Duwell et al., Cell Death Differ. 21(12) (2014), 1825-1837], [Erratum in: Cell Death Differ. 21(12) (2014), 161] 에 기술된 바와 같은 예를 들어 ICELLigence 장비를 사용함). 보조자극성 신호전달 도메인 PYAP (SEQ ID NO:107 의 AA 208 내지 211 및 YNMN (SEQ ID NO:106 의 AA 191 내지 194) 는 상기에 열거된 CD28 폴리펩티드의 기능 및 기능적 효과에 유리하다. YNMN 도메인의 아미노산 서열은 SEQ ID NO:106 에 표시되어 있고; PYAP 도메인의 아미노산 서열은 SEQ ID NO:107 에 제시되어 있다. 따라서, 본 발명의 항원 결합 수용체에서, CD28 폴리펩티드는 바람직하게 서열 YNMN (SEQ ID NO:106) 및/또는 PYAP (SEQ ID NO:107) 을 갖는 CD28 폴리펩티드의 세포내 도메인으로부터 유래된 서열을 포함한다. 본 발명의 맥락에서, 서열 YNMN (SEQ ID NO:106) 및/또는 PYAP (SEQ ID NO:107) 를 갖는 CD28 폴리펩티드의 세포내 도메인은 예를 들어, 형질도입된 T 세포와 같이, 본원에 기술된 형질도입된 세포의 사이토카인 생성, 증식 및 용해 활성으로서 정의된, CD28 활성을 특징으로 한다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 본 발명의 항원 결합 수용체의 보조자극성 신호전달 도메인은 SEQ ID NO:12 의 아미노산 서열 (인간) (SEQ ID NO:25 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨) 을 갖는다. 그러나, 본 발명의 항원 결합 수용체에서, 이들 도메인 중 하나 또는 둘 모두는 각각 FMNM (SEQ ID NO:108) 및/또는 AYAA (SEQ ID NO:109) 로 돌연변이될 수 있다. 이들 돌연변이 중 하나는 증식하는 능력에 영향없이 사이토카인을 방출하는 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 세포의 능력을 감소시키고, 유리하게 생존능 및 따라서 형질도입된 세포의 치료적 잠재성을 연장시키는데 사용될 수 있다. 또는, 달리 말해서, 이러한 비기능적 돌연변이는 바람직하게 생체내에서 본원에 제공된 항원 결합 수용체가 형질도입된 세포의 지속성을 증가시킨다. 그러나 이들 신호전달 모티프는 본원에 제공된 항원 결합 수용체의 세포내 도메인 내 임의 부위에 존재할 수 있다.

[0249] 링커 및 신호 펩티드

[0250] 더욱이, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 적어도 하나의 링커 (또는 "스페이서") 를 포함할 수 있다. 링커는 일반적으로 최대 20 개 아미노산 길이를 갖는 펩티드이다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 링커는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 개 아미노산의 길이를 가질 수 있다. 예를 들어, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인, 앵커링 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인 및/또는 자극성 신호전달 도메인 사이에 링커를 포함할 수 있다. 그러한 링커는 그들이 항원 결합 수용체의 상이한 폴리펩티드 (즉, 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인, 앵커링 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인 및/또는 자극성 신호전달 도메인) 가 독립적으로 폴딩되고 예상되도록 거동되는 가능성을 증가시키는 장점을 갖는다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인, 포유동물 프로테아제에 대한 절단 부위를 갖지 않는 앵커링 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인 및 자극성 신호전달 도메인은 단일-사슬 다기능성 폴리펩티드에 포함될 수 있다. 단일 사슬 융합 구성체는 예를 들어 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인(들), 앵커링 경막 도메인(들), 보조자극성 신호전달 도메인(들) 및/또는 자극성 신호전달 도메인(들)을 포함하는 폴리펩티드(들)로 이루어질 수 있다. 대안적 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 단일 사슬 융합 구성체가 아닌 항원 결합 모이어티를 포함하고, 즉 항원 결합 모이어티는 Fab 또는 crossFab 단편이다. 그러한 실시형태에서 항원 결합 수용체는 오직 하나의 폴리펩티드 사슬을 포함하는 단일 사슬 융합 구성체가 아니다. 바람직하게는 이러한 구성체는 본원에 기술된 바와 같이 면역글로불린 경쇄와 조합된 단일 사슬 중쇄 융합 폴리펩티드를 포함하게 되며, 예를 들어, 중쇄 융합 폴리펩티드는 면역글로불린 중쇄(들), 앵커링 경막 도메인(들), 보조자극성 신호전달 도메인(들) 및/또는 자극성 신호전달 도메인(들)을 포함하고, 면역글로불린 경쇄(들)과 조합된다. 따라서, 항원 결합 모이어티, 앵커링 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인 및 자극성 신호전달 도메인은 본원에 기술된 바와 같은 하나 이상의 동일하거나 또는 상이한 펩티드 링커에 의해 연결될 수 있다. 예를 들어, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체에서 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인과 앵커링 경막 도메인 사이의 링커는 SEQ ID NO:17 에 표시된 아미노 및 아미노산 서열을 포함할 수 있거나 또는 그로 이루어질 수 있다. 따라서, 앵커링 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인 및/또는 자극성 도메인은 펩티드 링커에 의해서 또는 대안적으로 도메인의 직접 융합에 의해서 서로 연결될 수 있다.

[0251] 본 발명에 따른 일부 실시형태에서 세포의 도메인에 포함되는 항원 결합 모이어티는 10 개 내지 약 25 개 아미

노산의 짧은 링커 펩티드로 연결된, 항체의 중쇄 (VH) 및 경쇄 (VL) 의 가변 영역의 융합 단백질인 단일-사슬 가변 단편 (scFv) 이다. 링커는 일반적으로 유연성을 위해 글리신을 비롯하여, 가용성의 경우 세린 또는 트레오닌이 풍부하고, VH의 N-말단을 VL의 C-말단에 연결할 수 있거나, 또는 그 반대일 수도 있다. 예를 들어, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체에서 링커는 SEQ ID NO:16 에서 제시되는 아미노 및 아미노산 서열을 가질 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 scFv 항원 결합 모이어티는 불변 영역의 제거 및 링커의 도입에도 불구하고 원래의 항체 특이성을 유지한다. scFv 항체는, 예를 들어 Houston, J.S., Methods in Enzymol. 203 (1991) 46-96) 에 기재되어 있다.

[0252] 본 발명에 따른 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에 포함된 항원 결합 모이어티는 중쇄 가변 도메인 (VH), 항체 불변 도메인 1 (CH1), 항체 경쇄 가변 도메인 (VL), 항체 경쇄 불변 도메인 (CL) 및 링커로 이루어진 폴리펩티드인 단일 사슬 Fab 단편 또는 scFab이고, 여기서 상기 항체 도메인 및 상기 링커는 N-말단에서 C-말단 방향으로 하기 순서 중 하나를 갖는다: a) VH-CH1-링커-VL-CL, b) VL-CL-링커-VH-CH1, c) VH-CL-링커-VL-CH1 또는 d) VL-CH1-링커-VH-CL, 상기 링커는 적어도 30 개 아미노산, 바람직하게는 32 개 내지 50 개 아미노산의 폴리펩티드이다. 상기 단일 사슬 Fab 단편은 CL 도메인 및 CH1 도메인 사이의 천연 다이설파이드 결합을 통해 안정화된다.

[0253] 본 발명에 따른 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에 포함된 항원 결합 모이어티는 항체 중쇄 가변 도메인 (VH), 항체 불변 도메인 1 (CH1), 항체 경쇄 가변 도메인 (VL), 항체 경쇄 불변 도메인 (CL) 및 링커로 이루어진 폴리펩티드인 크로스오버 단일 사슬 Fab 단편이고, 여기서 상기 항체 도메인 및 상기 링커는 N-말단에서 C-말단 방향으로 하기의 순서 중 하나를 가지며: a) VH-CL-링커-VL-CH1 및 b) VL-CH1-링커-VH-CL; 여기서 VH 및 VL은 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 부위를 함께 형성하고, 상기 링커는 적어도 30 개 아미노산의 폴리펩티드이다.

[0254] 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체 또는 이의 일부분은 신호 펩티드를 포함할 수 있다. 이러한 신호 펩티드는 T 세포막의 표면으로 단백질을 보낼 수 있다. 예를 들어, 본원에서 제공되는 항원 결합 수용체에서, 신호 펩티드는 SEQ ID NO:110 (SEQ ID NO:111 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨) 에 제시된 바와 같은 아미노 및 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0255] 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 T 세포 활성화 항원 결합 수용체

[0256] 본원에 기술된 바와 같은 항원 결합 수용체의 성분은 항원 결합 수용체를 활성화시키는 T 세포를 생성시키기 위해 다양한 입체구조적으로 서로 융합될 수 있다.

[0257] 일부 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인에 연결된, 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 경쇄 가변 도메인 (VL) 으로 구성된 세포의 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, VH 도메인은 임의로 펩티드 링커를 통해서, VL 도메인의 N-말단과 C-말단에 융합된다. 다른 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 자극성 신호전달 도메인 및/또는 보조자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 특별한 이러한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하나 이상의 펩티드 링커에 의해 연결된 VH 도메인 및 VL 도메인, 앵커링 경막 도메인, 및 임의로 자극성 신호전달 도메인으로 본질적으로 이루어지고, VH 도메인은 C-말단에서 VL 도메인의 N-말단과 융합되고, VL 도메인은 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단과 융합되며, 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합된다. 임의로, 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 이러한 특정한 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하나 이상의 펩티드 링커에 의해 연결된 VH 도메인 및 VL 도메인, 앵커링 경막 도메인, 자극성 신호전달 도메인 및 보조자극성 신호전달 도메인으로 본질적으로 이루어지고, VH 도메인은 C-말단에서 VL 도메인의 N-말단과 융합되고, VL 도메인은 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단과 융합되며, 여기서 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합되고, 자극성 신호전달 도메인은 C-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합된다. 대안적인 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 자극성 신호전달 도메인 대신에 앵커링 경막 도메인에 연결된다. 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하나 이상의 펩티드 링커에 의해 연결된 VH 도메인 및 VL 도메인, 앵커링 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인 및 자극성 신호전달 도메인으로 본질적으로 이루어지고, 여기서 VH 도메인은 C-말단에서 VL 도메인의 N-말단과 융합되고, VL 도메인은 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단과 융합되고, 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합되고, 보조자극성 신호전달 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합된다.

[0258] 바람직한 실시형태에서, 결합 모이어티 중 하나는 Fab 단편 또는 crossFab 단편이다. 바람직한 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 Fab 또는 crossFab 중쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단과, 임의로

펩티드 링커를 통해서 융합된다. 대안적인 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 Fab 또는 crossFab 경쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단과, 임의로 펩티드 링커를 통해서 융합된다. 다른 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 자극성 신호전달 도메인 및/또는 보조자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 이러한 특별한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하나 이상의 펩티드 링커에 의해 연결된 Fab 또는 crossFab 단편, 앵커링 경막 도메인, 및 임의로 자극성 신호전달 도메인으로 본질적으로 이루어지고, Fab 또는 crossFab 단편은 중쇄 또는 경쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단과 융합되고, 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합된다. 바람직하게, 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 이러한 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 하나 이상의 펩티드 링커를 통해 연결된 Fab 또는 crossFab 단편, 앵커링 경막 도메인, 자극성 신호전달 도메인 및 보조자극성 신호전달 도메인으로 본질적으로 이루어지고, Fab 또는 crossFab 단편은 중쇄 또는 경쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단과 융합되고, 자극성 신호전달 도메인은 C-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합된다. 바람직한 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 자극성 신호전달 도메인 대신에 앵커링 경막 도메인에 연결된다. 가장 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 Fab 또는 crossFab 단편, 앵커링 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인 및 자극성 신호전달 도메인으로 본질적으로 이루어지고, Fab 또는 crossFab 단편은 중쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단과 펩티드 링커를 통해 융합되고, 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합되고, 보조자극성 신호전달 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-말단과 융합된다.

[0259] 항원 결합 모이어티, 앵커링 경막 도메인 및 자극성 신호전달 및/또는 보조자극성 신호전달 도메인은 하나 이상의 아미노산, 전형적으로 약 2-20 개 아미노산을 포함하는 하나 이상의 펩티드 링커를 통해서 또는 직접적으로 서로 융합될 수 있다. 펩티드 링커는 당해 기술분야에 알려져 있고 본원에 기재되어 있다. 적합한, 비면역원성 펩티드 링커는 예를 들어 $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$, $(G_4S)_n$ 또는 $G_4(SG_4)_n$ 펩티드 링커를 포함하고, 여기서 "n" 은 일반적으로 1 내지 10 의 수, 전형적으로 2 내지 4이다. 항원 결합 모이어티 및 앵커링 경막 모이어티를 연결시키기 위해 바람직한 펩티드 링커는 SEQ ID NO:17 에 따른 GGGGS (G_4S) 이다. 가변 중쇄 (VH) 및 가변 경쇄 (VL) 를 연결시키는데 적합한 예시적인 펩티드 링커는 SEQ ID NO:16 에 따라 GGGSGGGSGGGSGGGGS $(G_4S)_4$ 이다.

[0260] 부가적으로, 링커는 면역글로불린 힌지 영역 (의 일부분) 을 포함할 수 있다. 특히 항원 결합 모이어티가 앵커링 경막 도메인의 N-말단과 융합된 경우에, 추가적인 펩티드 링커와 함께 또는 없이, 면역글로불린 힌지 영역 또는 이의 일부분을 통해서 융합될 수 있다.

[0261] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 항원 결합 수용체는 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포외 도메인을 포함한다. 표적 세포 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 단일 항원 결합 모이어티를 갖는 항원 결합 수용체는 특히 항원 결합 수용체의 높은 발현을 필요로 하는 경우에, 유용하고 바람직하다. 이러한 경우에서, 표적 세포 항원에 특이적인 하나를 초과하는 항원 결합 모이어티의 존재는 항원 결합 수용체의 발현 효율을 제한할 수 있다. 그러나, 다른 경우에서, 예를 들어 표적 부위에 대한 표적화를 최적화하거나 또는 표적 세포 항원의 가교를 가능하게 하기 위해서, 표적 세포 항원에 특이적인 2 개 이상의 항원 결합 모이어티를 포함하는 항원 결합 수용체를 갖는 것이 유리할 것이다.

[0262] 하나의 특정 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인, 특히 IgG1 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 하나의 항원 결합 모이어티를 포함한다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 항원 결합 모이어티는 scFv, Fab 또는 crossFab 이다.

[0263] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 scFv 단편의 C-말단에서 또는 Fab 또는 crossFab 중쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 융합된다. 하나의 실시형태에서 펩티드 링커는 아미노산 서열 GGGGS (SEQ ID NO:16) 을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD8, CD3z, FCGR3A, NKG2D, CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 경막 도메인 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 경막 도메인이다. 바람직한 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD28 경막 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 FWLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFVW (SEQ ID NO:11) 의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 을 추가로 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서,

보조자극성 신호전달 도메인은 본원에서 이전에 기재된 바와 같은 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시 형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD28 의 세포내 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시 형태에서 보조자극성 신호전달 도메인은 서열 RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO:12) 을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다. 하나의 실시 형태에서, 항원 결합 수용체는 자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 하나의 실시 형태에서, 항원 결합 수용체의 보조자극성 신호전달 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시 형태에서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 CD3z, FCGR3A 및 NKG2D 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시 형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD3z 의 세포내 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시 형태에서

보조자극성	신호전달	도메인은	서열:
RVKFSRSADAPAYQQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHGLYQGLSTATKDTYD			
ALHMQUALPPR (SEQ ID NO:13) 을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다.			

- [0264] 하나의 실시 형태에서, 항원 결합 수용체는 리포터 단백질에, 특히 GFP 또는 그의 증강된 유사체에 융합된다. 하나의 실시 형태에서, 항원 결합 수용체는 C-말단에서 eGFP (증강된 녹색 형광 단백질) 의 N-말단에, 임의로 본원에 기재된 바와 같은 펩티드 링커를 통해, 융합된다. 바람직한 실시 형태에서, 펩티드 링커는 SEQ ID NO:18 에 따른 GEGRGSLLTCGDVEENPGP (T2A) 이다.
- [0265] 특정 실시 형태에서, 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 단편이며, 돌연변이된 Fc 도메인은 P329G 돌연변이를 포함한다. P329G 돌연변이는 Fc γ 수용체 결합을 감소시킨다. 하나의 실시 형태에서, 본 발명의 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인 (ATD), 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 및 자극성 신호전달 도메인 (SSD) 을 포함한다. 하나의 그러한 실시 형태에서, 항원 결합 수용체는 구성 scFv-ATD-CSD-SSD 을 갖는다. 바람직한 실시 형태에서, 항원 결합 수용체는 구성 scFv-G4S-ATD-CSD-SSD 을 가지며, 여기에서 G4S 는 SEQ ID NO:17 의 서열 GGGGS 를 포함하는 링커이다. 임의로, 리포터 단백질이 항원 결합 수용체의 C-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 부가될 수 있다.
- [0266] 특정 실시 형태에서, 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 단편이며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 및 SEQ ID NO:3 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 및 SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6 의 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 경쇄 CDR 을 포함한다.
- [0267] 바람직한 실시 형태에서, 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 단편이며, 항원 결합 모이어티는 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 RYWMN (SEQ ID NO:1), CDR H2 아미노산 서열 EITPDSSTINYTPSLKD (SEQ ID NO:2), CDR H3 아미노산 서열 PYDYGAWFAS (SEQ ID NO:3), 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:4), CDR L2 아미노산 서열 GTNKRAP (SEQ ID NO:5) 및 CDR L3 아미노산 서열 ALWYSNHV (SEQ ID NO:6) 을 포함한다.
- [0268] 하나의 실시 형태에서 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0269] (i) P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 단편인 항원 결합 모이어티, 여기에서 scFv 단편은 SEQ ID NO:1 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 1, SEQ ID NO:2 의 중쇄 CDR 2, SEQ ID NO:3 의 중쇄 CDR 3 을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH), 및 SEQ ID NO:4 의 경쇄 CDR 1, SEQ ID NO:5 의 경쇄 CDR 2 및 SEQ ID NO:6 의 경쇄 CDR 3 을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VH) 을 포함함;
- [0270] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0271] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0272] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0273] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인.
- [0274] 하나의 실시 형태에서, 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:

- [0275] (i) P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 분자인 항원 결합 모이어티, 여기에서 scFv 는 SEQ ID NO:8 및 SEQ ID NO:32 로부터 선택되는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 SEQ ID NO:9 및 SEQ ID NO:33 로부터 선택되는 경쇄 가변 도메인 (VL) 을 포함함;
- [0276] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0277] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0278] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0279] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인.
- [0280] 바람직한 실시형태에서, 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0281] (i) P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 분자인 항원 결합 모이어티, 여기에서 scFv 는 중쇄 가변 도메인 (VH) SEQ ID NO:8 및 경쇄 가변 도메인 (VL) SEQ ID NO:9 을 포함함;
- [0282] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0283] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0284] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0285] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인.
- [0286] 바람직한 실시형태에서, 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0287] (i) P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 분자인 항원 결합 모이어티, 여기에서 scFv 는 SEQ ID NO:10 또는 SEQ ID NO:34 의 아미노산 서열을 포함함;
- [0288] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0289] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0290] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0291] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인.
- [0292] 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:31 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0293] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:31 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0294] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 Fab 단편이다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD8, CD3z, FCGR3A, NKG2D, CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 경막 도메인 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 경막 도메인이다. 바람직한 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD28 경막 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 FWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFVW (SEQ ID NO:11) 이다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 을 추가로 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 본원에서 이전에 기재된 바와 같은 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 서열: RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYS (SEQ ID NO:12) 을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 보조자극성 신호전달 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-

말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 CD3z, FCGR3A 및 NKG2D의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD3z의 세포내 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서 보조자극성 신호전달 도메인은 서열: RVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (SEQ ID NO:13)을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다.

[0295] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 리포터 단백질에, 특히 GFP 또는 그의 증강된 유사체에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 C-말단에서 eGFP (증강된 녹색 형광 단백질)의 N-말단에, 임의로 본원에 기재된 바와 같은 펩티드 링커를 통해, 융합된다. 바람직한 실시형태에서, 펩티드 링커는 SEQ ID NO:18의 GEGRGSLLTCGDVEENPGP (T2A)이다.

[0296] 특정 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 Fab 단편이며, 돌연변이된 Fc 도메인은 P329G 돌연변이를 포함하며, P329G 돌연변이는 Fc γ 수용체 결합을 감소시킨다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인 (ATD), 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 및 자극성 신호전달 도메인 (SSD)을 포함한다. 하나의 그러한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 구성 Fab-ATD-CSD-SSD을 갖는다. 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 구성 Fab-G₄S-ATD-CSD-SSD을 가지며, 여기에서 G₄S는 SEQ ID NO:17의 서열 GGGGS를 포함하는 링커이다. 임의로, 리포터 단백질이 항원 결합 수용체의 C-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 부가될 수 있다.

[0297] 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 및 SEQ ID NO:3로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 및 SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6의 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 경쇄 CDR을 포함하는 Fab 단편이다.

[0298] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편이며, 항원 결합 모이어티는 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 RYWMN (SEQ ID NO:1), CDR H2 아미노산 서열 EITPDSSTINYTPSLKD (SEQ ID NO:2), CDR H3 아미노산 서열 PYDYGAWFAS (SEQ ID NO:3), 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:4), CDR L2 아미노산 서열 GTNKRAP (SEQ ID NO:5) 및 CDR L3 아미노산 서열 ALWYSNHWV (SEQ ID NO:6)을 포함한다.

[0299] 하나의 실시형태에서 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:

[0300] (i) SEQ ID NO:1의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 1, SEQ ID NO:2의 중쇄 CDR 2, SEQ ID NO:3의 중쇄 CDR 3, SEQ ID NO:4의 경쇄 CDR 1, SEQ ID NO:5의 경쇄 CDR 2 및 SEQ ID NO:6의 경쇄 CDR 3을 포함하는, P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 분자인 항원 결합 모이어티;

[0301] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17의 펩티드 링커;

[0302] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11의 앵커링 경막 도메인;

[0303] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12의 보조자극성 신호전달 도메인; 및

[0304] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13의 자극성 신호전달 도메인.

[0305] 하나의 실시형태에서 본 발명은 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:

[0306] a) N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 중쇄 융합체 폴리펩티드;

[0307] (i) SEQ ID NO:1의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 1, SEQ ID NO:2의 중쇄 CDR 2, SEQ ID NO:3의 중쇄 CDR 3을 포함하는 중쇄;

[0308] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17의 펩티드 링커;

[0309] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11의 앵커링 경막 도메인;

[0310] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12의 보조자극성 신호전달 도메인; 및

- [0311] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인 및
- [0312] b) SEQ ID NO:4 의 경쇄 CDR 1, SEQ ID NO:5 의 경쇄 CDR 2 및 SEQ ID NO:6 의 경쇄 CDR 3 을 포함하는 경쇄.
- [0313] 하나의 실시형태에서 본 발명은 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0314] a) N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 중쇄 융합체 폴리펩티드;
- [0315] (i) 중쇄 가변 도메인 (VH) SEQ ID NO:8;
- [0316] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0317] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0318] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0319] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인 및
- [0320] b) SEQ ID NO:9 의 경쇄 가변 도메인 (VL).
- [0321] 하나의 실시형태에서 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:40 또는 SEQ ID NO:49 의 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어지는 중쇄, 및 SEQ ID NO:41 또는 SEQ ID NO:50 의 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어지는 경쇄를 포함하는 Fab 단편이다. 바람직한 실시형태에서 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:40 의 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어지는 중쇄 및 SEQ ID NO:41 의 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어지는 경쇄를 포함하는 Fab 단편이다.
- [0322] 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편이며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:39 및 SEQ ID NO:48 의 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 융합체 폴리펩티드 및 SEQ ID NO:41 및 SEQ ID NO:50 의 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩티드를 포함한다.
- [0323] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편이며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:39 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 융합체 폴리펩티드 및 SEQ ID NO:41 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩티드를 포함한다.
- [0324] 대안적 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 돌연변이 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인, 특히 IgG1 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 하나의 항원 결합 모이어티를 포함한다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 항원 결합 모이어티는 scFv, Fab 또는 crossFab 이다.
- [0325] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 scFv 단편의 C-말단에서 또는 Fab 또는 crossFab 중쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 융합된다. 하나의 실시형태에서 펩티드 링커는 아미노산 서열 GGGGS (SEQ ID NO:16) 을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD8, CD3z, FCGR3A, NKG2D, CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 경막 도메인 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 경막 도메인이다. 바람직한 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD28 경막 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 FWVLVVVGGVLACYSLLYTVAFIIFVW (SEQ ID NO:11) 의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 을 추가로 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 본원에서 이전에 기재된 바와 같은 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD28 의 세포내 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서 보조자극성 신호전달 도메인은 서열: RSKRSRLHSDYMNMTFPRRPGPTRKHYQYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO:12) 을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 보조자극성 신호전달 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 CD3z, FCGR3A 및 NKG2D 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD3z 의 세포내 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시

형태에서 보조자극성 신호전달 도메인은 서열: RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPMEGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR (SEQ ID NO:13) 을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다.

- [0326] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 리포터 단백질에, 특히 GFP 또는 그의 증강된 유사체에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 C-말단에서 eGFP (증강된 녹색 형광 단백질) 의 N-말단에, 임의로 본원에 기재된 바와 같은 펩티드 링커를 통해, 융합된다. 바람직한 실시형태에서, 펩티드 링커는 SEQ ID NO:18 에 따른 GEGRGSLLTCGDVEENPGP (T2A) 이다.
- [0327] 특정 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포외 도메인을 포함하며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 단편이며, 돌연변이된 Fc 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함한다. I253A, H310A 및 H435A 돌연변이는 FcRn 수용체 결합을 감소시킨다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인 (ATD), 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 및 자극성 신호전달 도메인 (SSD) 을 포함한다. 하나의 그러한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 구성 scFv-ATD-CSD-SSD 을 갖는다. 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 구성 scFv-G4S-ATD-CSD-SSD 을 가지며, 여기에서 G4S 는 SEQ ID NO:17 의 서열 GGGGS 를 포함하는 링커이다. 임의로, 리포터 단백질이 항원 결합 수용체의 C-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 부가될 수 있다.
- [0328] 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 단편이며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54 및 SEQ ID NO:55 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 및 CDR SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58 의 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 경쇄를 포함한다.
- [0329] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 단편이며, 항원 결합 모이어티는 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 SYGMS (SEQ ID NO:53), CDR H2 아미노산 서열 SSGGSY (SEQ ID NO:54), CDR H3 아미노산 서열 LGMITTYGAMYD (SEQ ID NO:55), 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSQTIVHSTGHTYLE (SEQ ID NO:56), CDR L2 아미노산 서열 KVSNRFS (SEQ ID NO:57) 및 CDR L3 아미노산 서열 FQGSHVPTYT (SEQ ID NO:58) 을 포함한다.
- [0330] 하나의 실시형태에서 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0331] (i) I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 단편인 항원 결합 모이어티, 여기에서 scFv 단편은 SEQ ID NO:53 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 1, SEQ ID NO:54 의 중쇄 CDR 2, SEQ ID NO:55 의 중쇄 CDR 3 을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH), 및 SEQ ID NO:56 의 경쇄 CDR 1, SEQ ID NO:57 의 경쇄 CDR 2 및 SEQ ID NO:58 의 경쇄 CDR 3 을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VH) 을 포함함;
- [0332] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0333] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0334] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0335] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인.
- [0336] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0337] (i) I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 분자인 항원 결합 모이어티, 여기에서 scFv 는 SEQ ID NO:61 의 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 SEQ ID NO:62 의 경쇄 가변 도메인 (VL) 을 포함함;
- [0338] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0339] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0340] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0341] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인.

- [0342] 하나의 실시형태에서, 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0343] (i) I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 scFv 분자인 항원 결합 모이어티, 여기에서 scFv 은 SEQ ID NO:60 의 아미노산 서열을 포함함;
- [0344] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0345] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0346] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0347] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인.
- [0348] 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:59 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0349] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:59 의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0350] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 Fab 단편이다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD8, CD3z, FCGR3A, NKG2D, CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 경막 도메인 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 경막 도메인이다. 바람직한 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 CD28 경막 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서, 앵커링 경막 도메인은 FWVLVVGGVLACYLLVTAFIIFWV (SEQ ID NO:11) 이다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 을 추가로 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 앵커링 경막 도메인은 C-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 본원에서 이전에 기재된 바와 같은 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD28 의 세포내 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서 보조자극성 신호전달 도메인은 서열 RSKRSRLHSDYMNMPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO:12) 을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체의 보조자극성 신호전달 도메인은 C-말단에서 자극성 신호전달 도메인의 N-말단에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 CD3z, FCGR3A 및 NKG2D 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택된다. 바람직한 실시형태에서, 보조자극성 신호전달 도메인은 CD3z 의 세포내 도메인 또는 이의 단편이다. 특정 실시형태에서 보조자극성 신호전달 도메인은 서열: RVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMALPPR (SEQ ID NO:13) 을 포함하거나 또는 그것으로 이루어진다.
- [0351] 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 리포터 단백질에, 특히 GFP 또는 그의 증강된 유사체에 융합된다. 하나의 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 C-말단에서 eGFP (증강된 녹색 형광 단백질) 의 N-말단에, 임의로 본원에서 기재된 바와 같은 펩티드 링커를 통해, 융합된다. 바람직한 실시형태에서, 펩티드 링커는 SEQ ID NO:18 의 GEGRGSLITCGDVEENPGP (T2A) 이다.
- [0352] 특정 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포외 도메인을 포함하며, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 Fab 단편이며, 돌연변이된 Fc 도메인은 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하며, I253A, H310A 및 H435A 돌연변이는 FcRn 수용체 결합을 감소시킨다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 항원 결합 수용체는 앵커링 경막 도메인 (ATD), 보조자극성 신호전달 도메인 (CSD) 및 자극성 신호전달 도메인 (SSD) 을 포함한다. 하나의 그러한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 구성 Fab-ATD-CSD-SSD 을 갖는다. 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 수용체는 구성 Fab-G₄S-ATD-CSD-SSD 을 가지며, 여기에서 G₄S 는 SEQ ID NO:17 의 서열 GGGGS 를 포함하는 링커이다. 임의로, 리포터 단백질이 항원 결합 수용체의 C-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 부가될 수 있다.

- [0353] 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54 및 SEQ ID NO:55 로 이루어지는 균으로부터 선택되는 적어도 하나의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 및 SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58 의 균으로부터 선택되는 적어도 하나의 경쇄 CDR 을 포함하는 Fab 단편이다.
- [0354] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편이며, 항원 결합 모이어티는 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 SYGMS (SEQ ID NO:53), CDR H2 아미노산 서열 SSGGSY (SEQ ID NO:54), CDR H3 아미노산 서열 LGMITTYGYAMDY (SEQ ID NO:55), 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSQTIVHSTGHTYLE (SEQ ID NO:56), CDR L2 아미노산 서열 KVSNRFS (SEQ ID NO:57) 및 CDR L3 아미노산 서열 FQGSHVPYT (SEQ ID NO:58) 을 포함한다.
- [0355] 하나의 실시형태에서 본 발명은 N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0356] (i) SEQ ID NO:53 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 1, SEQ ID NO:54 의 중쇄 CDR 2, SEQ ID NO:55 의 중쇄 CDR 3, SEQ ID NO:56 의 경쇄 CDR 1, SEQ ID NO:57 의 경쇄 CDR 2 및 SEQ ID NO:58 의 경쇄 CDR 3 을 포함하는, I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 분자인 항원 결합 모이어티;
- [0357] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0358] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0359] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0360] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인.
- [0361] 하나의 실시형태에서 본 발명은 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0362] a) N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 중쇄 융합체 폴리펩티드;
- [0363] (i) SEQ ID NO:53 의 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR) 1, SEQ ID NO:54 의 중쇄 CDR 2, SEQ ID NO:55 의 중쇄 CDR 3 을 포함하는 중쇄;
- [0364] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0365] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0366] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0367] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인 및
- [0368] b) SEQ ID NO:56 의 경쇄 CDR 1, SEQ ID NO:57 의 경쇄 CDR 2 및 SEQ ID NO:58 의 경쇄 CDR 3 을 포함하는 경쇄.
- [0369] 하나의 실시형태에서 본 발명은 하기를 포함하는 항원 결합 수용체를 제공한다:
- [0370] a) N-말단으로부터 C-말단으로 순서대로 하기를 포함하는 중쇄 융합체 폴리펩티드;
- [0371] (i) 중쇄 가변 도메인 (VH) SEQ ID NO:61;
- [0372] (ii) 펩티드 링커, 특히 SEQ ID NO:17 의 펩티드 링커;
- [0373] (iii) 앵커링 경막 도메인, 특히 SEQ ID NO:11 의 앵커링 경막 도메인;
- [0374] (iii) 보조자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:12 의 보조자극성 신호전달 도메인; 및
- [0375] (iv) 자극성 신호전달 도메인, 특히 SEQ ID NO:13 의 자극성 신호전달 도메인 및
- [0376] b) 경쇄 가변 도메인 (VL) SEQ ID NO:62.
- [0377] 하나의 특정 실시형태에서 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:64 의 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어지는 중쇄 및 SEQ ID NO:65 의 아미노산 서열을 포함하거나 그것으로 이루어지는 경쇄를 포함하는 Fab 단편이다.

- [0378] 특정 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편이며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:63의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 융합체 폴리펩티드 및 SEQ ID NO:65의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩티드를 포함한다.
- [0379] 바람직한 실시형태에서, 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 Fab 단편이며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:63의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 융합체 폴리펩티드 및 SEQ ID NO:65의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩티드를 포함한다.
- [0380] 특정 대안적 실시형태에서, 본 발명의 항원 결합 수용체, Fab 경쇄 폴리펩티드 및 Fab 중쇄 융합체 폴리펩티드는, 임의로 링커 펩티드를 통해, 서로와 융합된다. Fab 중쇄 및 경쇄의 융합체는 Fab 중쇄 및 경쇄의 짝짓기를 개선할 수 있고, 또한 본 발명의 항원 결합 수용체 중 일부의 발현에 필요한 플라스미드의 수를 감소시킬 수 있다. 항원 결합 수용체의 발현에 필요한 플라스미드의 수를 감소시키기 위한 대안적 전략은 예를 들어 도 2에 도시된 바와 같이 동일한 플라스미드로부터의 중쇄 및 경쇄 구성체 둘 모두의 발현을 가능하게 하는 내부 리보솜 진입부를 사용하는 것이다.
- [0381] 특정 실시형태에서 항원 결합 수용체는 항원 결합 모이어티의 Fab 경쇄 가변 영역이 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄 불변 영역과 카르복시-말단 펩티드 결합을 공유하고 (즉, 항원 결합 모이어티는 중쇄 가변 영역이 경쇄 가변 영역으로 대체되어 있는 crossFab 중쇄를 포함함), 이는 결국 앵커링 경막 도메인과 카르복시-말단 펩티드 결합을 공유하는 폴리펩티드를 포함한다 (VL₍₁₎-CH1₍₁₎-ATD). 일부 실시형태에서 항원 결합 수용체는 제 1 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄 가변 영역이 제 1 항원 결합 모이어티의 Fab 경쇄 불변 영역과 카르복시-말단 펩티드 결합을 공유하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다 (VH₍₁₎-CL₍₁₎). 특정 실시형태에서 폴리펩티드는, 예를 들어, 다이설파이드 결합에 의해 공유 연결된다. 대안적 실시형태에서 항원 결합 수용체는 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄 가변 영역이 항원 결합 모이어티의 Fab 경쇄 불변 영역과 카르복시-말단 펩티드 결합을 공유하고 (즉, 항원 결합 모이어티는 중쇄 불변 영역이 경쇄 불변 영역으로 대체되어 있는 crossFab 중쇄를 포함함), 이는 결국 앵커링 경막 도메인과 카르복시-말단 펩티드 결합을 공유하는 폴리펩티드를 포함한다 (VH₍₁₎-CL₍₁₎-ATD). 일부 실시형태에서 항원 결합 수용체는 항원 결합 모이어티의 Fab 경쇄 가변 영역이 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄 불변 영역과 카르복시-말단 펩티드 결합을 공유하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다 (VL₍₁₎-CH1₍₁₎). 특정 실시형태에서 폴리펩티드는, 예를 들어, 다이설파이드 결합에 의해 공유 연결된다.
- [0382] 임의의 상기 실시형태에 따르면, 항원 결합 수용체의 성분 (예를 들어, VH 및 VL, 항원 결합 모이어티, 앵커링 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인, 자극성 신호전달 도메인)은 직접 또는 본원에서 기재되거나 또는 당해 기술분야에 알려져 있는 다양한 링커, 특히 하나 이상의 아미노산, 전형적으로는 약 2-20개 아미노산을 포함하는 펩티드 링커를 통해 융합될 수 있다. 적합한, 비면역원성 펩티드 링커는, 예를 들어, (G₄S)_n, (SG₄)_n, (G₄S)_n 또는 G₄(SG₄)_n 펩티드 링커를 포함하며, 여기에서 n은 일반적으로 1 내지 10, 바람직하게는 1 내지 4의 수이다.
- [0383] 예시적 T 세포 활성화 항원 결합 수용체
- [0384] 첨부된 실시예에서 및 도 1A에서 예시적으로 보여지는 바와 같이, 본 발명의 개념의 증거로서, P329G 돌연변이를 Fc 도메인에 포함하는 항체에 결합하는/그것을 향해 유도되는/그것과 또는 그것 상에서 상호작용하는 하나의 안정화된 scFv 항원 결합 모이어티를 포함하는 항원 결합 수용체 "항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD pETR17096" (SEQ ID NO:7)가 구축되었다. 구성체는 CD28 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인으로서의 CD28의 단편 및 자극성 신호전달 도메인으로서의 CD3z의 단편을 추가로 포함한다. 항체 결합 분자 "항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD pETR17096"의 서열 (아미노산 및 cDNA)은 표 2 및 3에 제시되어 있다.
- [0385] 게다가, 도 1B에서 예시되는 바와 같이, 본 발명의 개념의 추가의 증거로서, P329G 돌연변이를 Fc 도메인에 포함하는 항체에 결합하는/그것을 향해 유도되는/그것과 또는 그것 상에서 상호작용하는 하나의 안정화된 Fab 항원 결합 모이어티를 포함하는 항원 결합 수용체 "항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD pETR17100" (SEQ ID NOs: 39, 41)가 구축되었다. 구성체는 CD28 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인으로서의 CD28의 단편 및 자극성 신호전달 도메인으로서의 CD3z의 단편을 추가로 포함한다. 항원 결합 수용체 "항-P329G-

ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD pETR17100" 의 서열 (아미노산 및 DNA) 은 표 4 및 5 에 제시되어 있다.

- [0386] 본 발명의 개념의 추가의 증거로서, P329G 돌연변이를 Fc 도메인에 포함하는 항체에 결합하는/그것을 향해 유도되는/그것과 또는 그것 상에서 상호작용하는 하나의 Fab 항원 결합 모이어티를 포함하는 항원 결합 수용체 "항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD pETR17594" (SEQ ID NOs: 48, 50) 가 구축되었다. 구성체는 CD28 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인으로서의 CD28 의 단편 및 자극성 신호전달 도메인으로서의 CD3z 의 단편을 추가로 포함한다. 항원 결합 수용체 "항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD pETR17594" 의 서열 (아미노산 및 DNA) 은 표 6 및 7 에 제시되어 있다.
- [0387] 본 발명의 개념의 추가의 증거로서, I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 Fc 도메인에 포함하는 항체에 결합하는/그것을 향해 유도되는/그것과 또는 그것 상에서 상호작용하는 하나의 scFv 항원 결합 모이어티를 포함하는 항원 결합 수용체 "항-AAA scFv" (SEQ ID NO:59) 가 구축되었다. 구성체는 CD28 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인으로서의 CD28 의 단편 및 자극성 신호전달 도메인으로서의 CD3z 의 단편을 추가로 포함한다. 항체 결합 분자 "항-AAA scFv" 의 서열 (아미노산 및 cDNA) 은 하기 표 8 및 9 에 제시되어 있다.
- [0388] 본 발명의 개념의 추가의 증거로서, I253A, H310A 및 H435A 돌연변이를 Fc 도메인에 포함하는 항체에 결합하는/그것을 향해 유도되는/그것과 또는 그것 상에서 상호작용하는 하나의 Fab 항원 결합 모이어티를 포함하는 항원 결합 수용체 "항-AAA Fab" (SEQ ID NOs: 63, 65) 가 구축되었다. 구성체는 CD28 경막 도메인, 보조자극성 신호전달 도메인으로서의 CD28 의 단편 및 자극성 신호전달 도메인으로서의 CD3z 의 단편을 추가로 포함한다. 항체 결합 분자 "항-AAA scFv" 의 서열 (아미노산 및 cDNA) 은 하기 표 10 및 11 에 제시되어 있다.
- [0389] 본 발명은 또한 본원에 기재된 바와 같은 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자(들)을 제공한다. 또한 본 발명에 포함되는 것은 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자(들) 및 본원에서 추가로 기재되는 바와 같은 본 발명에 따른 핵산 분자(들)을 포함하는 키트이다.
- [0390] 키트
- [0391] 본 발명의 추가의 양태는 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 및/또는 본 발명의 항원 결합 수용체로 형질도입된 세포, 바람직하게는 T 세포 및, 임의로, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체/항체들을 포함하는 또는 그것으로 이루어지는 키트이며, 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있다.
- [0392] 따라서, 제공되는 것은 하기를 포함하는 키트이다:
- [0393] (A) 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포; 및
- [0394] (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;
- [0395] 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.
- [0396] 추가로 제공되는 것은 하기를 포함하는 키트이다:
- [0397] (A) 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드 및/또는 벡터; 및
- [0398] (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;
- [0399] 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.
- [0400] 본 발명의 맥락에서, 본 발명의 키트는 형질도입된 T 세포, 단리된 폴리뉴클레오티드 및/또는 벡터 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 하나 이상의 항체를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 항체는 치료적 항체, 예를 들어 종양 특이적 항체이다. 종양 특이적 항원은 당해 기술분야에 알려져 있고 본원에서 기재되어 있다. 본 발명의 맥락에서, 항체는 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여된다. 본 발명에 따른 키트는 형질도입된 T 세포 또는 형질도입된 T 세포를 생성하는 폴리뉴클레오티드/벡터를 포함한다. 이러한 맥락에서, 형질도입된 T 세포는 범용 T 세포이며, 그 이유는 그것이 소정의 종양에 특이적이지 않으나 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체에 따라 임의의 종양을 표적화할 수 있기 때문이다. 본원에서 제공되는 것은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 예이며, 그러나, 본원에 기재된 바와 같은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 임의의 항체가 본원에서 제공되는 키트에

포함될 수 있다. 특정 실시형태에서 항체의 돌연변이된 Fc 도메인은 천연 IgG₁ Fc 도메인과 비교하여 Fc 수용체에 대한 감소된 결합 친화도 및/또는 감소된 이펙터 기능을 나타낸다. 하나의 그러한 실시형태에서 돌연변이된 Fc 도메인 (또는 상기 Fc 돌연변이된 도메인을 포함하는 항체) 은 천연 IgG₁ Fc 도메인 (또는 천연 IgG₁ Fc 도메인을 포함하는 항체) 과 비교하여 50% 미만, 바람직하게는 20% 미만, 더욱 바람직하게는 10% 미만, 가장 바람직하게는 5% 미만의 Fc 수용체에 대한 결합 친화도, 및/또는 천연 IgG₁ Fc 도메인 (또는 천연 IgG₁ Fc 도메인을 포함하는 항체) 과 비교하여 50% 미만, 바람직하게는 20% 미만, 더욱 바람직하게는 10% 미만, 가장 바람직하게는 5% 미만의 이펙터 기능을 나타낸다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인 (또는 상기 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체) 은 실질적으로 Fc 수용체에 결합 및/또는 이펙터 기능을 유도하지 않는다. 특정 실시형태에서 Fc 수용체는 Fc γ 수용체이다. 하나의 실시형태에서 Fc 수용체는 인간 Fc 수용체이다. 하나의 실시형태에서 Fc 수용체는 활성화 Fc 수용체이다. 특정 실시형태에서 Fc 수용체는 활성화 인간 Fc γ 수용체, 더욱 특이적으로 인간 Fc γ RIIIa, Fc γ RI 또는 Fc γ RIIa, 가장 특이적으로 인간 Fc γ RIIIa 이다. 하나의 실시형태에서 이펙터 기능은 CDC, ADCC, ADCP, 및 사이토카인 분비의 균으로부터 선택되는 하나 이상이다. 특정 실시형태에서 이펙터 기능은 ADCC 이다. 하나의 실시형태에서 돌연변이된 Fc 도메인은 천연 IgG₁ Fc 도메인과 비교하여 신생아 Fc 수용체 (FcRn) 에 대한 실질적으로 변경된 결합 친화도를 나타낸다. 하나의 실시형태에서 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 조작되지 않은 Fc 도메인을 포함하는 항체와 비교하여 20% 미만, 특히 10% 미만, 더욱 특히 5% 미만의 Fc 수용체에 대한 결합 친화도를 나타낸다. 특정 실시형태에서 Fc 수용체는 Fc γ 수용체이다. 일부 실시형태에서 Fc 수용체는 인간 Fc 수용체이다. 일부 실시형태에서 Fc 수용체는 활성화 Fc 수용체이다. 특정 실시형태에서 Fc 수용체는 활성화 인간 Fc γ 수용체, 더욱 특이적으로 인간 Fc γ RIIIa, Fc γ RI 또는 Fc γ RIIa, 가장 특이적으로 인간 Fc γ RIIIa 이다. 바람직하게는, 각각의 이들 수용체에 대한 결합은 감소된다. 일부 실시형태에서 보체 성분에 대한 결합 친화도, 구체적으로 C1q 에 대한 결합 친화도가 또한 감소된다.

[0401] 특정 실시형태에서 항체의 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 Fc 도메인과 비교하여 감소된 이펙터 기능을 갖도록 돌연변이된다. 감소된 이펙터 기능은 하기 중 하나 이상을 포함할 수 있으나, 그에 제한되지 않는다: 감소된 보체 의존적 세포독성 (CDC), 감소된 항체-의존적 세포-매개 세포독성 (ADCC), 감소된 항체-의존적 세포성 식균작용 (ADCP), 감소된 사이토카인 분비, 항원-제시 세포에 의한 감소된 면역 복합체-매개 항원 흡수, NK 세포에 대한 감소된 결합, 마크로파지에 대한 감소된 결합, 단핵구에 대한 감소된 결합, 다형핵 세포에 대한 감소된 결합, 세포자멸사를 유도하는 감소된 직접 신호전달, 표적-결합된 항체의 감소된 가교, 감소된 수지상 세포 성숙, 또는 감소된 T 세포 프라이밍. 하나의 실시형태에서 감소된 이펙터 기능은 감소된 CDC, 감소된 ADCC, 감소된 ADCP, 및 감소된 사이토카인 분비의 균으로부터 선택되는 하나 이상이다. 특정 실시형태에서 감소된 이펙터 기능은 감소된 ADCC 이다. 하나의 실시형태에서 감소된 ADCC 은 조작되지 않은 Fc 도메인 (또는 조작되지 않은 Fc 도메인을 포함하는 항체) 에 의해 유도되는 ADCC 의 20% 미만이다.

[0402] 하나의 실시형태에서 Fc 수용체에 대한 Fc 도메인의 결합 친화도 및/또는 이펙터 기능을 감소시키는 아미노산 돌연변이는 아미노산 치환이다. 하나의 실시형태에서 Fc 도메인은 E233, L234, L235, N297, P331 및 P329 의 균으로부터 선택되는 위치에서 아미노산 치환을 포함한다. 더욱 특정한 실시형태에서 Fc 도메인은 L234, L235 및 P329 의 균으로부터 선택되는 위치에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서 Fc 도메인은 아미노산 치환 L234A 및 L235A 를 포함한다. 하나의 그러한 실시형태에서, Fc 도메인은 IgG₁ Fc 도메인, 특히 인간 IgG₁ Fc 도메인이다. 하나의 실시형태에서 Fc 도메인은 위치 P329 에서 아미노산 치환을 포함한다. 더욱 특정한 실시형태에서 아미노산 치환은 P329A 또는 P329G, 특히 P329G 이다. 하나의 실시형태에서 Fc 도메인은 위치 P329 에서 아미노산 치환 및 E233, L234, L235, N297 및 P331 로부터 선택되는 위치에서 추가의 아미노산 치환을 포함한다. 더욱 특정한 실시형태에서 추가의 아미노산 치환은 E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D 또는 P331S 이다. 특정 실시형태에서 Fc 도메인은 위치 P329, L234 및 L235 에서 아미노산 치환을 포함한다. 하나의 실시형태에서 Fc 도메인은 아미노산 돌연변이 L234A, L235A 및 P329G ("P329G LALA") 를 포함한다. 하나의 그러한 실시형태에서, Fc 도메인은 IgG₁ Fc 도메인, 특히 인간 IgG₁ Fc 도메인이다. 아미노산 치환의 "P329G LALA" 조합은 인간 IgG₁ Fc 도메인의 Fc γ 수용체 (뿐만 아니라 보체) 결합을 거의 완전히 없애며, 이는 그 전문이 본원에서 참조로 포함되는 PCT 공보 No. WO 2012/130831 에 기재된 바와 같다. WO 2012/130831 은 또한 그러한 돌연변이체 Fc 도메인의 제조 방법 및 그것의 특성 예컨대 Fc 수용체 결합 또는 이펙터 기능의 확인 방법을 기재한다.

- [0403] 특정 실시형태에서, 천연 IgG₁ Fc 도메인과 비교하여, Fc 수용체에 대한 감소된 결합 친화도 및/또는 감소된 이펙터 기능을 나타내는 Fc 도메인은 아미노산 돌연변이 L234A, L235A 및 임의로 P329G 를 포함하는 인간 IgG₁ Fc 도메인, 또는 아미노산 돌연변이 S228P, L235E 및 임의로 P329G 를 포함하는 인간 IgG₄ Fc 도메인이다.
- [0404] 특정 실시형태에서 Fc 도메인의 N-글리코실화가 제거되었다. 하나의 그러한 실시형태에서 Fc 도메인은 위치 N297 에서의 아미노산 돌연변이, 특히 아스파라긴을 알라닌 (N297A) 또는 아스파르트산 (N297D) 으로 대체하는 아미노산 돌연변이를 포함한다.
- [0405] 본원에서 위에서 및 PCT 공보 No. WO 2012/130831 에서 기재된 Fc 도메인에 더하여, Fc 수용체 결합 및/또는 이펙터 기능이 감소된 Fc 도메인은 또한 Fc 도메인 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 것을 포함한다 (미국 특허 No. 6,737,056). 그러한 Fc 돌연변이체는 잔기 265 및 297 의 알라닌으로의 돌연변이를 포함하는 소위 "DANA" Fc 돌연변이체 (미국 특허 No. 7,332,581) 를 포함하는 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 둘 이상에서 돌연변이를 포함하는 Fc 돌연변이체를 포함한다.
- [0406] 돌연변이체 Fc 도메인은 당해 기술 분야에 잘 알려진 유전학 또는 화학 방법을 사용하여 아미노산 결실, 치환, 삽입 또는 수식에 의해 제조될 수 있다. 유전학 방법은 인코딩 DNA 서열의 자리-지정 돌연변이 유발, PCR, 유전자 합성 등을 포함할 수 있다. 올바른 뉴클레오티드 변화는 예를 들어 시퀀싱에 의해 확인될 수 있다.
- [0407] Fc 수용체에 대한 결합은 예를 들어, ELISA 에 의해, 또는 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 에 의해 표준 기구 예컨대 BIAcore 기구 (GE Healthcare) 를 사용하여 쉽게 확인될 수 있고, Fc 수용체는 예컨대 재조합 발현에 의해 수득될 수 있다. 대안적으로, Fc 수용체에 대한 Fc 도메인 또는 Fc 도메인을 포함하는 세포 활성화 이중특이적 항원 결합 분자의 결합 친화도는 특정 Fc 수용체를 발현하는 것으로 알려진 세포주, 예컨대 Fc γ IIIa 수용체를 발현하는 인간 NK 세포를 사용하여 평가될 수 있다.
- [0408] Fc 도메인, 또는 Fc 도메인을 포함하는 항체의 이펙터 기능은 당해 기술 분야에 알려진 방법에 의해 측정될 수 있다. 관심의 분자의 ADCC 활성을 평가하는 시험관내 어세이의 다른 예는 미국 특허 No. 5,500,362; Hellstrom et al. Proc Natl Acad Sci USA 83, 7059-7063 (1986) 및 Hellstrom et al., Proc Natl Acad Sci USA 82, 1499-1502 (1985); 미국 특허 No. 5,821,337; Bruggemann et al., J Exp Med 166, 1351-1361 (1987) 에 기재되어 있다. 대안적으로, 비-방사성 어세이 방법이 이용될 수 있다 (참고, 예를 들어, 유동세포분석법을 위한 ACT1™ 비-방사성 세포독성 어세이 (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); 및 CytoTox 96® 비-방사성 세포독성 어세이 (Promega, Madison, WI)). 그러한 어세이에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 살해 (NK) 세포를 포함한다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 관심의 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어, 동물 모델 예컨대 Clynes et al., Proc Natl Acad Sci USA 95, 652-656 (1998) 에서 개시된 것에서 평가될 수 있다.
- [0409] 일부 실시형태에서, 보체 성분, 구체적으로 C1q 에 대한 Fc 도메인의 결합은 감소된다. 따라서, 일부 실시형태에서 Fc 도메인이 감소된 이펙터 기능을 갖도록 조작되는 경우에, 상기 감소된 이펙터 기능은 감소된 CDC 을 포함한다. C1q 결합 어세이를 수행하여 항체가 C1q 에 결합하고 그에 따라 CDC 활성을 갖는지 여부를 확인할 수 있다. 참고, 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402 에서의 C1q 및 C3c 결합 ELISA. 보체 활성화를 평가하기 위해서, CDC 어세이가 수행될 수 있다 (참고, 예를 들어, Gazzano-Santoro et al., J Immunol Methods 202, 163 (1996); Cragg et al., Blood 101, 1045-1052 (2003); 및 Cragg and Glennie, Blood 103, 2738-2743 (2004)).
- [0410] 하나의 실시형태에서 신생아 Fc 수용체 (FcRn) 에 대한 결합 친화도가 감소된다. 특정 실시형태에서 본 발명에 따른 돌연변이된 Fc 도메인은 천연 IgG₁ Fc 도메인과 비교하여 FcRn 수용체에 대한 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 하나의 그러한 실시형태에서 Fc 도메인 (또는 을 포함하는 항체 상기 Fc 도메인) 은 천연 IgG₁ Fc 도메인 (또는 천연 IgG₁ Fc 도메인을 포함하는 항체) 과 비교하여 50% 미만, 바람직하게는 20% 미만, 더욱 바람직하게는 10% 미만, 가장 바람직하게는 5% 미만의 신생아 Fc 수용체에 대한 결합 친화도, 및/또는 천연 IgG₁ Fc 도메인 (또는 을 포함하는 항체 천연 IgG₁ Fc 도메인) 과 비교하여 50% 미만, 바람직하게는 20% 미만, 더욱 바람직하게는 10% 미만, 가장 바람직하게는 5% 미만의 이펙터 기능을 나타낸다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 도메인 (또는 상기 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체) 은 신생아 Fc 수용체에 실질적으로 결합하지 않는다. 특정 실시형태에서 Fc 수용체는 FcRn 수용체이다. 하나의 실시형태에서 Fc 수용체는 인간 FcRn 수용체이다. 특정 실시형태에서 Fc 도메인은 위치 I253, H310 및 H435 에서 아미노산 치환을 포

함한다. 더욱 특정한 실시형태에서 Fc 도메인은 아미노산 돌연변이 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 를 포함한다. 하나의 그러한 실시형태에서, Fc 도메인은 IgG₁ Fc 도메인, 특히 인간 IgG₁ Fc 도메인이다. 아미노산 치환의 "AAA" 조합은 인간 IgG₁ Fc 도메인의 FcRn 수용체 결합을 거의 완전히 없앤다.

[0411] 특정 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 영역을 포함하는 항체는 CD20 에 특이적 결합을 할 수 있고, SEQ ID NO:112 의 중쇄 서열, 및 SEQ ID NO:113 의 경쇄 서열을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 영역을 포함하는 항체는 FAP 에 특이적 결합을 할 수 있고, SEQ ID NO:114 의 중쇄 서열, 및 SEQ ID NO:115 의 경쇄 서열을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 영역을 포함하는 항체는 CEA 에 특이적 결합을 할 수 있고, SEQ ID NO:116 의 중쇄 서열 및 SEQ ID NO:117 의 경쇄 서열, SEQ ID NO:118 의 중쇄 서열 및 SEQ ID NO:119 의 경쇄 서열, SEQ ID NO:120 의 중쇄 서열 및 SEQ ID NO:121 의 경쇄 서열, 또는 SEQ ID NO:122 의 중쇄 서열 및 SEQ ID NO:123 의 경쇄 서열을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 영역을 포함하는 항체는 테나신 (TNC) 에 특이적 결합을 할 수 있고, SEQ ID NO:124 의 중쇄 서열, 및 SEQ ID NO:125 의 경쇄 서열을 포함한다.

[0412] 추가의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 영역을 포함하는 항체는 이중특이적 항체, 예를 들어 T-세포 활성화 이중특이적 항체이다. 하나의 그러한 실시형태에서 이중특이적 항체는 T-세포 활성화 표적, 특히 CD3 에 특이적 결합을 할 수 있는 제 1 결합 모이어티, 및 본원에 기재된 바와 같은 중앙 항원에 특이적 결합을 할 수 있는 제 2 결합 모이어티를 포함한다.

[0413] 하나의 실시형태에서, 돌연변이된 Fc 영역을 포함하는 항체는 이중특이적이고, Her2 에 특이적 결합을 할 수 있으며, 이중특이적 항체는 SEQ ID NO:126 의 제 1 중쇄 서열, SEQ ID NO:127 의 제 1 경쇄 서열, SEQ ID NO:128 의 제 2 중쇄 서열 및 SEQ ID NO:129 의 제 2 경쇄 서열을 포함한다.

[0414] 본 발명의 예시적 실시형태에서, 개념의 증거로서, SEQ ID NO:112 의 중쇄 및 SEQ ID NO:113 의 경쇄를 포함하는 항체와 조합된 SEQ ID NO:7 에 제시된 아미노산 서열 ("항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD" (SEQ ID NO:19 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨)) 을 포함하는 키트가 제공된다. 대안적으로, 키트는 SEQ ID NO:112 의 중쇄 및 SEQ ID NO:113 의 경쇄를 포함하는 항체와 조합된 SEQ ID NO:31 에 제시된 아미노산 서열 ("항-P329G-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD" (SEQ ID NO:35 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨)) 을 포함할 수 있다. 더욱이, 본 발명의 맥락에서 키트는 SEQ ID NO:112 의 중쇄 및 SEQ ID NO:113 의 경쇄를 포함하는 항체와 조합된 SEQ ID NO:39 에 제시된 아미노산 서열 ("항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD" (SEQ ID NO:44 에 제시된 DNA 서열에 의해 인코딩됨)) 을 포함할 수 있다. 대안적으로, 키트는 SEQ ID NO:112 의 중쇄 및 SEQ ID NO:113 의 경쇄를 포함하는 항체와 조합된 SEQ ID NO:59 에 제시된 아미노산 서열 ("항-AAA-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD") 을 포함할 수 있다. 더욱이, 본 발명의 맥락에서 키트는 SEQ ID NO:112 의 중쇄 및 SEQ ID NO:113 의 경쇄를 포함하는 항체와 조합된 SEQ ID NO:63 에 제시된 아미노산 서열 ("항-AAA-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD") 을 포함할 수 있다. 더욱이, 본 발명의 맥락에서 키트는 SEQ ID NO:112 및 SEQ ID NO:113, SEQ ID NO:114 및 SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:116 및 SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:118 및 SEQ ID NO:119, SEQ ID NO:120 및 SEQ ID NO:121, SEQ ID NO:122 및 SEQ ID NO:123, 및 SEQ ID NO:124 및 SEQ ID NO:125 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 적어도 하나의 항체 분자를 포함할 수 있다. 더욱이, 본 발명의 맥락에서 키트는 이중특이적 항체 분자, 특히 SEQ ID NO:128 의 제 1 중쇄, SEQ ID NO:129 의 제 1 경쇄, SEQ ID NO:130 의 제 2 중쇄 및 SEQ ID NO:131 의 제 2 경쇄를 포함하는 이중특이적 항체를 포함할 수 있다.

[0415] 게다가, 본 발명의 키트의 일부는 바이알 또는 보틀 또는 용기 또는 다수용기 유닛의 조합에 개별적으로 포장될 수 있다. 추가적으로, 본 발명의 키트는 부모 세포, 바람직하게는 본원에 기재된 바와 같은 T 세포를 본 발명의 항원 결합 수용체(들)로 형질도입시킬 수 있고 GMP (good manufacturing practice; 우수 의약품 제조 관리 기준) (http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/index_en.htm 하에 유럽연합 집행위원회가 공개한 우수 의약품 제조 관리 기준에 대한 지침에서 기술된 바와 같은, 우수 의약품 제조 관리 기준) 조건 하에서 인큐베이션시킬 수 있는 (밀폐된) 백 세포 인큐베이션 시스템을 포함할 수 있다. 게다가, 본 발명의 키트는 단리/수득된 환자 T 세포를 본 발명의 항원 결합 수용체(들)로 형질도입시킬 수 있고 GMP 하에 인큐베이션시킬 수 있는 (밀폐된) 백 세포 인큐베이션 시스템을 포함한다. 뿐만 아니라, 본 발명의 맥락에서, 키트는 또한 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체(들)를 인코딩하는 벡터를 포함할 수 있다. 본 발명의 키트는 특

히 본 발명의 방법을 수행하기 위해 유리하게 사용될 수 있고 예를 들어 연구 도구 또는 의료 도구로서 본원에 언급된 다양한 적용분야에 적용될 수 있다. 키트의 제조는 바람직하게는 당업자에게 알려진 표준 절차를 따른다.

[0416] 이러한 맥락에서, 환자 유래 세포, 바람직하게는 T 세포는 위에 기재된 바와 같은 키트를 사용하여 본원에 기재된 바와 같은 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 본 발명의 항원 결합 수용체로 형질도입될 수 있다. 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인은 T 세포에서 또는 상에서 자연적으로 발생하지 않는다. 따라서, 본 발명의 키트로 형질도입된 환자 유래 세포는 항체, 예를 들어 치료적 항체의 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 능력을 획득할 것이고, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체와의 상호작용을 통해 표적 세포의 제거/용해를 유도할 수 있게 될 것이며, 치료적 항체는 종양 세포의 표면 상에서 자연 발생적인 (즉 내생적으로 발현되는) 종양-특이적 항원에 결합할 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체의 세포의 도메인의 결합은 T 세포를 활성화시키고, 그것을 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체를 통해 종양 세포와 물리적으로 접촉시킨다. 형질도입되지 않은 또는 내생적 T 세포 (예를 들어 CD8+ T 세포)는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 돌연변이된 Fc 도메인에 결합할 수 없다. 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포는 본원에 기재된 바와 같은 Fc 도메인에 돌연변이를 포함하지 않는 치료적 항체에 의해 영향을 받지 않은 채로 남는다. 따라서, 본 발명의 항원 결합 수용체 분자를 발현하는 T 세포는 생체내에서 및/또는 시험관내에서 본원에 기재된 바와 같은 Fc 도메인에 돌연변이를 포함하는 항체의 존재 하에 표적 세포를 용해하는 능력을 갖는다. 당해 표적 세포는, 본원에 기재된 바와 같은 치료적 항체의 적어도 하나의, 바람직하게는 두 개의, 결합 도메인에 의해 인지되는, 표면 분자, 즉, 종양 세포의 표면 상에서 자연 발생적인 종양-특이적 항원을 발현하는 세포를 포함한다. 그러한 표면 분자는 본원에서 아래에서 특성기재된다.

[0417] 표적 세포의 용해는 당해 기술분야에 알려진 방법으로 검출될 수 있다. 따라서, 이러한 방법은 특히 생리학적 시험관내 어세이를 포함한다. 이러한 생리학적 어세이는 예를 들어, 세포막 무결성의 소실에 의해 세포 세멸을 모니터링할 수 있다 (예를 들어, FACS 기반 프로피듐 아이오다이드 어세이, 트립판 블루 유입 어세이, 측광성 효소 방출 어세이 (LDH), 방사측정 51Cr 방출 어세이, 형광측정 유로피움 방출 및 갈세인 AM 방출 어세이). 추가의 어세이는 예를 들어 측광성 MTT, XTT, WST-1 및 alamarBlue 어세이, 방사측정 3H-Thd 도입 어세이에 의한 세포 생존능의 모니터링, 세포 분열 활성을 측정하는 클론원성 어세이, 및 미토콘드리아 경막 구배를 측정하는 형광측정 로다민123 어세이를 포함한다. 또한, 아포토시스는 예를 들어 FACS-기반 포스파티딜 세린 노출 어세이, ELISA-기반 TUNEL 시험, 캐스파제 활성 어세이 (측광성, 형광측정 또는 ELISA-기반) 또는 변화된 세포 형상의 분석 (수축, 막 수포) 을 통해서 모니터링될 수 있다.

[0418] 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포

[0419] 본 발명의 추가의 양태는 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포이다. 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체는 T 세포의 표면 내 및/또는 그 위에 천연적으로 포함되지 않고 정상 (비형질도입) T 세포 내 또는 그 위에서 (내생적으로) 발현되지 않는 분자에 관한 것이다. 따라서, T 세포 내 및/또는 그 위의 본 발명의 항원 결합 수용체는 T 세포에 인공적으로 도입된다. 본 발명의 맥락에서 상기 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포는 본원에 정의된 바와 같이 치료하려는 대상체로부터 단리/수득될 수 있다. 따라서, 인공적으로 도입되어 이후에 상기 T 세포의 표면 내 및/또는 위에 제시되는 항원 결합 수용체는 (시험관 내 또는 생체 내에서) (Ig-유래) 면역글로불린, 바람직하게는 항체에, 특히 항체의 Fc 도메인에 접근가능한 하나 이상의 항원 결합 모이어티를 포함하는 도메인을 포함한다. 본 발명의 맥락에서, 인공적으로 도입된 이들 분자는 하기 본원에 기재된 바와 같이 (레트로바이러스 또는 렌티바이러스) 형질도입 후 상기 T 세포의 표면 내 및/또는 그 위에 제시된다. 따라서, 형질도입 이후에, 본 발명에 따른 T 세포는 본원에 기재된 바와 같은 Fc 도메인에 특정 돌연변이를 포함하는 면역글로불린, 바람직하게는 (치료적) 항체에 의해 활성화될 수 있다.

[0420] 본 발명은 또한 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자(들)에 의해 인코딩되는 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포에 관한 것이다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 형질도입된 세포는 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자 또는 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현하는 본 발명의 벡터를 포함할 수 있다.

[0421] 본 발명의 맥락에서, 용어 "형질도입된 T 세포" 는 유전자 변형된 T 세포 (즉, 핵산 분자가 의도적으로 도입된

T 세포)에 관한 것이다. 본원에서 제공된 형질도입된 T 세포는 본 발명의 벡터를 포함할 수 있다. 바람직하게, 본원에서 제공된 형질도입된 T 세포는 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자 및/또는 본 발명의 벡터를 포함한다. 본 발명의 형질도입된 T 세포는 외래 DNA (즉, T 세포에 도입된 핵산 분자)를 일시적으로 또는 안정적으로 발현하는 T 세포일 수 있다. 특히, 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자는 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 형질도입을 사용하여 T 세포의 게놈으로 안정하게 통합될 수 있다. mRNA 형질감염을 사용하여, 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자는 일시적으로 발현될 수 있다. 바람직하게, 본원에서 제공되는 형질도입된 T 세포는 바이러스 벡터 (예를 들어, 레트로바이러스 벡터 또는 렌티바이러스 벡터)를 통해서 T 세포로 핵산 분자를 도입시켜 유전자 변형시켰다. 따라서, 항원 결합 수용체의 발현은 항상적일 수 있고 항원 결합 수용체의 세포의 도메인이 세포 표면 상에서 검출가능할 수 있다. 항원 결합 수용체의 이러한 세포의 도메인은 본원에 정의된 바와 같은 항원 결합 수용체의 완전한 세포의 도메인뿐만 아니라 이의 일부분을 포함할 수 있다. 필요한 최소 크기는 항원 결합 수용체에서 항원 결합 모이어티의 항원 결합 부위이다.

[0422] 발현은 또한 항원 결합 수용체가 유도성 또는 억제성 프로모터의 제어 하에서 T 세포에 도입되는 경우에 조건성일 수 있거나 또는 유도성일 수 있다. 이러한 유도성 또는 억제성 프로모터의 예는 알콜 디히드로게나제 I (alcA) 유전자 프로모터 및 트랜스활성인자 단백질 AlcR을 함유하는 전사 시스템일 수 있다. 상이한 농업용 알콜-기반 체계를 사용하여 alcA 프로모터에 연결된 관심 유전자의 발현을 제어한다. 뿐만 아니라, 테트라사이클린-반응성 프로모터 시스템은 테트라사이클린의 존재 하에서 유전자 발현 시스템을 활성화시키거나 또는 억제시키는 기능을 할 수 있다. 이 시스템의 엘리먼트의 일부는 테트라사이클린 억제인자 단백질 (TetR), 테트라사이클린 오퍼레이터 서열 (tetO), 및 TetR 및 헤르페스 심플렉스 바이러스 단백질 16 (VP16) 활성화 서열의 융합체인 테트라사이클린 트랜스활성인자 융합 단백질 (tTA)을 포함한다. 또한, 스테로이드-반응성 프로모터, 금속-조절 또는 발병기전-관련 (PR) 단백질 관련 프로모터가 사용될 수 있다.

[0423] 발현은 사용된 시스템에 의존적으로, 항상적 또는 구성적일 수 있다. 본 발명의 항원 결합 수용체는 본원에서 제공된 형질도입된 T 세포의 표면 상에서 발현될 수 있다. 항원 결합 수용체의 세포의 부분 (즉, 항원 결합 수용체의 세포의 도메인은 세포 표면 상에서 검출될 수 있는 한편, 세포내 부분 (즉, 보조자극성 신호전달 도메인(들) 및 자극성 신호전달 도메인)은 세포 표면에서 검출가능하지 않다. 항원 결합 수용체의 세포의 도메인의 검출은 이러한 세포의 도메인에 특이적으로 결합할 수 있는 항체를 사용하여 또는 세포의 도메인이 결합할 수 있는 돌연변이된 Fc 도메인을 사용하여 수행될 수 있다. 세포의 도메인은 유세포측정 또는 현미경을 통해 이들 항체 또는 Fc 도메인을 사용해 검출될 수 있다.

[0424] 본 발명의 형질도입된 세포는 임의의 면역 세포일 수 있다. 이들은 제한없이 B-세포, T 세포, 자연 살해 (NK) 세포, 자연 살해 (NK) T 세포, $\gamma \delta$ T 세포, 선천성 림프 세포, 마크로파지, 단핵구, 수지상 세포 또는 호중구를 포함한다. 우선적으로, 상기 면역 세포는 림프구, 우선적으로 NK 또는 T 세포이다. 상기 T 세포는 CD4 T 세포 및 CD8 T 세포를 포함한다. 백혈구의 표면 상에서 본 발명의 항원 결합 수용체의 촉발은 세포가 지원하는 계통과 무관하게 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체와 함께 표적 세포에 대한 세포의 세포독성을 야기하게 될 것이다. 세포독성은 항원 결합 수용체에 대해 선택된 자극성 신호전달 도메인 또는 보조자극성 신호전달 도메인과 무관하게 일어나게 되고 추가의 사이토카인의 외생적 공급에 의존하지 않는다. 따라서, 본 발명의 형질도입된 세포는 예를 들어 CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, $\gamma \delta$ T 세포, 자연 살해 (NK) T 세포, 자연 살해 (NK) 세포, 종양-침윤성 림프구 (TIL) 세포, 골수 세포, 또는 중간엽 줄기 세포일 수 있다. 바람직하게, 본원에서 제공되는 형질도입된 세포는 T 세포 (예를 들어, 자기유래 T 세포), 더 바람직하게, 형질도입된 세포는 CD8+ T 세포이다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 형질도입된 세포는 CD8+ T 세포이다. 또한, 본 발명의 맥락에서, 형질도입된 세포는 자기유래 T 세포이다. 따라서, 본 발명의 맥락에서, 형질도입된 세포는 바람직하게는 자기유래 CD8+ T 세포이다. 대상체로부터 단리된 자기유래 세포 (예를 들어, T 세포)의 사용 이외에도, 본 발명은 또한 동종이계 세포의 사용을 고려한다. 따라서, 본 발명의 맥락에서 형질도입된 세포는 또한 동종이계 세포, 예컨대 동종이계 CD8+ T 세포일 수 있다. 동종이계 세포의 사용은 세포, 바람직하게는 T 세포가 외래 항원-제시 세포 (APC)에 의해 제시된 특이적 항원 에피토프를 인지할 수 있다는 사실을 기반으로 하고, 단 APC는 T 세포에 의해 인지되는 항원 에피토프와 함께, 특이적 반응 세포 개체군, 즉 T 세포 개체군을 제한하는, MHC 분자, 클래스 I 또는 클래스 II를 발현한다. 따라서, 용어 동종이계는 예를 들어 본원에 기재된 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 세포에 의해서 치료하게 되는 개체/대상체에게 상용성인 인간 백혈구 항원 (HLA)인 미관련 도너 개체/대상체로부터의 미관련 유래의 세포를 의미한다. 자기유래 세포는 본원에 기재된 형질도입된 세포로 치료하려는 대상체로부터 상기 본원에 기재된 바

와 같이 단리/수득된 세포를 의미한다.

- [0425] 본 발명의 형질도입된 세포는 추가의 핵산 분자, 예를 들어 T 세포 수용체를 인코딩하는 핵산 분자로 공동-형질 도입될 수 있다.
- [0426] 본 발명은 또한 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포를 제조하기 위한 방법에 관한 것으로서, 방법은 T 세포에 본 발명의 벡터를 형질도입시키는 단계, 상기 형질도입된 세포 내 또는 그 위에서 항원 결합 수용체의 발현을 허용하는 조건 하에 형질도입된 T 세포를 배양하는 단계 및 상기 형질도입된 T 세포를 회수하는 단계를 포함한다.
- [0427] 본 발명의 맥락에서, 본 발명의 형질도입된 세포는 바람직하게는 다음의 과정에 의해 생성된다: 세포 (예를 들어, T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포) 는 대상체 (바람직하게, 인간 환자) 로부터 단리/수득된다. 환자 또는 도너로부터 세포 (예를 들어, T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포) 를 단리/수득하기 위한 방법은 당해 기술분야에 잘 알려져 있고 본 발명의 맥락에서 환자 또는 도너 유래의 세포 (예를 들어, T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포) 는 골수의 제거 또는 채혈에 의해 단리될 수 있다. 환자의 샘플로서 세포를 단리/수득 후, 세포 (예를 들어, T 세포) 는 샘플의 다른 성분으로부터 분리된다. 샘플로부터 세포 (예를 들어, T 세포) 를 분리하기 위한 방법은 알려져 있고, 제한없이, 예를 들어 환자 또는 도너 유래의 말초 혈액 샘플로부터 세포를 수득하기 위한 백혈구분리반출술, FACSORT 장비를 사용한 세포의 단리/수득, 미세조작기 또는 수동으로 생존 세포를 보유하는 신선한 생검 표본으로부터 사멸 세포의 현존 채취를 포함한다 (예를 들어, [Dudley, Immunother. 26 (2003), 332-342]; [Robbins, Clin. Oncol. 29 (201 1), 917-924] 또는 [Leisegang, J. Mol. Med. 86 (2008), 573-58] 참조). 단리/수득된 세포 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 이후에 예를 들어 항-CD3 항체를 사용하고/하거나, 항-CD3 및 항-CD28 단일클론 항체를 사용하고/하거나, 항-CD3 항체, 항-CD28 항체 및 인터루킨-2 (IL-2) 를 사용하여 배양 및 확장시킨다 (예를 들어, [Dudley, Immunother. 26 (2003), 332-342] 또는 [Dudley, Clin. Oncol. 26 (2008), 5233-5239] 참조).
- [0428] 후속 단계에서 세포 (예를 들어, T 세포) 는 당해 기술분야에 알려진 방법을 통해 인공적으로/유전자적으로 변형/형질도입시킨다 (예를 들어, [Lemoine, J Gene Med 6 (2004), 374-386] 참조). 세포 (예를 들어, T 세포) 에 형질도입시키기 위한 방법은 당해 기술분야에 알려져 있고, 제한없이 핵산 또는 재조합 핵산이 형질도입되는 경우에, 예를 들어 전기천공 방법, 칼슘 포스페이트 방법, 양이온 지질 방법 또는 리포솜 방법을 포함한다. 형질도입하려는 핵산은 상업적으로 입수가능한 형질감염 시약, 예를 들어 Lipofectamine (Invitrogen 제품, 카탈로그 번호: 11668027) 을 사용하여 통상적으로 고도로 효율적으로 형질도입될 수 있다. 벡터가 사용되는 경우, 벡터는 그 벡터가 플라스미드 벡터 (즉, 바이러스 벡터가 아닌 벡터) 인 한 상기 언급된 핵산과 동일한 방식으로 형질도입될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 세포 (예를 들어, T 세포) 를 형질도입시키기 위한 방법은 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 T 세포 형질도입, 비바이러스 벡터 (예를 들어, 슬리핑 뷰티 미니서클 벡터) 를 비롯하여 mRNA 형질감염을 포함한다. "mRNA 형질감염" 은 형질도입시키려는 세포에서, 관심 단백질, 예컨대 이 경우에는 본 발명의 항원 결합 수용체를 일시적으로 발현시키기 위한 당업자에게 충분히 알려진 방법을 의미한다. 간단히 세포는 전기천공 시스템 (예컨대, 예를 들어 Gene Pulser, Bio-Rad) 을 사용해 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 mRNA 로 전기천공되고 그 이후에 상기 기술된 바와 같은 표준 세포 (예를 들어, T 세포) 배양 프로토콜에 의해 배양될 수 있다 ([Zhao et al., Mol Ther. 13(1) (2006), 151-159] 참조). 본 발명의 형질도입되는 세포는 T 세포, 가장 바람직하게는 CD8+ T 세포이고, 렌티바이러스, 또는 가장 바람직하게는 레트로바이러스 T 세포 형질도입에 의해 생성된다.
- [0429] 이러한 맥락에서, T 세포를 형질도입시키기 위해 적합한 레트로바이러스 벡터는 예컨대 SAMEN CMV/SRa (Clay et al., J. Immunol. 163 (1999), 507-513), LZRS-id3-IHRES (Heemskerk et al., J. Exp. Med. 186 (1997), 1597-1602), FeLV (Neil et al., Nature 308 (1984), 814-820), SAX (Kantoff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83 (1986), 6563-6567), pDOL (Desiderio, J. Exp. Med. 167 (1988), 372-388), N2 (Kasid et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 (1990), 473-477), LNL6 (Tiberghien et al., Blood 84 (1994), 1333-1341), pZipNEO (Chen et al., J. Immunol. 153 (1994), 3630-3638), LASN (Mullen et al., Hum. Gene Ther. 7 (1996), 1123-1129), pG1XsNa (Taylor et al., J. Exp. Med. 184 (1996), 2031-2036), LCNX (Sun et al., Hum. Gene Ther. 8 (1997), 1041-1048), SFG (Gallardo et al., Blood 90 (1997), 952-957), HMB-Hb-Hu (Vieillard et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94 (1997), 11595-11600), pMV7 (Cochlovius et al., Cancer Immunol. Immunother. 46 (1998), 61-66), pSTITCH (Weitjens et al., Gene Ther 5 (1998), 1195-1203), pLZR (Yang et al., Hum. Gene Ther. 10 (1999), 123-132), pBAG (Wu et al., Hum. Gene Ther. 10 (1999), 977-982),

rKat.43.267bn (Gilham et al., J. Immunother. 25 (2002), 139-151), pLGSN (Engels et al., Hum. Gene Ther. 14 (2003), 1155-1168), pMP71 (Engels et al., Hum. Gene Ther. 14 (2003), 1155-1168), pGCSAM (Morgan et al., J. Immunol. 171 (2003), 3287-3295), pMSGV (Zhao et al., J. Immunol. 174 (2005), 4415-4423), 또는 pMX (de Witte et al., J. Immunol. 181 (2008), 5128-5136) 와 같이 당해 기술분야에 알려져 있다. 본 발명의 맥락에서, 세포 (예를 들어, T 세포) 를 형질도입시키기 위해 적합한 렌티바이러스 벡터는 예를 들어 PL-SIN 렌티바이러스 벡터 (Hotta et al., Nat Methods. 6(5) (2009), 370-376), p156RRL-sinPPT-CMV-GFP-PRE/NheI (Campeau et al., PLoS One 4(8) (2009), e6529), pCMVR8.74 (Addgene Catalogue No.:22036), FUGW (Lois et al., Science 295(5556) (2002), 868-872), pLVX-EF1 (Addgene Catalogue No.: 64368), pLVE (Brunger et al., Proc Natl Acad Sci U S A 111(9) (2014), E798-806), pCDH1-MCS1-EF1 (Hu et al., Mol Cancer Res. 7(11) (2009), 1756-1770), pSLIK (Wang et al., Nat Cell Biol. 16(4) (2014), 345-356), pLJM1 (Solomon et al., Nat Genet. 45(12) (2013), 1428-30), pLX302 (Kang et al., Sci Signal. 6(287) (2013), rs13), pHR-IG (Xie et al., J Cereb Blood Flow Metab. 33(12) (2013), 1875-85), pRRLSIN (Addgene Catalogue No.: 62053), pLS (Miyoshi et al., J Virol. 72(10) (1998), 8150-8157), pLL3.7 (Lazebnik et al., J Biol Chem. 283(7) (2008), 11078-82), FRIG (Raissi et al., Mol Cell Neurosci. 57 (2013), 23-32), pWPT (Ritz-Laser et al., Diabetologia. 46(6) (2003), 810-821), pBOB (Marr et al., J Mol Neurosci. 22(1-2) (2004), 5-11), 또는 pLEX (Addgene Catalogue No.: 27976) 가 있다.

[0430] 본 발명의 형질도입된 T 세포/T 세포들은 바람직하게는 그들의 천연 환경 밖에서, 제어된 조건 하에 성장된다. 특히, 용어 "배양하는" 은 다세포 진핵생물 (바람직하게는 인간 환자) 로부터 유래되는 세포 (예를 들어, 본 발명의 형질도입된 세포(들)) 가 시험관 내에서 성장하는 것을 의미한다. 세포를 배양하는 것은 그들의 본래 조직 근원으로부터 분리시킨 세포를 살아있게 유지시키는 실험실 기술이다. 본원에서 본 발명의 형질도입된 세포는 상기 형질도입된 세포 내 또는 그 위에서 본 발명의 항원 결합 수용체의 발현을 가능하게 하는 조건 하에서 배양된다. 발현을 가능하게 하는 조건 또는 이식유전자 (즉, 본 발명의 항원 결합 수용체의 것) 는 당해 기술분야에서 통상적으로 알려져 있고 예를 들어, 효현성 항-CD3- 및 항-CD28 항체, 및 사이토카인 예컨대 인터루킨 2 (IL-2), 인터루킨 7 (IL-7), 인터루킨 12 (IL-12) 및/또는 인터루킨 15 (IL-15) 의 첨가를 포함한다. 배양되는 형질도입된 세포 (예를 들어, CD8+ T) 에서 본 발명의 항원 결합 수용체의 발현 이후에, 형질도입된 세포는 배양물 (즉, 배양 배지) 로부터 회수 (즉, 재추출) 된다.

[0431] 따라서, 또한 본 발명에 포함되는 것은 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 본 발명의 핵산 분자에 의해 인코딩되는 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 세포, 바람직하게는 T 세포, 특히 CD8+ T 이다.

[0432] 핵산 분자

[0433] 본 발명의 추가 양상은 본 발명의 하나 또는 몇개의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 및 벡터이다. 본 발명의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 예시적인 핵산 분자는 SEQ ID NOs:19, 30, 35, 38, 44, 47, 51 및 52 에 제시되어 있다. 본 발명의 핵산 분자는 조절 서열의 제어 하에 존재할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항원 결합 수용체의 유도되는 발현을 가능하게 하는 프로모터, 전사 인핸서 및/또는 서열이 적용될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 핵산 분자는 항상성 또는 유도성 프로모터의 제어 하에서 발현된다. 적합한 프로모터는 예를 들어 CMV 프로모터 (Qin et al., PLoS One 5(5) (2010), e10611), UBC 프로모터 (Qin et al., PLoS One 5(5) (2010), e10611), PGK (Qin et al., PLoS One 5(5) (2010), e10611), EF1A 프로모터 (Qin et al., PLoS One 5(5) (2010), e10611), CAGG 프로모터 (Qin et al., PLoS One 5(5) (2010), e10611), SV40 프로모터 (Qin et al., PLoS One 5(5) (2010), e10611), COPIA 프로모터 (Qin et al., PLoS One 5(5) (2010), e10611), ACT5C 프로모터 (Qin et al., PLoS One 5(5) (2010), e10611), TRE 프로모터 (Qin et al., PLoS One. 5(5) (2010), e10611), Oct3/4 프로모터 (Chang et al., Molecular Therapy 9 (2004), S367-S367 (doi: 10.1016/j.ymthe.2004.06.904)), 또는 Nanog 프로모터 (Wu et al., Cell Res. 15(5) (2005), 317-24) 가 있다. 그러므로, 본 발명은 또한 본 발명에 기술된 핵산 분자(들)를 포함하는 벡터(들)에 관한 것이다. 본원에서 용어 벡터는 도입된 숙주 세포 (즉, 형질도입된 세포) 에서 자체적으로 복제될 수 있는 원형 또는 선형 핵산 분자에 관한 것이다. 많은 적합한 벡터는 분자 생물학의 당업자에게 알려져 있고, 그의 선택은 바람직한 기능에 따라 좌우되고 플라스미드, 코스미드, 바이러스, 박테리오파지 및 유전자 조작에서 통상적으로 사용되는 다른 벡터를 포함한다. 당업자에게 충분히 알려진 방법, 예를 들어 참고로, [Sambrook et al. (상동) 및 Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989), (1994)] 에 기술된 방법을 사용하여 다양한 플라스미드 및 벡터를 구축할 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및 벡터는 표적 세포에 전달을 위해 리포솜으로 재구성될

수 있다. 하기에 더욱 상술되는 바와 같이, 클로닝 벡터는 DNA 의 개별 서열을 단리하는데 사용되었다. 관련 서열은 특정한 폴리펩티드의 발현이 필요한 박편 벡터에 전달될 수 있다. 전형적인 클로닝 벡터는 pBluescript SK, pGEM, pUC9, pBR322, pGA18 및 pGBT9 를 포함한다. 전형적인 발현 벡터는 pTRE, pCAL-n-EK, pESP-1, pOP13CAT 를 포함한다.

[0434] 본 발명은 또한 본원에 정의된 바와 같은 항원 결합 수용체를 인코딩하는 상기 핵산 분자(들)에 작동적으로 연결된 조절 서열인 핵산 분자(들)를 포함하는 벡터(들)에 관한 것이다. 본 발명의 맥락에서 벡터는 폴리시스트론일 수 있다. 이러한 조절 서열 (제어 엘리먼트) 은 당업자에게 알려져 있고, 프로모터, 스플라이스 카세트, 번역 개시 코돈, 번역 및 벡터(들)에 삽입부를 도입시키기 위한 삽입 부위를 포함할 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 상기 핵산 분자(들)는 진핵생물 또는 원핵생물 세포에서 발현을 가능하게 하는 상기 발현 제어 서열에 작동적으로 연결된다. 상기 벡터(들)는 본원에 정의된 바와 같은 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자(들)를 포함하는 발현 벡터(들)라는 것을 파악한다. 작동적으로 연결된은 그렇게 기술된 성분들이 그들이 그들의 의도하는 방식으로 기능할 수 있게 하는 관계로 존재하는 근접위치를 의미한다. 코딩 서열에 작동적으로 연결된 제어 서열은 코딩 서열의 발현이 제어 서열과 상용성인 조건 하에서 획득되는 방식으로 결합된다. 제어 서열이 프로모터인 경우에, 바람직하게는 이중 가닥 핵산이 사용된다는 것은 당업자에게 자명하다.

[0435] 본 발명의 맥락에서 언급된 벡터(들)는 발현 벡터(들)이다. 발현 벡터는 선택된 세포를 형질전환시키는데 사용될 수 있는 구성체이고 선택된 세포에서 코딩 서열의 발현을 제공한다. 발현 벡터(들)는 예를 들어 클로닝 벡터(들), 이원 벡터(들) 또는 통합 벡터(들)일 수 있다. 발현은 바람직하게는 번역가능한 mRNA로 핵산의 전사를 포함한다. 원핵생물 및/또는 진핵생물 세포에서 발현을 보장하는 조절 엘리먼트는 당업자에게 잘 알려져 있다. 진핵생물 세포의 경우에서 그들은 정상적으로 전사의 개시를 보장하는 프로모터 및 임의로 전사의 종결 및 전사물의 안정화를 보장하는 폴리-A 신호를 포함한다. 원핵생물 숙주 세포에서 발현을 가능하게 하는 가능한 조절 엘리먼트는 예를 들어 이. 콜라이에서의 PL, lac, trp 또는 tac 프로모터를 포함하고, 진핵생물 숙주 세포에서 발현을 가능하게 하는 조절 엘리먼트의 예에는 효모에서의 AOX1 또는 GAL1 프로모터, 또는 포유동물 및 다른 동물 세포에서의 CMV-, SV40, RSV-프로모터 (라우스 육종 바이러스), CMV-인핸서, SV40-인핸서 또는 글로빈 인트론이 있다.

[0436] 전사의 개시를 담당하는 엘리먼트 이외에도 이러한 조절 엘리먼트는 또한 폴리뉴클레오티드의 하류에 전사 종결 신호, 예컨대 SV40-폴리-A 부위 또는 tk-폴리-A 부위를 포함할 수 있다. 뿐만 아니라, 사용되는 발현 시스템에 따라서, 폴리펩티드를 세포 구획으로 유도시킬 수 있거나 또는 배지로 분비시킬 수 있는 신호 펩티드를 인코딩하는 리더 서열이 언급된 핵산 서열의 코딩 서열에 첨가될 수 있고 당해 기술분야에 잘 알려져 있으며, 또한 예를 들어 첨부된 실시예를 참조한다.

[0437] 리더 서열(들)은 번역, 개시 및 종결 서열, 및 바람직하게, 주변세포질 공간 또는 세포외 매질로 번역된 단백질 또는 이의 일부분의 분비를 유도할 수 있는 리더 서열과 적절한 단계로 조립된다. 임의로, 이중성 서열은 바람직한 특성, 예를 들어 발현된 재조합 생성물의 안정화 또는 단순한 정제를 부여하는 N-말단 식별 펩티드를 포함하는 항원 결합 수용체를 코딩할 수 있고, 상기를 참고한다. 이러한 맥락에서, 적합한 발현 벡터는 당해 기술분야에 알려져 있고 예컨대 오카야마-베르그 (Okayama-Berg) cDNA 발현 벡터 pcDV1 (Pharmacia), pCDM8, pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3 (In-vitro gene), pEF-DHFR, pEF-ADA 또는 pEF-neo (Raum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001), 141-150) 또는 pSPORT1 (GIBCO BRL) 이 있다.

[0438] 본 발명의 맥락에서, 발현 제어 서열은 진핵생물 세포를 형질도입 또는 형질감염시킬 수 있는 벡터의 진핵생물 프로모터 시스템일 수 있지만, 원핵생물 세포를 위한 제어 서열도 역시 사용될 수 있다. 벡터가 적절한 세포에 도입되면, 세포는 뉴클레오티드 서열의 높은 발현 수준에 적합한 조건 하에서 그리고 바람직하게는 유지된다. 추가의 조절 엘리먼트는 전사를 비롯하여 번역 인핸서를 포함할 수 있다. 유리하게, 본 발명의 상기 기술된 벡터는 선별 및/또는 득점 (scorable) 마커를 포함한다. 형질감염된 세포 및 예를 들어, 식물 조직 및 식물의 선별에 유용한 선별 마커 유전자는 당해 기술분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어 메토타렉세이트에 대한 내성을 부여하는 dhfr 에 대한 선별을 기반으로 하는 항대사산물 내성 (Reiss, Plant Physiol. (Life Sci. Adv.) 13 (1994), 143-149), 아미노글리코사이드, 네오마이신, 카나마이신 및 파로마이신에 대한 내성을 부여하는 npt (Herrera-Estrella, EMBO J. 2 (1983), 987-995), 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 hygro (Marsh, Gene 32 (1984), 481-485) 를 포함한다. 추가의 선별 유전자, 즉 세포가 트립토판 대신에 인돌을 이용할 수 있게 하는 trpB; 세포가 히스티딘 대신에 히스티놀을 이용할 수 있게 하는 hisD (Hartman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 (1988), 8047); 세포가 만노스를 이용할 수 있게 하는 만노스-6-포스페이트 이

소머라제 (WO 94/20627), 및 오르니틴 디카복실라제 억제제, 2-(디플루오로메틸)-DL-오르니틴, DFMO 에 대한 내성을 부여하는 ODC (오르니틴 디카복실라제) (McConlogue, 1987, In: Current Communications in Molecular Biology, Cold Spring Harbor Laboratory ed.) 또는 블라스티시딘 S 에 대한 내성을 부여하는 아스퍼질러스 테레우스 (*Aspergillus terreus*) 유래 디아미나제 (Tamura, Biosci. Biotechnol. Biochem. 59 (1995), 2336-2338) 가 기술된 바 있다.

[0439] 유용한 특점 마커가 또한 당업자에게 알려져 있고, 상업적으로 입수가 가능하다. 유리하게, 상기 마커는 루시퍼라제 코딩 유전자 (Giacomin, Pl. Sci. 116 (1996), 59-72; Scikantha, J. Bact. 178 (1996), 121), 녹색 형광발광 단백질 (Gerdes, FEBS Lett. 389 (1996), 44-47) 또는 β -글루쿠로니다제 (Jefferson, EMBO J. 6 (1987), 3901-3907) 이다. 이러한 실시형태는 언급된 벡터를 함유하는 세포, 조직 및 유기체의 간단하고 신속한 스크리닝에 특이 유용하다.

[0440] 상기 기술된 바와 같이, 언급된 핵산 분자(들)는 예를 들어, 양자 T 세포 요법뿐만 아니라 또한 유전자 요법 목적을 위해서, 세포에서 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현하기 위한 벡터(들)의 일부분으로서 또는 단독으로 사용될 수 있다. 본원에 기재된 항원 결합 수용체 중 어느 하나를 인코딩하는 DNA 서열(들)을 함유하는 핵산 분자 또는 벡터(들)는 세포에 도입되어서 관심 폴리펩티드를 생성시킨다. 생체의 또는 생체내 기술을 통해 세포로 치료적 유전자를 도입시키는 것을 기반으로 하는 유전자 요법은 유전자 전달의 가장 중요한 적용 중 하나이다. 시험관내 또는 생체내 유전자 요법을 위한 유전자-전달 시스템 또는 방법을 위한 적합한 벡터, 방법 또는 유전자 전달 시스템은 문헌에 기술되어 있고, 당업자에게 알려져 있으며, 예를 들어 [Giordano, Nature Medicine 2 (1996), 534-539]; [Schaper, Circ. Res. 79 (1996), 911-919]; [Anderson, Science 256 (1992), 808-813]; [Verma, Nature 389 (1994), 239]; [Isner, Lancet 348 (1996), 370-374]; [Muhlhauser, Circ. Res. 77 (1995), 1077-1086]; [Onodera, Blood 91 (1998), 30-36]; [Verma, Gene Ther. 5 (1998), 692-699]; [Nabel, Ann. N.Y. Acad. Sci. 811 (1997), 289-292]; [Verzeletti, Hum. Gene Ther. 9 (1998), 2243-51]; [Wang, Nature Medicine 2 (1996), 714-716]; WO 94/29469; WO 97/00957; US 5,580,859; US 5,589,466; 또는 [Schaper, Current Opinion in Biotechnology 7 (1996), 635-640] 를 참조한다. 언급된 핵산 분자(들) 및 벡터(들)는 세포에 직접 도입 또는 리보솜, 또는 바이러스 벡터 (예를 들어, 아데노바이러스, 레트로바이러스) 를 통한 도입을 위해 디자인될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 상기 세포는 T 세포, 예컨대 CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, CD3+ T 세포, $\gamma \delta$ T 세포 또는 자연 살해 (NK) T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포이다.

[0441] 상기에 따라서, 본 발명은 본원에 정의된 항원 결합 수용체의 폴리펩티드 서열을 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 유전자 조작에서 통상적으로 사용되는 벡터, 특히 플라스미드, 코스미드 및 박테리오파지를 구동시키기 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 맥락에서, 상기 벡터는 발현 벡터 및/또는 유전자 전달 또는 표적화 벡터이다. 바이러스 예컨대 레트로바이러스, 백시니아 바이러스, 아데노-연합 바이러스, 헤르페스 바이러스 또는 소 파필로마 바이러스로부터 유래된 발현 벡터는 표적화된 세포 개체군으로 언급된 폴리뉴클레오티드 또는 벡터의 전달을 위해 사용될 수 있다.

[0442] 당업자에게 충분히 알려진 방법은 예를 들어, Sambrook 등 (상동), Ausubel (1989, 상동) 또는 다른 표준 참고서에 기술된 기술을 사용해 재조합 벡터(들)를 구축하는데 사용될 수 있다. 대안적으로, 언급된 핵산 분자 및 벡터는 표적 세포로 전달을 위해 리포솜으로 재구성될 수 있다. 본 발명의 핵산 분자를 함유하는 벡터는 세포 숙주의 유형에 따라 가변적인, 충분히 알려진 방법을 통해 숙주 세포에 전달될 수 있다. 예를 들어, 칼슘 클로라이드 형질감염이 원핵생물 세포에 일반적으로 이용되는 반면, 칼슘 포스페이트 처리 또는 전기천공은 다른 세포 숙주에 사용될 수 있으며, [Sambrook, 상동] 을 참조한다. 언급된 벡터는 특히 pEF-DHFR, pEF-ADA 또는 pEF-neo 일 수 있다. 벡터 pEF-DHFR, pEF-ADA 및 pEF-neo는 당해 기술분야에서, 예를 들어, 문헌 [Mack et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92 (1995), 7021-7025] 및 [Raum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001), 141-150] 에 기술되어 있다.

[0443] 본 발명은 또한 본원에 기재된 바와 같은 벡터를 형질전환 또는 형질감염시킨 T 세포를 제공한다. 상기 T 세포는 T 세포 또는 이의 전구체 세포에 상기 기술된 벡터 중 적어도 하나 또는 상기 기술된 핵산 분자 중 적어도 하나를 도입시켜 생성시킬 수 있다. T 세포에 상기 적어도 하나의 벡터 또는 적어도 하나의 핵산 분자의 존재는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 상기 기술된 항원 결합 수용체를 인코딩하는 유전자의 발현을 매개할 수 있다. 본 발명의 벡터는 폴리시스트론일 수 있다.

[0444] T 세포 또는 이의 전구체 세포에 도입되는 기술된 핵산 분자(들) 또는 벡터(들)은 세포의 게놈에 통합될 수 있거나 또는 염색체외에서 유지될 수 있다.

[0445] 종양 특이적 항원

[0446] 상기에 언급된 바와 같이, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 본원에서 기재된 항체의 (Ig-유래) 도메인(들)은 세포 표면 분자, 즉 종양 세포의 표면 상에서 천연적으로 발생하는 종양-특이적 항원에 대해 특이성을 갖는 항원-상호작용-부위를 포함할 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 이러한 항체는 본원에 기재된 항원 결합 수용체를 포함하는 본원에 기재된 바와 같이 형질도입된 T 세포를 종양 세포와 물리적으로 접촉하게 되고, 여기서 형질도입된 T 세포는 활성화된다. 본 발명의 형질도입된 T 세포의 활성화는 본원에 기재된 바와 같이 종양 세포의 용해를 일으킬 수 있다.

[0447] 종양 세포의 표면 상에서 천연적으로 발생하는 종양 마커의 예는 하기 본원에 제공되어 있고 제한없이, FAP (섬유아세포 활성화 단백질), CEA (암배 항원), p95 (p95HER2), BCMA (B-세포 성숙화 항원), EpCAM (상피 세포 부착 분자), MSLN (메소텔린), MCSP (흑색종 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸), HER-1 (인간 상피 성장 인자 1), HER-2 (인간 상피 성장 인자 2), HER-3 (인간 상피 성장 인자 3), CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, CD52F1t3, 폴레이트 수용체 1 (FOLR1), 인간 영양아층 세포-표면 항원 2 (Trop-2) 암 항원 12-5 (CA-12-5), 인간 백혈구 항원 - 항원 D 관련 (HLA-DR), MUC-1 (뮤신-1), A33-항원, PSMA (전립선-특이적 막 항원), FMS-유사 티로신 키나제 3 (FLT-3), PSMA (전립선 특이적 막 항원), PSCA (전립선 줄기 세포 항원), 트랜스페린-수용체, TNC (테나신), 카본 탈수 효소 IX (CA-IX), 및/또는 인간 주요 조직적합 복합체 (MHC) 의 분자에 결합된 펩티드를 포함한다.

[0448] 따라서, 본 발명의 맥락에서, 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체는 FAP (섬유아세포 활성화 단백질), CEA (암배 항원), p95 (p95HER2), BCMA (B-세포 성숙화 항원), EpCAM (상피 세포 부착 분자), MSLN (메소텔린), MCSP (흑색종 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸), HER-1 (인간 상피 성장 인자 1), HER-2 (인간 상피 성장 인자 2), HER-3 (인간 상피 성장 인자 3), CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, CD52F1t3, 폴레이트 수용체 1 (FOLR1), 인간 영양아층 세포-표면 항원 2 (Trop-2) 암 항원 12-5 (CA-12-5), 인간 백혈구 항원 - 항원 D 관련 (HLA-DR), MUC-1 (뮤신-1), A33-항원, PSMA (전립선-특이적 막 항원), FMS-유사 티로신 키나제 3 (FLT-3), PSMA (전립선 특이적 막 항원), PSCA (전립선 줄기 세포 항원), 트랜스페린-수용체, TNC (테나신), 카본 탈수 효소 IX (CA-IX), 및/또는 인간 주요 조직적합 복합체 (MHC) 의 분자에 결합하는 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 세포의 표면에 자연적으로 발생하는 항원/마커에 특이적 결합을 할 수 있는 항체, 즉, 치료적 항체의 돌연변이된 Fc 도메인에 결합한다.

[0449] A33-항원, BCMA (B-세포 성숙화 항원), 암 항원 12-5 (CA-12-5), 카본 탈수 효소 IX (CA-IX), CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, CEA (암배 항원), EpCAM (상피 세포 부착 분자), FAP (섬유아세포 활성화 단백질), FMS-유사 티로신 키나제 3 (FLT-3), 폴레이트 수용체 1 (FOLR1), HER-1 (인간 상피 성장 인자 1), HER-2 (인간 상피 성장 인자 2), HER-3 (인간 상피 성장 인자 3), 인간 백혈구 항원 - 항원 D 관련 (HLA-DR), MSLN (메소텔린), MCSP (흑색종 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸), MUC-1 (뮤신-1), PSMA (전립선 특이적 막 항원), PSMA (전립선-특이적 막 항원), PSCA (전립선 줄기 세포 항원), p95 (p95HER2), 트랜스페린-수용체, TNC (테나신), 인간 영양아층 세포-표면 항원 2 (Trop-2) 의 (인간) 구성원의 서열(들)은 UniProtKB/Swiss-Prot 데이터로부터 입수 가능하고 <http://www.uniprot.org/uniprot/?query=reviewed%3Ayes>에서 검색할 수 있다. 이들 (단백질) 서열은 또한 주석달린 변형 서열에 관한 것이다. 본 발명은 또한 본원에서 제공되는 간결한 서열의 상동성 서열, 및 또한 유전적 대립유전자 변이체 등을 사용하는 기술 및 방법을 제공한다. 바람직하게는 본원의 간결한 서열의 이러한 변이체 등이 사용된다. 바람직하게, 이러한 변이체는 유전자 변이체이다. 당업자는 또한 게놈 DNA를 비롯하여 mRNA/cDNA 의 등재 번호를 포함할 수 있는, 이들 데이터은행 등재 항목에서 이들 (단백질) 서열의 관련 코딩 영역을 쉽게 추론할 수 있다. (인간) FAP (섬유아세포 활성화 단백질) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 Q12884 (등재 버전 168, 서열 버전 5) 로부터 수득될 수 있고; (인간) CEA (암배 항원) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P06731 (등재 버전 171, 서열 버전 3) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) EpCAM (상피 세포 부착 분자) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P16422 (등재 버전 117, 서열 버전 2) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) MSLN (메소텔린) 의 서열(들)은 UniProt 등재 번호 Q13421 (버전 번호 132; 서열 버전 2) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) FMS-유사 티로신 키나제 3 (FLT-3) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P36888 (1차 인용가능 수탁 번호) 또는 Q13414 (2차 수탁 번호) (버전 번호 165 및 서열 버전 2) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) MCSP (흑색종 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸) 의 서열(들)은 UniProt 등재 번호 Q6UVK1 (버전 번호 118; 서열 버전 2) 로부

터 수득될 수 있거나; (인간) 플레이트 수용체 1 (FOLR1) 의 서열(들)은 UniProt 등재 번호 P15328 (1차 인용가능 수탁 번호) 또는 Q53EW2 (2차 수탁 번호) (버전 번호 153 및 서열 버전 3) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) 영양막 세포-표면 항원 2 (Trop-2) 의 서열(들)은 UniProt 등재 번호 P09758 (1차 인용가능 수탁 번호) 또는 Q15658 (2차 수탁 번호) (버전 번호 172 및 서열 버전 3) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) PSCA (전립선 줄기 세포 항원) 의 서열(들)은 UniProt 등재 번호 Q43653 (1차 인용가능 수탁 번호) 또는 Q6UW92 (2차 수탁 번호) (버전 번호 134 및 서열 버전 1) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) HER-1 (상피 성장 인자 수용체) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P00533 (등재 버전 177, 서열 버전 2) 으로부터 수득될 수 있거나; (인간) HER-2 (수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P04626 (등재 버전 161, 서열 버전 1) 으로부터 수득될 수 있거나; (인간) HER-3 (수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-3) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P21860 (등재 버전 140, 서열 버전 1) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) CD20 (B-림프구 항원 CD20) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P11836 (등재 버전 117, 서열 버전 1) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) CD22 (B-림프구 항원 CD22) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P20273 (등재 버전 135, 서열 버전 2) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) CD33 (B-림프구 항원 CD33) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P20138 (등재 버전 129, 서열 버전 2) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) CA-12-5 (뮤신 16) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 Q8WXI7 (등재 버전 66, 서열 버전 2) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) HLA-DR의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 Q29900 (등재 버전 59, 서열 버전 1) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) MUC-1 (뮤신-1) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P15941 (등재 버전 135, 서열 버전 3) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) A33 (세포 표면 A33 항원) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 Q99795 (등재 버전 104, 서열 버전 1) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) PSMA (글루타메이트 카르복시펩티다제 2) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 Q04609 (등재 버전 133, 서열 버전 1) 로부터 수득될 수 있거나; (인간) 트랜스페린 수용체의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 Q9UP52 (등재 버전 99, 서열 버전 1) 및 P02786 (등재 버전 152, 서열 버전 2) 으로부터 수득될 수 있거나; (인간) TNC (테나신) 의 서열은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 P24821 (등재 버전 141, 서열 버전 3) 로부터 수득될 수 있거나; 또는 (인간) CA-IX (카본산 탈수 효소 IX) 의 서열(들)은 Swiss-Prot 데이터베이스 등재번호 Q16790 (등재 버전 115, 서열 버전 2) 로부터 수득될 수 있다.

[0450] 치료적 용도 및 치료 방법

[0451] 본원에서 제공되는 분자 또는 구성체 (즉, 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 및 키트) 는 의학적 상황에서, 특히 악성 질환의 치료에 특히 유용하다. 예를 들어, 종양은 종양 세포에 특이적이고 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체와 함께 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있다.

따라서, 특정 실시형태에서, 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트는 악성 질환의 치료에서 사용되고, 특히 여기서 악성 질환은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암으로부터 선택된다.

[0452] 치료의 종양 특이성은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체에 의해 제공되며, 항체는 본 발명의 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여된다. 이러한 맥락에서, 형질도입된 T 세포는 범용 T 세포이며, 그 이유는 그것이 소정의 종양에 특이적이지 않으나 본 발명에 따라 사용되는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체에 따라 임의의 종양을 표적화할 수 있기 때문이다.

[0453] 이러한 맥락에서 악성 질환은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암/암종 또는 혈액의 암일 수 있다. 본 발명의 맥락에서 암/암종은 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 구강암, 위암, 자궁경부암, B 및 T 세포 림프종, 골수성 백혈병, 난소암, 백혈병, 림프성 백혈병, 비인두 암종, 결장암, 전립선암, 신세포암, 두경부암, 피부암 (흑색종), 비뇨생식관암, 예를 들어, 고환암, 난소암, 내피암, 자궁경부암 및 신장암, 담관암, 식도암, 침샘암 및 갑상선암 또는 혈액 종양, 신경교종, 육종 또는 골육종과 같은 다른 종양성 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0454] 예를 들어, 종양성 질환 및/또는 림프종은 이들 의학적 징후(들)에 대해 유도된 특별한 구성체로 치료될 수 있다. 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체와 조합된 본 발명의 형질도입된 T 세포에 대한 표시는 종양 항원에 대한 치료적 항체의 특이성에 의해 제공된다. 예를 들어, 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체로 치료될 수 있으며, 여기에서 항체는 (인간) EpCAM (종양 세포의 표면 상에서 자연 발생적인 종양-특이적 항원으로서) 에 대해 유도된다.

[0455] 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있

으며, 항체는 HER1, 바람직하게는 인간 HER1 을 향해 유도된다. 게다가, 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 교아세포종 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 MCSP, 바람직하게는 인간 MCSP 을 향해 유도된다. 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 교아세포종 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 FOLR1, 바람직하게는 인간 FOLR1 을 향해 유도된다. 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 교아세포종 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 Trop-2, 바람직하게는 인간 Trop-2 을 향해 유도된다.

위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 교아세포종 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 PSCA, 바람직하게는 인간 PSCA 을 향해 유도된다. 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 교아세포종 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 EGFRvIII, 바람직하게는 인간 EGFRvIII 을 향해 유도된다. 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 교아세포종 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 MSLN, 바람직하게는 인간 MSLN 을 향해 유도된다. 위암, 유방암 및/또는 자궁경부암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 HER2, 바람직하게는 인간 HER2 을 향해 유도된다. 위암 및/또는 폐암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 HER3, 바람직하게는 인간 HER3 을 향해 유도된다. B-세포 림프종 및/또는 T 세포 림프종은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 CD20, 바람직하게는 인간 CD20 을 향해 유도된다. B-세포 림프종 및/또는 T 세포 림프종은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 CD22, 바람직하게는 인간 CD22 을 향해 유도된다. 골수성 백혈병은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 CD33, 바람직하게는 인간 CD33 을 향해 유도된다. 난소암, 폐암, 유방암 및/또는 위장암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 CA12-5, 바람직하게는 인간 CA12-5 을 향해 유도된다. 위장암, 백혈병 및/또는 비인두 암종은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 HLA-DR, 바람직하게는 인간 HLA-DR 을 향해 유도된다. 결장암, 유방암, 난소암, 폐암 및/또는 췌장암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 MUC-1, 바람직하게는 인간 MUC-1 을 향해 유도된다. 결장암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 A33, 바람직하게는 인간 A33 을 향해 유도된다. 전립선암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 PSMA, 바람직하게는 인간 PSMA 을 향해 유도된다. 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암 및/또는 구강암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 트랜스페린 수용체, 바람직하게는 인간 트랜스페린 수용체를 향해 유도된다. 췌장암, 폐암 및/또는 유방암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 트랜스페린 수용체, 바람직하게는 인간 트랜스페린 수용체를 향해 유도된다. 신장암은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 치료적 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본 발명의 형질도입된 T 세포로 치료될 수 있으며, 항체는 CA-IX, 바람직하게는 인간 CA-IX 을 향해 유도된다.

[0456] 따라서, 본 발명은 또한 질환, 악성 질환 예컨대 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및/또는 혈액의 암의 치료를 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 맥락에서, 상기 대상체는 인간이다.

[0457] 본 발명의 맥락에서 질환의 치료를 위한 특정한 방법은 하기 단계를 포함한다:

- [0458] (a) T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 대상체로부터 분리하는 단계;
- [0459] (b) 상기 분리된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체로 형질도입시키는 단계; 및
- [0460] (c) 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 상기 대상체에게 투여하는 단계.
- [0461] 본 발명의 맥락에서, 상기 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포, 및/또는 치료적 항체/항체들은 정맥내 주입을 통해 상기 대상체에게 공동-투여된다.
- [0462] 더욱이, 본 발명의 맥락에서 본 발명은 질환의 치료를 위한 방법을 제공하며, 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0463] (a) T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 대상체로부터 분리하는 단계;
- [0464] (b) 상기 분리된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체로 형질도입시키는 단계;
- [0465] (c) 임의로 상기 분리된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 T 세포 수용체로 공동-형질도입시키는 단계;
- [0466] (d) T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 항-CD3 및 항-CD28 항체에 의해 확장시키는 단계; 및
- [0467] (e) 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포를 상기 대상체에게 투여하는 단계.
- [0468] 상기 언급된 단계 (d) (T 세포 예컨대 TIL을 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체에 의해 확장시키는 단계를 언급) 는 또한 (자극성) 사이토카인 예컨대 인터루킨-2 및/또는 인터루킨-15 (IL-15) 의 존재 하에서 수행될 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 상기 언급된 단계 (d) (T 세포 예컨대 TIL을 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체에 의해 확장시키는 단계를 언급) 는 또한 인터루킨-12 (IL-12), 인터루킨-7 (IL-7) 및/또는 인터루킨-21 (IL-21) 의 존재 하에서 수행될 수 있다.
- [0469] 치료 방법은, 또한, 본 발명에 따라 사용되는 항체의 투여를 포함한다. 상기 항체는 형질도입된 T 세포가 투여되기 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여될 수 있다. 본 발명의 맥락에서 형질도입된 T 세포의 투여는 정맥내 주입에 의해 수행될 것이다. 본 발명의 맥락에서 형질도입된 T 세포는 치료하려는 대상체로부터 분리/수득된다.
- [0470] 조성물
- [0471] 게다가, 본 발명은 돌연변이된 Fc 도메인(들)을 갖는 항체 분자(들), 본 발명의 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포(들)을 포함하는 조성물 (약제), 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 인코딩하는 핵산 분자(들) 및 벡터(들), 및/또는 및 하나 이상의 상기 조성물을 포함하는 키트를 제공한다. 본 발명의 맥락에서, 조성물은, 임의로, 담체, 안정화제 및/또는 부형제의 적합한 제형을 추가로 포함하는 약학 조성물이다. 따라서, 본 발명의 맥락에서 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포 및/또는 상기 형질도입된 T 세포를 포함하는 조성물과의 조합으로 투여될 본원에 기재된 바와 같은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체 분자를 포함하는 약학 조성물 (약제) 이 제공되며, 상기 항체 분자는 본 발명의 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여될 것이다.
- [0472] 본 발명에 따르면, 용어 "약학 조성물" 은 환자, 바람직하게는 인간 환자에게 투여를 위한 조성물에 관한 것이다. 뿐만 아니라, 환자가 질환을 앓는 본 발명의 맥락에서, 상기 질환은 악성 질환, 특히 상피, 내피 또는 중피 기원의 암/암종 또는 혈액의 암이다. 본 발명의 맥락에서 암/암종은 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 구강암, 위암, 자궁경부암, B 및 T 세포 림프종, 골수성 백혈병, 난소암, 백혈병, 림프성 백혈병, 비인두 암종, 결장암, 전립선암, 신세포암, 두경부암, 피부암 (흑색종), 비뇨생식관암, 예를 들어, 고환암, 내피암, 자궁경부암 및 신장암, 담관암, 식도암, 침샘암 및 갑상선암 또는 혈액 종양, 신경교종, 육종 또는 골육종과 같은 다른 종양성 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0473] 바람직한 실시형태에서, 약학 조성물/약제는 비경구, 경피, 관내, 동맥내, 정맥내, 척추강내 투여를 위한 또는 조직 또는 종양 내로 직접 주입에 의하는 본원에 기재된 바와 같은 항체 및/또는 형질도입된 T 세포를 포함한다. 본 발명의 맥락에서 조성물/약제는 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되는 본원에 기재된 바와 같은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체를 포함한다. 본 발명의 맥락에서 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함하는 약학 조성물/약제는 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포를 포함하는 조성물/약제와

의 조합으로 투여될 것이며, 상기 T 세포는 치료될 대상체로부터 획득되었다.

[0474] 용어 "조합되는" 의 사용은 치료 섭생법의 성분이 대상체에게 투여되는 순서를 제한하지 않는다. 따라서, 본원에서 기재되는 약학 조성물/약제는 본 발명의 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 본원에 정의된 바와 같은 항체의 투여를 포함한다. 본원에서 사용되는 "조합되는" 은 또한 본원에 이전에 정의된 바와 같은 항체 및 본원에 정의된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포의 투여 사이의 타이밍을 제한하지 않는다. 따라서, 두 개의 성분이 동시에/병행하여 투여되지 않을 때, 투여는 1 분, 5 분, 15 분, 30 분, 45 분, 1 시간, 2 시간, 4 시간, 6 시간, 12 시간, 24 시간, 48 시간 또는 72 시간에 의해 또는 당업자에 의해 용이하게 결정되는 및/또는 본원에서 기재되는 기재되는 임의의 적합한 시간차에 의해 분리될 수 있다.

[0475] 본 발명의 맥락에서 용어 "조합되는" 은 또한 본원에 기재된 바와 같은 항체 및 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포가 대상체에게 투여되기 전에 함께 예비인큐베이션되는 상황을 포함한다. 따라서, 두 개의 성분은 투여 전에, 예를 들어, 1 분, 5 분, 10 분, 15 분, 30 분, 45 분 또는 1 시간 동안 또는 당업자에 의해 용이하게 결정되는 임의의 적합한 시간 동안 예비인큐베이션될 수 있다. 본 발명은, 또다른 바람직한 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 항체 및 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포가 동시에/병행하여 투여되는 치료 섭생법에 관한 것이다. 본 발명의 맥락에서, 본원에 기재된 바와 같은 항체는 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포가 투여된 후에 투여될 수 있다.

[0476] 추가로, 본원에서 사용되는 "조합되는" 은 개시된 치료 섭생법을 즉각적 순서로의 본원에 기재된 바와 같은 항체 및 본 발명의 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포의 투여 (즉, 두 성분 중 하나의 투여, 그에 뒤이어 (특정 시간 간격 후에) 그 사이에 임의의 기타 치료 프로토콜의 투여 및/또는 실행 없이 다른 성분의 투여) 로 제한하지 않는다. 그러므로, 본 발명의 치료 섭생법은 또한 본원에 기재된 바와 같은 항체 분자 및 본 발명에 따른 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포의 별개의 투여를 포함하며, 투여는 질환 또는 그의 증상의 치료 또는 예방에 필요한 및/또는 적합한 하나 이상의 치료 프로토콜에 의해 분리된다. 그러한 개입 치료 프로토콜의 예는 진통제의 투여; 화학치료제의 투여, 질환 또는 그의 증상의 외과적 처리를 포함하나 그에 제한되지 않는다. 따라서, 본원에서 개시되는 치료 섭생법은 본원에 기재된 바와 같은 또는 당해 기술 분야에 알려진 바와 같은 질환, 또는 그의 증상의 치료 또는 예방에 적합한 하나의, 또는 하나 초과와 함께, 또는 그러한 치료 프로토콜 없이 본원에 기재된 바와 같은 항체 및 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포의 투여를 포함한다.

[0477] 상기 약학 조성물(들)/약물(들)은 주입 또는 주사를 통해서 환자에게 투여되는 것이 특히 고려된다. 본 발명의 맥락에서 본원에서 기술된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 형질도입된 T 세포는 주입 또는 주사를 통해서 환자에게 투여될 것이다. 적합한 조성물/약제의 투여는 상이한 방식, 정맥내, 복강내, 피하, 근육내, 국소 또는 피내 투여에 의해 실시될 수 있다.

[0478] 본 발명의 약학 조성물/약제는 약학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약학 담체의 예는 당해 기술분야에 잘 알려져 있고 포스페이트 완충 염수 용액, 물, 에멀션, 에컨대 오일/물 에멀션, 다양한 유형의 습윤제, 멸균 용액 등을 포함한다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 충분히 알려진 통상의 방법으로 제제화될 수 있다. 이들 약학 조성물은 적합한 용량으로 대상체에게 투여될 수 있다. 용량 용법은 참관의 및 임상적 요인들에 의해 결정될 것이다. 의학 분야에서 충분히 알려진 바와 같이, 어느 한 환자를 위한 용량은 환자의 체격, 신체 표면적, 연령, 투여하려는 특정 화합물, 성별, 투여 시기 및 경로, 전신 건강, 및 동시발생적으로 투여되는 다른 약물을 포함하여, 많은 인자들에 따라 좌우된다. 일반적으로, 약학 조성물의 정규 투여로서 용법은 1일 당 1 μg 내지 5 g 유닛의 범위여야 한다. 그러나, 연속 주입을 위해 보다 바람직한 용량은 1시간 당 체중 킬로그램 당 0.01 μg 내지 2 mg, 바람직하게는 0.01 μg 내지 1 mg, 보다 바람직하게는 0.01 μg 내지 100 μg , 보다 더 바람직하게는 0.01 μg 내지 50 μg 및 가장 바람직하게는 0.01 μg 내지 10 μg 유닛의 범위일 수 있다. 특히 바람직한 용량은 하기 본원에 나열된다. 과정은 주기적인 평가를 통해 모니터링될 수 있다. 용량은 가변적일 것이지만 DNA 의 정맥내 투여에 바람직한 용량은 대략 10^6 내지 10^{12} 카피의 DNA 분자이다.

[0479] 본 발명의 조성물은 국소적으로 또는 전신으로 투여될 수 있다. 투여는 일반적으로 비경구, 예를 들어 정맥내일 것이고, 형질도입된 T 세포는 또한 예를 들어 동맥 내 부위에 카테터를 통해서, 표적 부위에 대해 직접적

으로 투여될 수 있다. 비경구 투여를 위한 조제물은 멸균 수용성 또는 비수용성 용액, 현탁액 및 에멀션을 포함한다. 비수용성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일 에컨대 올리브 오일, 및 주사용 유기 에스테르 에컨대 에틸 올레에이트이다. 수용성 담체는 물, 알콜성/수성 용액, 에멀션 또는 염수 및 완충 배지를 포함한, 현탁액을 포함한다. 비경구 비히클은 소듐 클로라이드 용액, 링거 텍스트로스, 텍스트로스 및 소듐 클로라이드, 락테이트화 링거 또는 고장유를 포함한다. 정맥내 비히클은 유체 및 영양 보충제, 전해질 보충제 (예컨대 링거 텍스트로스 기반의 것) 등을 포함한다. 보존제 및 다른 첨가제, 에컨대, 예를 들어, 항미생물제, 항산화제, 킬레이트화제 및 불활성 가스 등이 또한 존재할 수 있다.

또한, 본 발명의 약학 조성물은 단백질성 담체, 예를 들어 바람직하게는 인간 기원의 혈청 알부민 또는 면역 글로불린을 포함할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은, 단백질성 항체 구성체 또는 동일한 것을 인코딩하는 핵산 분자 또는 벡터 (본 발명에서 기재된 바와 같음), 및/또는 세포에 더하여, 약학 조성물의 의도하는 용도에 따라서, 추가의 생물학적 활성제를 포함할 수 있다는 것을 고려한다. 이러한 작용제는 위장계에 작용하는 약물, 정균제로서 작용하는 약물, 고노산혈증을 예방하는 약물, 면역반응을 억제하는 약물 (예를 들어, 코르티코스테로이드), 순환계에 작용하는 약물 및/또는 당해 기술분야에 알려진 T 세포 보조자극성 분자 또는 사이토카인과 같은 작용제일 수 있다.

[0480] 본 발명의 조성물(들)/약물(들)의 투여를 위해 가능한 징후는 악성 질환 예컨대 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암, 특히 상피 암/암종 예컨대 유방암, 결장암, 전립선암, 두경부암, 피부암 (흑색종), 비노생식관암, 예를 들어, 난소암, 고환암, 내피암, 자궁경부암 및 신장암, 폐암, 위암, 담관암, 식도암, 침샘암 및 갑상선암 또는 혈액 종양, 신경교종, 육종 또는 골육종과 같은 다른 종양성 질환이다.

[0481] 본 발명은 다른 화합물, 예를 들어 면역 이펙터 세포, 세포 증식 또는 세포 자극을 위한 활성화 신호를 제공할 수 있는 분자와의 공동-투여 프로토콜을 더욱 고려한다. 상기 분자는 예를 들어 T 세포에 대한 추가의 주요 활성화 신호 (예를 들어, 추가의 보조자극성 분자: B7 패밀리의 분자, O_x40L, 4.1 BBL, CD40L, 항-CTLA-4, 항-PD-1), 또는 추가의 사이토카인 인터루킨 (예를 들어, IL-2) 일 수 있다.

[0482] 상기 기술된 바와 같은 본 발명의 조성물은 또한 임의로 검출을 위한 수단 및 방법을 추가로 포함하는 진단 조성물일 수 있다.

[0483] 따라서, 바람직한 실시형태에서, 제공되는 것은 약제로서 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 키트, 항원 결합 수용체 또는 형질도입된 T 세포이다. 본 발명의 맥락에서, 약제로서 사용하기 위한 본 발명에 따른 항원 결합 수용체가 제공되며, 본원에 기재된 바와 같은 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 하나 이상의 항체는 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 및/또는 발현하는 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여될 것이고, 상기 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포는 치료될 대상체로부터 획득되었다. 상기 약제는 악성 질환 특히 상피, 내피 또는 중피 기원 또는 혈액의 암/암종의 치료 방법에서 이용될 수 있다. 본 발명의 맥락에서 암/암종은 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 구강암, 위암, 자궁경부암, B 및 T 세포 림프종, 골수성 백혈병, 난소암, 백혈병, 림프성 백혈병, 비인두 암종, 결장암, 전립선암, 신세포암, 두경부암, 피부암 (흑색종), 비노생식관암, 예를 들어, 고환암, 난소암, 내피암, 자궁경부암 및 신장암, 담관암, 식도암, 침샘암 및 갑상선암 또는 기타 종양성 질환 예컨대 혈액 종양, 신경교종, 육종 또는 골육종으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0484] 게다가, 본 발명의 맥락에서 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 본원에 기재된 바와 같은 항체는 종양 세포의 표면 상에서 자연 발생적인 종양-특이적 항원에 결합하며, 상기 항체 분자는 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 수용체를 포함하는 상기 대상체로부터의 형질도입된 T 세포, 바람직하게는 CD8+ T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여될 것이다. 본 발명의 맥락에서 암/암종은 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 구강암, 위암, 자궁경부암, B 및 T 세포 림프종, 골수성 백혈병, 난소암, 백혈병, 림프성 백혈병, 비인두 암종, 결장암, 전립선암, 신세포암, 두경부암, 피부암 (흑색종), 비노생식관암, 예를 들어, 고환암, 난소암, 내피암, 자궁경부암 및 신장암, 담관암, 식도암, 침샘암 및 갑상선암 또는 기타 종양성 질환 예컨대 혈액 종양, 신경교종, 육종 또는 골육종으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0485] 게다가, 본 발명에 따르면, 종양 항원, 바람직하게는 인간 종양 항원 (종양 세포의 표면 상에서 자연 발생적인 종양-특이적 항원으로서) 에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인을 포함하고 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 분자 또는 구성체 (즉, 본원에서 기재되는 항체 분자) (여기에서 본 발명의 항원 결합 수용체의 본원에서 정의되는 세포의 도메인은 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도된다/그에 결합한다/그것과 상호작용한다) 는 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암 및/또는 구강암

의 치료를 위해 제공된다. 따라서, 본 발명의 맥락에서 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, 종양 항원, 바람직하게는 인간 종양 항원에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 두 개의 결합 도메인을 포함하고 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체 분자 (여기에서 항원 결합 수용체의 본원에서 정의되는 세포의 도메인은 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도된다/그에 결합한다/그것과 상호작용한다) 가 제공된다.

- [0486] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암 및/또는 구강암의 치료에서 사용하기 위한, (i) 종양 항원, 바람직하게는 인간 종양 항원에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 두 개의 결합 도메인, 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0487] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암 및/또는 구강암의 치료에서 사용하기 위한, (i) HER1, 바람직하게는 인간 HER1 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0488] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 위암, 유방암 및/또는 자궁경부암의 치료에서 사용하기 위한, (i) HER2, 바람직하게는 인간 HER2 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0489] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 위암 및/또는 폐암의 치료에서 사용하기 위한, (i) HER3, 바람직하게는 인간 HER3 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0490] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) CEA, 바람직하게는 인간 CEA 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0491] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) p95, 바람직하게는 인간 p95 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0492] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) BCMA, 바람직하게는 인간 BCMA 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0493] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) MSLN, 바람직하게는 인간 MSLN 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0494] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) MCSP, 바람직하게는 인간 MCSP 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0495] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) CD19, 바람직하게는 인간 CD19 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0496] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 B-세포 림프종 및/또는 T 세포 림프종의 치료에서 사용하기 위한, (i)

CD20, 바람직하게는 인간 CD20 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.

- [0497] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 B-세포 림프종 및/또는 T 세포 림프종의 치료에서 사용하기 위한, (i) CD22, 바람직하게는 인간 CD22 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0498] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) CD38, 바람직하게는 인간 CD38 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체, 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0499] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) CD52F1t3, 바람직하게는 인간 CD52F1t3 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0500] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) FoIR1, 바람직하게는 인간 FoIR1 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0501] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 위장암, 췌장암, 담관세포암, 폐암, 유방암, 난소암, 피부암, 교아세포종 및/또는 구강암의 치료에서 사용하기 위한, (i) Trop-2, 바람직하게는 인간 Trop-2 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0502] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 난소암, 폐암, 유방암 및/또는 위장암의 치료에서 사용하기 위한, (i) CA-12-5, 바람직하게는 인간 CA-12-5 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0503] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 위장암, 백혈병 및/또는 비인두 암종의 치료에서 사용하기 위한, (i) HLA-DR, 바람직하게는 인간 HLA-DR 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0504] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 결장암, 유방암, 난소암, 폐암 및/또는 췌장암의 치료에서 사용하기 위한, (i) MUC-1, 바람직하게는 인간 MUC-1 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0505] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 결장암의 치료에서 사용하기 위한, (i) A33, 바람직하게는 인간 A33 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체 분자; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0506] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 전립선암의 치료에서 사용하기 위한, (i) PSMA, 바람직하게는 인간 PSMA 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0507] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) PSCA, 바람직하게는 인간 PSCA 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체 분자; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0508] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한,

(i) 트랜스페린-수용체, 바람직하게는 인간 트랜스페린-수용체에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체 분자; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.

- [0509] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암의 치료에서 사용하기 위한, (i) 테나신, 바람직하게는 인간 테나신에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0510] 하나의 실시형태에서, 제공되는 것은 신장암의 치료에서 사용하기 위한, (i) CA-IX, 바람직하게는 인간 XA-IX 에 대항하는 하나 또는 두 개의 결합 도메인(들), 및 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는, 항체 분자; 및 (ii) 돌연변이된 Fc 도메인에게로 유도되는/그에 결합하는/그것과 상호작용하는 본 발명에 따른 항원 결합 수용체이다.
- [0511] 예시적 실시형태
- [0512] 1. 앵커링 경막 도메인, 및 항원 결합 모이어티를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체로서, 항원 결합 모이어티는 돌연변이된 단편 결정가능 (Fc) 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 돌연변이된 Fc 도메인은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0513] 2. 실시형태에서 1 의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이된 Fc 도메인의 Fc 수용체 결합은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인의 Fc 수용체 결합과 비교하여 감소되며, 특히 Fc 수용체는 Fc γ 수용체 또는 신생아 Fc 수용체 (FcRn) 인 항원 결합 수용체.
- [0514] 3. 실시형태에서 1 또는 2 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, Fc 수용체 결합은 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 에 의해 25°C 에서 측정되는 항원 결합 수용체.
- [0515] 4. 실시형태에서 1 내지 3 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 항원 결합 모이어티는 scFv, Fab, crossFab 또는 scFab 인 항원 결합 수용체.
- [0516] 5. 실시형태에서 1 내지 4 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 앵커링 경막 도메인은 CD8, CD3z, FCGR3A, NKG2D, CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 또는 DAP12 경막 도메인 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 경막 도메인인 항원 결합 수용체.
- [0517] 6. 실시형태에서 1 내지 5 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 앵커링 경막 도메인은 CD28 경막 도메인이며, 특히 앵커링 경막 도메인은 SEQ ID NO:11 의 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0518] 7. 실시형태에서 1 내지 6 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인 및/또는 적어도 하나의 보조자극성 신호전달 도메인을 추가로 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0519] 8. 실시형태에서 1 내지 7 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 CD3z, FCGR3A 및 NKG2D 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택되는 항원 결합 수용체.
- [0520] 9. 실시형태에서 1 내지 8 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 CD3z 의 세포내 도메인 또는 이의 단편이며, 특히 적어도 하나의 자극성 신호전달 도메인은 SEQ ID NO:13 의 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0521] 10. 실시형태에서 1 내지 9 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 보조자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, ICOS, DAP10 및 DAP12 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편으로 이루어지는 군으로부터 개별적으로 선택되는 항원 결합 수용체.
- [0522] 11. 실시형태에서 1 내지 10 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 보조자극성 신호전달 도메인은 CD28 세포내 도메인 또는 이의 단편이며, 특히, 적어도 하나의 보조자극성 신호전달 도메인은 SEQ ID NO:12 의 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0523] 12. 실시형태에서 1 내지 11 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 항원 결합 수용체는 CD3z 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편을 포함하는 하나의 자극성 신호전달 도메인을 포함하고, 항원 결합 수용체는 CD28 의 세포내 도메인, 또는 이의 단편을 포함하는 하나의 보조자극성 신호전달 도메인을 포함하는 항원 결합 수용체.

- [0524] 13. 실시형태에서 12 의 항원 결합 수용체로서, 자극성 신호전달 도메인은 SEQ ID NO:13 의 아미노산 서열을 포함하고, 보조자극성 신호전달 도메인은 SEQ ID NO:12 의 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0525] 14. 실시형태에서 1 내지 13 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 세포의 도메인은 앵커링 경막 도메인으로, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결되는 항원 결합 수용체.
- [0526] 15. 실시형태에서 14 의 항원 결합 수용체로서, 펩티드 링커는 아미노산 서열 GGGGS (SEQ ID NO:17) 을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0527] 16. 실시형태에서 1 내지 15 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 앵커링 경막 도메인은 공-신호전달 도메인에 또는 신호전달 도메인에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결되는 항원 결합 수용체.
- [0528] 17. 실시형태에서 1 내지 16 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 신호전달 및/또는 공-신호전달 도메인은, 임의로 적어도 하나의 펩티드 링커를 통해, 연결되는 항원 결합 수용체.
- [0529] 18. 실시형태에서 1 내지 17 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 항원 결합 모이어티는 scFv 단편이며, scFv 단편은 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결되는 항원 결합 수용체.
- [0530] 19. 실시형태에서 1 내지 17 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 항원 결합 모이어티는 Fab 단편 또는 crossFab 단편이며, Fab 또는 crossFab 단편은 중쇄의 C-말단에서 앵커링 경막 도메인의 N-말단에, 임의로 펩티드 링커를 통해, 연결되는 항원 결합 수용체.
- [0531] 20. 실시형태에서 7 내지 19 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 항원 결합 수용체는 하나의 공-신호전달 도메인을 포함하며, 공-신호전달 도메인은 N-말단에서 앵커링 경막 도메인의 C-말단으로 연결되는 항원 결합 수용체.
- [0532] 21. 실시형태에서 20 의 항원 결합 수용체로서, 항원 결합 수용체는 하나의 자극성 신호전달 도메인을 부가적으로 포함하며, 자극성 신호전달 도메인은 N-말단에서 보조자극성 신호전달 도메인의 C-말단으로 연결되는 항원 결합 수용체.
- [0533] 22. 실시형태에서 1 내지 21 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG4 Fc 도메인, 특히 인간 IgG1 Fc 도메인인 항원 결합 수용체.
- [0534] 23. 실시형태에서 1 내지 22 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 L234, L235, I253, H310, P331, P329 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이를 포함하며, 특히 아미노산 돌연변이는 L234A, L235A, I253A, N297A, H310A, P329G 및/또는 H435A 인 항원 결합 수용체.
- [0535] 24. 실시형태에서 1 내지 23 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이체 Fc 도메인은 인간 IgG1 Fc (SEQ ID NO: 130) 의 잔기 117, 118, 136, 180, 193, 212, 214, 및 318 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 아미노산 치환을 포함하며, 특히 아미노산 돌연변이는 L117A, L118A, I136A, N180A, H193A, P212G, P214G 및/또는 H318A 인 항원 결합 수용체.
- [0536] 25. 실시형태에서 1 내지 24 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 L234, L235 및 P329 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 특히 아미노산 돌연변이 L234A, L235A 및 P329G ("PGLALA") 를 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0537] 26. 실시형태에서 1 내지 25 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 아미노산 돌연변이 P329G 를 포함하며, 돌연변이된 Fc 도메인의 Fc γ 수용체 결합은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인의 Fc γ 수용체 결합과 비교하여 감소되며, 특히 Fc γ 수용체는 인간 Fc γ RIIIa 및/또는 Fc γ RIIa 인 항원 결합 수용체.
- [0538] 27. 실시형태에서 1 내지 26 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이체 Fc 도메인은 인간 IgG1 Fc (SEQ ID NO: 130) 의 위치 212 에서 아미노산 치환을 포함하며, 특히 아미노산 돌연변이는 P212G 인 항원 결합 수용체.
- [0539] 28. 실시형태에서 1 내지 24 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 I253, H310 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 특히

아미노산 돌연변이 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 를 포함하며, 돌연변이된 Fc 도메인의 FcRn 결합은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인의 FcRn 결합과 비교하여 감소되는 항원 결합 수용체.

- [0540] 29. 실시형태에서 1 내지 24 또는 28 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 돌연변이체 Fc 도메인은 인간 IgG1 Fc (SEQ ID NO: 130) 의 위치 136, 193, 및 318 에서 아미노산 치환을 포함하며, 특히 아미노산 돌연변이는 I136A, H193A, 및 H318A ("AAA") 인 항원 결합 수용체.
- [0541] 30. 실시형태에서 1 내지 27 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 항원 결합 모이어티는 하기를 포함하는 항원 결합 수용체:
 - [0542] (i) 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH)
 - [0543] (a) 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 RYWMN (SEQ ID NO:1);
 - [0544] (b) CDR H2 아미노산 서열 EITPDSSTINYTPSLKD (SEQ ID NO:2); 및
 - [0545] (c) CDR H3 아미노산 서열 PYDYGAWFAS (SEQ ID NO:3); 및
 - [0546] (ii) 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)
 - [0547] (d) 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:4);
 - [0548] (e) CDR L2 아미노산 서열 GTNKRAP (SEQ ID NO:5); 및
 - [0549] (f) CDR L3 아미노산 서열 ALWYSNHWV (SEQ ID NO:6).
- [0550] 31. 실시형태에서 1 내지 27 또는 30 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:8 및 SEQ ID NO:32 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH), 및 SEQ ID NO:9 및 SEQ ID NO:33 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0551] 32. 실시형태에서 1 내지 27, 30 또는 31 의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:8 의 중쇄 가변 영역 (VH) 및 SEQ ID NO:9 의 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0552] 33. 실시형태에서 1 내지 27 또는 30 내지 32 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 이며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:7 및 SEQ ID NO:31 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0553] 34. 실시형태에서 33 의 항원 결합 수용체로서, SEQ ID NO:7 의 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0554] 35. 실시형태에서 1 내지 27 또는 30 내지 32 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 Fab 단편이며, 항원 결합 수용체는 하기를 포함하는 항원 결합 수용체:
 - [0555] a) SEQ ID NO:39 및 SEQ ID NO:48 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 융합체 폴리펩티드; 및
 - [0556] b) SEQ ID NO:41 및 SEQ ID NO:50 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 폴리펩티드.
- [0557] 36. 실시형태에서 35 의 항원 결합 수용체로서, 하기를 포함하는 항원 결합 수용체:
 - [0558] a) SEQ ID NO:39 의 중쇄 융합체 폴리펩티드; 및

- [0559] b) SEQ ID NO:41 의 경쇄 폴리펩티드.
- [0560] 37. 실시형태에서 1 내지 24 또는 28 내지 29 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 항원 결합 모이어티는 하기를 포함하는 항원 결합 수용체:
 - [0561] (i) 하기를 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH)
 - [0562] (a) 중쇄 상보성 결정 영역 (CDR H) 1 아미노산 서열 SYGMS (SEQ ID NO:53);
 - [0563] (b) CDR H2 아미노산 서열 SSGGSY (SEQ ID NO:54); 및
 - [0564] (c) CDR H3 아미노산 서열 LGMITTYGYAMDY (SEQ ID NO:55); 및
 - [0565] (ii) 하기를 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL)
 - [0566] (d) 경쇄 상보성 결정 영역 (CDR L) 1 아미노산 서열 RSSQTIVHSTGHTYLE (SEQ ID NO:56);
 - [0567] (e) CDR L2 아미노산 서열 KVSNRFS (SEQ ID NO:57); 및
 - [0568] (f) CDR L3 아미노산 서열 FQGSHVPTY (SEQ ID NO:58).
- [0569] 38. 실시형태에서 1 내지 24, 28, 29 또는 37 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없으며, 항원 결합 모이어티는 SEQ ID NO:61 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 SEQ ID NO:62 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (VL) 을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0570] 39. 실시형태에서 1 내지 24, 28, 29 또는 37 내지 38 의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 하기를 포함하는 항원 결합 수용체:
 - [0571] a) SEQ ID NO:61 의 중쇄 가변 영역 (VH); 및
 - [0572] b) SEQ ID NO:62 의 경쇄 가변 영역 (VL).
- [0573] 40. 실시형태에서 1 내지 24, 28, 29 또는 37 내지 39 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 scFv 이며, 항원 결합 수용체는 SEQ ID NO:59 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열 을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0574] 41. 실시형태에서 40 의 항원 결합 수용체로서, SEQ ID NO:59 의 아미노산 서열을 포함하는 항원 결합 수용체.
- [0575] 42. 실시형태에서 1 내지 27 또는 30 내지 32 중 어느 하나의 항원 결합 수용체로서, 적어도 하나의 항원 결합 모이어티는 P329G 돌연변이를 포함하는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 Fab 단편이며, 항원 결합 수용체는 하기를 포함하는 항원 결합 수용체:
 - [0576] a) SEQ ID NO:39 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 융합체 폴리펩티드; 및
 - [0577] b) SEQ ID NO:41 의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 폴리펩티드.
- [0578] 43. 실시형태에서 42 의 항원 결합 수용체로서, 하기를 포함하는 항원 결합 수용체:
 - [0579] a) SEQ ID NO:39 의 중쇄 융합체 폴리펩티드; 및
 - [0580] b) SEQ ID NO:41 의 경쇄 폴리펩티드.
- [0581] 44. 실시형태에서 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

- [0582] 45. 실시형태 1 내지 32, 35 내지 39 및 42 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체의 중쇄 융합체 폴리펩티드 또는 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.
- [0583] 46. 실시형태 1 내지 32, 35 내지 39 및 42 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 조성물로서, 중쇄 융합체 폴리펩티드를 인코딩하는 제 1 단리된 폴리뉴클레오티드, 및 경쇄 폴리펩티드를 인코딩하는 제 2 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물.
- [0584] 47. 실시형태 44 또는 45 중 어느 하나의 폴리뉴클레오티드 또는 실시형태 46 의 조성물에 의해 인코딩되는 폴리펩티드.
- [0585] 48. 실시형태 44 의 폴리뉴클레오티드 또는 실시형태 45 의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 특히 발현 벡터.
- [0586] 49. 실시형태 44 의 폴리뉴클레오티드, 실시형태 46 의 조성물 또는 실시형태 48 의 벡터를 포함하는 형질 도입된 T 세포.
- [0587] 50. 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포.
- [0588] 51. 실시형태 49 또는 50 중 어느 하나의 형질도입된 T 세포로서, 형질도입된 T 세포는 표적 항원에 특이적 결합을 할 수 있는 T 세포 수용체 (TCR) 로 동시형질도입되는 형질도입된 T 세포.
- [0589] 52. 하기를 포함하는 키트:
- [0590] (A) 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포; 및
- [0591] (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;
- [0592] 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.
- [0593] 53. 하기를 포함하는 키트:
- [0594] (A) 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드; 및
- [0595] (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;
- [0596] 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.
- [0597] 54. 하기를 포함하는 키트:
- [0598] (A) 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체를 인코딩하는 실시형태 46 의 조성물 또는 실시 형태 48 의 벡터; 및
- [0599] (B) 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체;
- [0600] 여기에서 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없음.
- [0601] 55. 실시형태에서 52 내지 54 중 어느 하나의 키트로서, 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인은 IgG1 또는 IgG4 Fc 도메인, 특히 인간 IgG1 Fc 도메인인 키트.
- [0602] 56. 실시형태에서 52 내지 55 중 어느 하나의 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인의 Fc 수용체 결합은 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인의 Fc 수용체 결합과 비교하여 감소되며, 특히 Fc 수용체는 Fc γ 수용체 또는 신생아 Fc 수용체 (FcRn) 인 키트.
- [0603] 57. 실시형태에서 56 의 키트로서, Fc 수용체 결합은 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 에 의해 25°C 에서 측정되는 키트.
- [0604] 58. 실시형태에서 52 내지 57 중 어느 하나의 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 L234, L235, I253, H310, P331, P329 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이를 포함하며, 특히 아미노산 돌연변이는 L234A, L235A, I253A, N297A, H310A, P329G 및/또는 H435A 인 키트.

- [0605] 59. 실시형태에서 52 내지 58 중 어느 하나의 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 L234, L235 및 P329 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 특히 아미노산 돌연변이 L234A, L235A 및 P329G ("PGLALA") 를 포함하는 키트.
- [0606] 60. 실시형태에서 52 내지 59 중 어느 하나의 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 아미노산 돌연변이 P329G 를 포함하는 키트.
- [0607] 61. 실시형태에서 52 내지 60 중 어느 하나의 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인은 EU 번호매김에 따른 I253, H310 및 H435 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서 적어도 하나의 아미노산 돌연변이, 특히 아미노산 돌연변이 I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 를 포함하는 키트.
- [0608] 62. 실시형태에서 52 내지 61 중 어느 하나의 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 종양 세포의 표면 상의 항원에 및/또는 인간 주요 조직적합 복합체 (MHC) 의 분자에 결합된 펩티드에 특이적 결합을 할 수 있으며, 특히 항원은 FAP, CEA, p95, BCMA, EpCAM, MSLN, MCSP, HER-1, HER-2, HER-3, CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, CD52F1t3, FOLR1, Trop-2, CA-12-5, HLA-DR, MUC-1 (뮤신), A33-항원, PSMA, PSCA, 트랜스페린-수용체, TNC (테나신) 및 CA-IX 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 키트.
- [0609] 63. 실시형태에서 52 내지 62 중 어느 하나의 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 섬유아세포 활성화 단백질 (FAP), 암배 항원 (CEA), 메소텔린 (MSLN), CD20, 플레이트 수용체 1 (FOLR1) 및 테나신 (TNC) 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원에 특이적 결합을 할 수 있는 키트.
- [0610] 64. 실시형태에서 52 내지 63 중 어느 하나의 키트로서, 약제로서 사용하기 위한 키트.
- [0611] 65. 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체 또는 실시형태 49 내지 51 중 어느 하나의 형질 도입된 T 세포로서, 약제로서 사용하기 위한 것이며, 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 투여되며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 항원 결합 수용체 또는 형질도입된 T 세포.
- [0612] 66. 실시형태에서 52 내지 63 중 어느 하나의 키트로서, 질환의 치료에서 사용하기 위한, 특히 악성 질환의 치료에서 사용하기 위한 키트.
- [0613] 67. 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체 또는 실시형태 49 내지 51 중 어느 하나의 형질 도입된 T 세포로서, 악성 질환의 치료에서 사용하기 위한 것이며, 치료는 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 항원 결합 수용체를 발현하는 형질도입된 T 세포의 투여를 포함하며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 항원 결합 수용체 또는 형질도입된 T 세포.
- [0614] 68. 실시형태 66 또는 67 에 따른 용도를 위한 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트로서, 상기 악성 질환은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암으로부터 선택되는 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트.
- [0615] 69. 실시형태 66 내지 68 에 따른 용도를 위한 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 종양 세포의 표면 상의 항원에 및/또는 인간 주요 조직적합 복합체 (MHC) 의 분자에 결합된 펩티드에 특이적 결합을 할 수 있으며, 특히 항원은 FAP, CEA, p95, BCMA, EpCAM, MSLN, MCSP, HER-1, HER-2, HER-3, CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, CD52F1t3, FOLR1, Trop-2, CA-12-5, HLA-DR, MUC-1 (뮤신), A33-항원, PSMA, PSCA, 트랜스페린-수용체, TNC (테나신) 및 CA-IX 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트.
- [0616] 70. 실시형태 66 내지 69 에 따른 용도를 위한 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트로서, 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체는 섬유아세포 활성화 단백질 (FAP), 암배 항원 (CEA), 메소텔린 (MSLN), CD20, 플레이트 수용체 1 (FOLR1) 및 테나신 (TNC) 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원에 특이적 결합을 할 수 있는 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트.
- [0617] 71. 실시형태 66 내지 70 중 어느 하나에 따른 용도를 위한 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트로서, 형질도입된 T 세포는 치료될 대상체로부터 단리된 세포에서 유래하는 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트.

- [0618] 72. 실시형태 66 내지 70 중 어느 하나에 따른 용도를 위한 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트로서, 형질도입된 T 세포는 치료될 대상체로부터 단리된 세포에서 유래하지 않는 항원 결합 수용체, 형질도입된 T 세포 또는 키트.
- [0619] 73. 대상체에서 질환을 치료하는 방법으로서, 대상체에게 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포를 투여하는 것 및 형질도입된 T 세포의 투여 전에, 그와 동시에 또는 그 후에 치료적 유효량의 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체를 투여하는 것을 포함하며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 치료 방법.
- [0620] 74. 실시형태 73 의 방법으로서, T 세포를 대상체로부터 단리하는 것 및 단리된 T 세포를 실시형태 44 의 폴리뉴클레오티드, 실시형태 46 의 조성물 또는 실시형태 48 의 벡터로 형질도입하여 형질도입된 T 세포를 생성하는 것을 부가적으로 포함하는 치료 방법.
- [0621] 75. 실시형태 74 의 방법으로서, T 세포는 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터 구성체로 또는 비-바이러스 벡터 구성체로 형질도입되는 치료 방법.
- [0622] 76. 실시형태 75 의 방법으로서, 비-바이러스 벡터 구성체는 슬리핑 뷰티 미니서클 벡터인 치료 방법.
- [0623] 77. 실시형태 73 내지 76 중 어느 하나의 방법으로서, 형질도입된 T 세포는 대상체에게 정맥내 주입에 의해 투여되는 치료 방법.
- [0624] 78. 실시형태 73 내지 77 중 어느 하나의 방법으로서, 형질도입된 T 세포는 대상체에게 투여에 앞서 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체와 접촉되는 치료 방법.
- [0625] 79. 실시형태 73 내지 78 중 어느 하나의 방법으로서, 형질도입된 T 세포는 대상체에게 투여에 앞서 적어도 하나의 사이토카인과, 바람직하게는 인터류킨-2 (IL-2), 인터류킨-7 (IL-7), 인터류킨-15 (IL-15), 및/또는 인터류킨-21, 또는 그의 변이체와 접촉되는 치료 방법.
- [0626] 80. 실시형태 73 내지 79 중 어느 하나의 방법으로서, 질환은 악성 질환인 치료 방법.
- [0627] 81. 실시형태 73 내지 79 중 어느 하나의 방법으로서, 질환은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암으로부터 선택되는 치료 방법.
- [0628] 82. 표적 세포의 용해를 유도하는 방법으로서, 표적 세포를 돌연변이된 Fc 도메인을 포함하는 항체의 존재 하에 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체를 발현할 수 있는 형질도입된 T 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 항원 결합 수용체는 돌연변이된 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 있으나 돌연변이되지 않은 부모 Fc 도메인에 특이적 결합을 할 수 없는 유도 방법.
- [0629] 83. 실시형태 82 의 방법으로서, 표적 세포는 암 세포인 유도 방법.
- [0630] 84. 실시형태 82 또는 83 중 어느 하나의 방법으로서, 표적 세포는 FAP, CEA, p95, BCMA, EpCAM, MSLN, MCSP, HER-1, HER-2, HER-3, CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, CD52F1t3, FOLR1, Trop-2, CA-12-5, HLA-DR, MUC-1 (뮤신), A33-항원, PSMA, PSCA, 트랜스페린-수용체, TNC (테나신) 및 CA-IX 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원을 발현하는 유도 방법.
- [0631] 85. 실시형태 82 내지 84 중 어느 하나의 방법으로서, 표적 세포는 섬유아세포 활성화 단백질 (FAP), 암배항원 (CEA), 메소텔린 (MSLN), CD20, 폴레이트 수용체 1 (FOLR1), 및 테나신 (TNC) 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항원을 발현하는 유도 방법.
- [0632] 86. 약제의 제조를 위한 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 항원 결합 수용체, 실시형태 44 및 45 중 어느 하나의 폴리뉴클레오티드 또는 실시형태 49 내지 51 중 어느 하나의 형질도입된 T 세포의 용도.
- [0633] 87. 실시형태 86 의 용도로서, 약제는 악성 질환의 치료를 위한 것인 용도.
- [0634] 88. 실시형태 86 의 용도로서, 약제는 질환의 치료를 위한 것인 용도.
- [0635] 89. 실시형태 87 의 용도로서, 상기 악성 질환은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 용도.
- [0636] 90. 실시형태 88 의 용도로서, 상기 질환은 상피, 내피 또는 중피 기원의 암 및 혈액의 암으로부터 선택되

는 것을 특징으로 하는 용도.

- [0637] 이들 및 다른 실시형태가 개시되며 본 발명의 설명 및 실시예에 포함된다. 본 발명에 따라 적용되는 항체, 방법, 용도 및 화합물 중 어느 하나에 관한 추가 문헌은 예를 들어 전자 장비를 사용하여 공공 도서관 및 데이터베이스에서 검색할 수 있다. 예를 들어, 인터넷에서 이용가능한 공용 데이터베이스 "Medline" 은 예를 들어 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/medline.html> 에서 이용할 수 있다. 추가의 데이터베이스 및 주소, 예컨대 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, <http://www.infobiogen.fr/>, http://www.fmi.ch/biology/research_tools.html, <http://www.tigr.org/> 는 당업자에게 알려져 있으며, 또한 <http://www.lycos.com> 을 사용해 얻을 수 있다.
- [0638] **실시예**
- [0639] 다음은 본 발명의 방법 및 조성물의 실시예이다. 상기 제공된 일반 설명을 고려하여 다양한 다른 실시형태가 실시될 수 있다는 것을 이해한다.
- [0640] **재조합 DNA 기술**
- [0641] 문헌 [Sambrook et al., Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989] 에 기술된 바와 같은 DNA를 조작하기 위한 표준 방법이 사용되었다. 분자 생물학적 시약은 제조사의 지시서에 따라 사용되었다. 인간 면역글로불린 경쇄 및 중쇄의 뉴클레오타이드 서열에 관한 일반 정보는 문헌 [Kabat, E.A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Ed., NIH Publication No 91-3242] 에 제공되어 있다.
- [0642] **DNA 시퀀싱**
- [0643] DNA 서열은 이중 가닥 시퀀싱을 통해 결정하였다.
- [0644] **유전자 합성**
- [0645] 바람직한 유전자 절편은 적절한 주형을 사용한 PCR을 통해 생성시키거나 또는 자동 유전자 합성을 통해 PCR 생성물 및 합성 올리고뉴클레오타이드로부터 Geneart AG (Regensburg, Germany) 에서 합성하였다. 단일 제한 엔도뉴클레아제 절단 부위가 축적된 유전자 절편은 표준 클로닝/시퀀싱 벡터에 클로닝하였다. 플라스미드 DNA 는 형질전환된 박테리아로부터 정제하여 UV 분광법으로 농도를 결정하였다. 서브클로닝된 유전자 단편의 DNA 서열은 DNA 시퀀싱을 통해 확증하였다. 유전자 절편은 개별 발현 벡터로 서브클로닝이 가능하도록 적합한 제한효소 부위를 갖도록 디자인되었다. 모든 구성체는 진핵생물 세포로 분비되도록 단백질을 표적화하는 리더 펩티드를 인코딩하는 5'-말단 DNA 서열을 갖도록 디자인되었다.
- [0646] **단백질 정제**
- [0647] 단백질은 표준 프로토콜을 참조하여 여과된 세포 배양 상청액으로부터 정제되었다. 간략하게, 항체를 단백질 A 세파로스 컬럼 (GE healthcare) 에 적용하였고 PBS 로 세척하였다. 항체의 용리는 pH 2.8과 이후 샘플의 즉각적인 중화에 의해 달성하였다. 응집된 단백질은 PBS 또는 20 mM 히스티딘, 150 mM NaCl pH 6.0 중에서 크기 배제 크로마토그래피 (Superdex 200, GE Healthcare) 를 통해 단량체 항체로부터 분리시켰다. 단량체 항체 분획을 모으고, 예를 들어 MILLIPORE Amicon Ultra (30 MWCO) 원심분리 농축기를 사용하여 (필요하면) 농축시켰고, 냉동시키고 -20°C 또는 -80°C 에서 저장하였다. 샘플의 일부분은 예를 들어 SDS-PAGE 및 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 를 통한 후속 단백질 분석 및 분석적 특성규명을 위해 제공되었다.
- [0648] **SDS-PAGE**
- [0649] NuPAGE® Pre-Cast 겔 시스템 (Invitrogen) 은 제조사의 지시서에 따라 사용되었다. 특히, 10% 또는 4-12% NuPAGE® Novex® Bis-TRIS Pre-Cast 겔 (pH 6.4) 및 NuPAGE® MES (환원성 겔, NuPAGE® 항산화제 러닝 완충액 첨가제 포함) 또는 MOPS (비환원성 겔) 러닝 완충액이 사용되었다.
- [0650] **분석적 크기 배제 크로마토그래피**
- [0651] 항체의 응집 및 올리고머 상태의 결정을 위해서 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 가 HPLC 크로마토그래피에 의해 수행되었다. 간략하게, 단백질 A 정제된 항체를 Agilent HPLC 1100 시스템 상에서 300 mM NaCl, 50 mM KH₂PO₄/K₂HPO₄, pH 7.5 중의 Tosoh TSKgel G3000SW 컬럼 또는 Dionex HPLC-시스템 상에서 2 x PBS 중의 Superdex 200 컬럼 (GE Healthcare) 에 적용되었다. 용리된 단백질은 UV 흡광도 및 피크 영역의 적분에 의

해 정량되었다. BioRad 겔 여과 표준물 151-1901가 표준물로서 제공되었다.

[0652] **항체 생산**

[0653] 국제 특허 출원 공보 No. W02012/130831A1 에 기재된 방법에 따르면 Pro329Gly, Leu234Ala 및 Leu235Ala 돌연변이를 불변 영역에 도입하여 Fc 감마 수용체에 대한 결합을 없앴다. 따라서, I253A, H310A 및 H435A ("AAA") 돌연변이를 불변 영역에 도입하여 FcRn 에 대한 결합을 없앴다. 폴리에틸렌이민을 사용하여 HEK293-EBNA 세포를 포유동물 발현 벡터로 동시트랜스펙션시킴으로써 각각의 항체를 생산했다. 세포를 1:1 비의 중쇄 및 경쇄에 관한 당해 발현 벡터로 형질감염시켰다.

[0654] **저카트 NFAT T 세포의 렌티바이러스 형질도입**

[0655] 렌티바이러스 벡터를 생성시키기 위해서, 항원 결합 수용체의 올바른 조립을 위한 개별 DNA 서열을 항상적으로 활성화되는 인간 사이토메갈로바이러스 최초기 프로모터 (CMV) 하에서 렌티바이러스 폴리뉴클레오티드 벡터에 인프레임으로 클로닝되었다. 레트로바이러스 벡터는 우드척 간염 바이러스 전사후 조절 엘리먼트 (WPPE), 중심 폴리푸린 트랙 (cPPT) 엘리먼트, pUC 복제 기원 및 박테리아의 증식 및 선별을 용이하게 하는 항생제 내성을 인코딩하는 유전자를 함유하였다.

[0656] 기능적 바이러스 입자를 생성시키기 위해서, Lipofectamine LTX™ 기반 형질감염은 60-70% 융합성 Hek293T 세포 (ATCC CRL3216) 및 CAR 함유 벡터를 비롯하여 pCMV-VSV-G:pRSV-REV:pCgpV 전달 벡터를 3:1:1:1 비율로 사용하여 수행하였다. 48시간 후에 상청액을 수집하고, 5 분 동안 250g 에서 원심분리하여 세포 찌꺼기를 제거하고 0.45 또는 0.22 μm 폴리에테르술폰 필터를 통해 여과시켰다. 농축된 바이러스 입자 (Lenti-x-Concentrator, Takara) 를 사용하여 저카트 NFAT 세포 (Signosis) 에 형질도입시켰다. 양성 형질도입 세포는 FACSARIA 분류기 (BD Bioscience) 를 사용하여 풀로서 또는 단일 클론으로서 분류되었다. 적절한 밀도로 세포 확장 후 저카트 NFAT T 세포를 실험에 사용하였다.

[0657] **실시예 1**

[0658] 여기에서 기재되는 것은 CD20 발현 SUDHDL4 종양 세포를 표적 세포로서 및 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 분류된 풀 (도 6A) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 풀 (도 6B) 을 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이다. P329G LALA 돌연변이를 포함하는 GA101 IgG 을 IgG 로서 사용했으며, 이는 한편으로는 종양 항원을 인지하고 다른 한편으로는 형질도입된 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 양성 대조군으로서 96 웰 플레이트 (Cellstar Greiner-bio-one, CAT-No. 655185) 를 10 μg/ml CD3 항체 (Biolegend® 로부터) 로 포스페이트 완충 식염수 (PBS) 에서 4°C 에서 밤새 또는 적어도 1h 동안 37°C 에서 코팅했다. CD3 코팅된 웰을 PBS 로 2 회 세정하고, 최종 세정 단계 후에 PBS 를 완전히 제거했다. 이펙터 세포 또는 저카트 NFAT 야생형 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1x10⁶ 생세포/ml 로 조정했다. 그러므로 세포 현탁액의 적당한 엘리퀴트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax (성장 배지) 에 재현탁시켰다. 관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터 세포에 대해 기재된 바와 유사하게, 성장 배지에서 1x10⁶ 생세포/ml 로 조정했다. 표적 세포 및 이펙터 세포를 5:1 또는 1:1 E:T 비 (총 110.000 세포/웰) 로 트리플리케이트 (triplicates) 로 96-웰 현탁 배양 플레이트 (Greiner-bio one) 에 플레이팅했다. 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, P329G LALA 돌연변이를 포함하는 GA101 의 계열 희석물을 2 ml 딥 웰 플레이트 (Axygen®) 를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 200 ul/웰의 최종 부피에서 1 μg/ml 내지 0.0001 μg/ml 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 50 μl 엘리퀴트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 96 웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다. 20h 인큐베이션 후에 각각의 웰의 내용물을 멀티채널 피펫을 사용하여 아래 위로 10 회 피펫팅에 의해 혼합했다. 100 μl 세포 현탁액을 새로운 백색 넓적 투명 바닥 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one) 로 옮기고, 100 ul ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가했다. 어둠 속에서 회전식 셰이커에서 300 rpm 및 RT 에서 15 min 인큐베이션 후에 Tecan® Spark10M 플레이트 리더 (reader), 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 발광을 측정했다.

[0659] 5:1 (동그란 점) 또는 1:1 (정사각형) 비로 20 h 동안 표적 및 이펙터 세포의 공동배양시 그래프는 P329G LALA 돌연변이를 포함하는 GA101 IgG 를 항체로서 사용할 때 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트

NFAT T 세포 뿐만 아니라 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 용량-의존적 활성화를 보여준다 (도 6 A 및 B, 흑색으로 표시됨). P329G LALA 돌연변이를 갖지 않는 GA101 IgG (도 6 A 및 B, 회색으로 표시됨) 를 사용한 경우에, 형질도입된 저카트 NFAT T 세포의 활성화가 검출가능하지 않았다.

각각의 점은, 각각 기술적 듀플리케이트로서 수행된, 생물학적 듀플리케이트 (duplicates) 의 평균 값을 나타낸다. 모든 값은 기준선 보정하여 표시되어 있다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.

[0660] 실시예 2

[0661] 여기에서 기재되는 것은 CD20 발현 SUDHDL4 (도 7C 및 7D) 또는 WSUDLCL2 (도 7A 및 7B) 종양 세포를 표적 세포로서 및 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT 세포의 단일 클론을 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이다. P329G LALA 돌연변이를 포함하는 GA101 IgG 을 IgG 로서 사용했으며, 이는 한편으로는 종양 항원을 인지하고 다른 한편으로는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다.

이펙터 세포 또는 저카트 NFAT 야생형 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 그러므로 세포 현탁액의 적당한 알리쿼트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax (성장 배지) 에 재현탁시켰다.

관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터

세포에 대해 기재된 바와 유사하게, 성장 배지에서 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 표적 세포 및 이펙터 세포를 10:1, 5:1 또는 1:1 E:T 비 (총 110,000 세포/웰) 로 트리플리케이트로 96-웰 현탁 배양 플레이트 (Greiner-bio one) 에 플레이팅했다. 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, P329G LALA 돌연변이를 포함하는 GA101 의 계열 희석물을 2 ml 딥 웰 플레이트 (Axygen®) 를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 200 ul/웰의 최종 부피에서 $1 \mu\text{g/ml}$ 내지 $0.0001 \mu\text{g/ml}$ 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 50 μl 알리쿼트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 96 웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다. 20h 인큐베이션

후에 각각의 웰의 내용물을 멀티채널 피펫을 사용하여 아래 위로 10 회 피펫팅에 의해 혼합했다. 100 μl 세포 현탁액을 새로운 백색 넓적 투명 바닥 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one) 로 옮기고, 100 ul ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가했다. 어둠 속에서 회전식 셰이커에서 300 rpm 및 RT 에서 15 min 인큐베이션 후에 Tecan® Spark10M 플레이트 리더, 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 발광을 측정했다.

10:1 (동그란 점), 5:1 (정사각형) 또는 1:1 (삼각형) 비로 20 h 동안 표적 및 이펙터 세포의 공동배양시 그래프는 P329G LALA 돌연변이를 포함하는 GA101 IgG 를 항체로서 사용할 때 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 용량-의존적 활성화를 보여준다 (도 7A-D, 흑색으로 표시됨). P329G LALA 돌연변이를 갖지 않는 GA101 IgG (도 7A-D, 회색으로 표시됨) 를 사용한 경우에, $1 \mu\text{g/ml}$ 의 최고 항체 농도에서 형질도입된 저카트 NFAT T 세포의 오직 적은 활성화가 검출가능했다. 각각의 점은 기술적 듀플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 모든 값은 기준선 보정하여 표시되어 있다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.

[0662] 10:1 (동그란 점), 5:1 (정사각형) 또는 1:1 (삼각형) 비로 20 h 동안 표적 및 이펙터 세포의 공동배양시 그래프는 P329G LALA 돌연변이를 포함하는 GA101 IgG 를 항체로서 사용할 때 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 용량-의존적 활성화를 보여준다 (도 7A-D, 흑색으로 표시됨). P329G LALA 돌연변이를 갖지 않는 GA101 IgG (도 7A-D, 회색으로 표시됨) 를 사용한 경우에, $1 \mu\text{g/ml}$ 의 최고 항체 농도에서 형질도입된 저카트 NFAT T 세포의 오직 적은 활성화가 검출가능했다. 각각의 점은 기술적 듀플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 모든 값은 기준선 보정하여 표시되어 있다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.

[0663] 실시예 3

[0664] 여기에서 기재되는 것은 부착성 FAP 발현 NIH/3T3-huFAP c1 19 종양 세포를 표적 세포로서 사용하여 수행되는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이다. 이펙터 세포로서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 8A) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 8C) 의 분류된 풀을 사용했다. P329G LALA 돌연변이를 포함하는 FAP 4B9 IgG 을 IgG 로서 사용했으며, 이는 한편으로는 종양 항원을 인지하고 다른 한편으로는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. P329G LALA 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다. 양성 대조군으로서 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one, CAT-No. 655185) 의 웰을 10 $\mu\text{g/ml}$ CD3 항체 (Biolegend® 로부터의) 로 포스페이트 완충 식염수 (PBS) 에서 적어도 1h 동안 37°C 에서 코팅했다. CD3 코팅된 웰을 PBS 로 2 회 세정하고, 최종 세정 단계 후에 PBS 를 완전히 제거했다. 부착성 NIH/3T3-huFAP c1 19 표적 세포를 PBS 로 1 회 세정하고, 트립신을 사용하여 탈착시켰다. 탈착된 세포를 DMEM+4.5g LD-글루코스+L-글루타민+25mM HEPES+10%FCS 및 1% Glutamax 에 재현탁시켰다. 이펙터 세포 또는 저카트 NFAT 야생형 T 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 그러므로 세포 현탁액의 적당한 알리쿼트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax (성장 배지) 에 재현탁시켰다. 관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활

력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터 세포에 대해 기재된 바와 유사하게, 성장 배지에서 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 표적 세포 및 이펙터 세포를 5:1 E:T 비 (총 110.000 세포/웰) 로 트리플리케이트로 96-웰 현탁 배양 플레이트 (Greiner-bio one) 에 플레이팅했다. 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, P329G LALA 돌연변이를 포함하는 항체의 계열 희석물을 2 ml 딥 웰 플레이트 (Axygen®) 를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 200 ul/웰의 최종 부피에서, 1 $\mu\text{g/ml}$ 내지 0.0001 $\mu\text{g/ml}$ 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 50 μl 앨리퀴트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 96-웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다.

20 h 인큐베이션 후에 각각의 웰의 내용물을 멀티채널 피펫을 사용하여 아래 위로 10 회 피펫팅에 의해 혼합했다. 100 μl 세포 현탁액을 새로운 백색 넓적 투명 바닥 96-웰 플레이트 (Greiner-bio-one) 로 옮기고, 100 ul ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가했다. 어둠 속에서 회전식 셰이커에서 300 rpm 및 RT 에서 15 min 인큐베이션 후에 Tecan® Spark10M 플레이트 리더, 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 발광을 측정했다.

[0665] 도 8 B 및 8 D 는 상이한 대조군 조건과 비교되는 둘 모두 표적 세포 및 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 FAP 4B9 항체와 공동배양된 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 8 D) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 8 B) 의 데이터를 나타낸다.

[0666] 1 $\mu\text{g/ml}$ FAP 4B9 P329G LALA 와 인큐베이션시, 저카트 NFAT T 세포 (도 8 B 및 8 D 흑색 삼각형) 뿐만 아니라 표적 세포 단독 (도 8 B 및 8 D 뒤집힌 흑색 삼각형) 은 임의의 검출가능한 발광 신호를 보이지 않는다.

[0667] 또한 저카트 NFAT T 세포는 표적 세포 및 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 FAP 4B9 항체 (도 8 B 및 도 8 D 흑색 다이아몬드) 와 공동배양시 발광 신호를 보이지 않는다. 반면에 표적 세포 및 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 FAP 4B9 항체와 공동배양된 저카트 NFAT 세포의 CD3 의존적 활성화는 검출가능한 발광 신호 (백색 동그란 점) 를 통해 그들의 기능성을 입증한다.

[0668] 표적 세포 및 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 FAP 4B9 항체와 공동배양된 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 8 B 백색 사각형) 의 CD3 의존적 활성화 및 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 8 D 백색 사각형으로 표시됨) 의 활성화는 최고 발광 신호를 보여주며, 그 이유는 그것이 CAR 매개 활성화를 CD3 매개 활성화와 조합하기 때문이다. CD3 매개 발광 신호는 또한 CAR 가 표적 세포 및 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 DP47/vk3 항체 (도 8 B 및 도 8 D 뒤집힌 백색 삼각형) 와 인큐베이션될 때 가시적이다. 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 모든 값은 기준선 보정하여 표시되어 있다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.

[0669] **실시예 4**

[0670] 여기에서 기재되는 것은 부착성 CEA 발현 MKN45 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이다. 이펙터 세포로서 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 9 A) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 9 C) 의 분류된 풀을 사용했다. P329G LALA 돌연변이를 포함하는, CEA A5B7 IgG 또는 CEA T84 LCHA IgG 을 사용했다. 추가로 P329G LALA 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다.

[0671] 양성 대조군으로서 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one, CAT-No. 655185) 의 웰을 10 $\mu\text{g/ml}$ CD3 항체 (Biolegend® 로부터의) 로 포스페이팅 완충 식염수 (PBS) 에서 1h 동안 37°C 에서 코팅했다. CD3 코팅된 웰을 PBS 로 2 회 세정하고, 최종 세정 단계 후에, PBS 를 완전히 제거했다.

[0672] 부착성 MKN45 표적 세포를 PBS 로 1 회 세정하고, 트립신을 사용하여 탈착시켰다. 탈착된 세포를 DMEM+4.5g LD-글루코스+L-글루타민 +25mM HEPES+10%FCS 및 1% Glutamax 에 재현탁시켰다.

[0673] 이펙터 세포 또는 저카트 NFAT 야생형 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 그러므로 세포 현탁액의 적당한 앨리퀴트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax (성장 배지) 에 재현탁시켰다.

[0674] 관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터 세포에 대해 기재된 바와 유사하게, RPMI-1640 + 10%FCS + 1% Glutamax 에서 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다.

[0675] 표적 세포 및 이펙터 세포를 5:1 E:T 비 (총 110.000 세포/웰) 로 트리플리케이트로 96-웰 현탁 배양 플레이트 (Greiner-bio one) 에 플레이팅했다.

- [0676] 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, P329G LALA 돌연변이를 포함하는 항체의 계열 희석물을 2 ml 딥 웰 플레이트 (Axygen®) 를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 200 ul/웰의 최종 부피에서 1 µg/ml 내지 0.0001 µg/ml 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 50 µl 앨리퀀트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 96 웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다.
- [0677] 20 h 인큐베이션 후에 각각의 웰의 내용물을 멀티채널 피펫을 사용하여 아래 위로 10 회 피펫팅에 의해 혼합했다. 100 µl 세포 현탁액을 새로운 백색 넓적 투명 바닥 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one) 로 옮기고, 100 ul ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가했다. 어둠 속에서 회전식 셰이커에서 300 rpm 및 RT 에서 15 min 인큐베이션 후에 Tecan® Spark10M 플레이트 리더, 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 발광을 측정했다.
- [0678] 20 h 동안 5:1 비로 표적 및 이펙터 세포의 공동배양시 (도 9 A 및 C, 동그란 점) 그래프는 P329G LALA 돌연변이를 포함하는 CEA A5B7 를 항체로서 사용했을 때 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 뿐만 아니라 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 용량-의존적 활성화를 보여준다 (도 9 A 및 C 회색 동그란 점). P329G LALA 돌연변이를 포함하는 CEA T84 LCHA 의 사용은 오직 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포에 대해서만 용량 의존적 활성화를 보여줬다 (도 9 A 흑색 동그란 점). 반면에, P329G LALA 돌연변이를 포함하는 항체를 사용할 때 오직 1 µg/ml 의 최고 항체 농도에서 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 활성화가 검출 가능했다.
- [0679] P329G LALA 돌연변이를 포함하는 대조군 항체 DP47/vk3 IgG (도 9 A 및 C, 흑색 삼각형) 를 사용한 경우에, 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 저카트 NFAT T 세포 또는 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 활성화가 검출가능하지 않았다. 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.
- [0680] 도 9 B 및 9 D 는 상이한 대조군 조건과 비교되는 둘 모두 표적 세포 및 1 µg/ml 의 CEA T8 LCHA P329G LALA 또는 CEA A5B7 P329G LALA 항체와 공동배양된 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 9 B) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 9 D) 의 데이터를 나타낸다.
- [0681] 1 µg/ml CEA T8 LCHA P329G LALA 와 인큐베이션시, 저카트 NFAT CAR T 세포 단독 (도 9 B 및 9 D 흑색 다이아몬드) 뿐만 아니라 표적 세포 단독 (도 9 B 및 9 D 백색 동그라미) 은 임의의 검출가능한 발광 신호를 보이지 않는다.
- [0682] 또한 저카트 NFAT T 세포는 표적 세포 및 1 µg/ml IgG (도 9 B 및 도 9 D 백색 정사각형 및 백색 다이아몬드) 와 공동배양시 검출가능한 발광 신호를 보이지 않는다. 반면에 표적 세포 및 1 µg/ml IgG 와 공동배양된 저카트 NFAT T 세포의 CD3 의존적 활성화는 검출가능한 발광 신호를 통해 그들의 기능을 입증한다 (도 9 B 및 D 회색 X 표).
- [0683] 표적 세포 및 1 µg/ml IgG 와 공동배양된 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 저카트 NFAT T 세포 (도 9 B 흑색 별모양 및 회색 별모양) 의 CD3 의존적 활성화 및 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 NFAT T 세포 (도 9 D 흑색 별모양 및 회색 별모양) 의 활성화는 최고 발광 신호를 보여주며, 그 이유는 CAR 매개 활성화 및 CD3 매개 활성화가 조합되기 때문이다. CD3 매개 발광 신호는 또한 CAR 가 표적 세포 및 1 µg/ml 의 DP47/vk3 항체 (도 9 B 및 도 9 D, 회색 플러스부호) 와 인큐베이션될 때 가시적이다. 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.
- [0684] **실시예 5**
- [0685] 여기에서 기재되는 것은 부착성 CEA 발현 MKN45 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어레이이다. 이펙터 세포로서, 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 Jukat NFAT T 세포 (도 10 C) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 10 A) 의 분류된 풀을 사용했다. 둘 모두 P329G LALA 돌연변이를 포함하는 CH1A1A 98 99 또는 CEA hMN14 IgG 를 사용했다. 추가로 P329G LALA 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다.
- [0686] 양성 대조군으로서 96-웰 플레이트 (Greiner-bio-one, CAT-No. 655185) 의 웰을 10 µg/ml CD3 항체 (Biolegend

⑧ 로부터의) 로 포스페이트 완충 식염수 (PBS) 에서 1h 동안 37°C 에서 코팅했다. CD3 코팅된 웰을 PBS 로 2 회 세정하고, 최종 세정 단계 후에, PBS 를 완전히 제거했다.

[0687] 부착성 MKN45 표적 세포를 PBS 로 1 회 세정하고, 트립신을 사용하여 탈착시켰다. 탈착된 세포를 DMEM+4.5g LD-글루코스+L-글루타민 +25mM HEPES+10%FCS 및 1% Glutamax 에 재현탁시켰다.

[0688] 이펙터 세포 또는 저카트 NFAT 야생형 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 그러므로 세포 현탁액의 적당한 엘리퀀트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax (성장 배지) 에 재현탁시켰다.

[0689] 관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터 세포에 대해 기재된 바와 유사하게, RPMI-1640 + 10%FCS + 1% Glutamax 에서 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다.

[0690] 표적 세포 및 이펙터 세포를 5:1 E:T 비 (총 110.000 세포/웰) 로 트리플리케이트로 96-웰 현탁 배양 플레이트 (Greiner-bio one) 에 플레이팅했다.

[0691] 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, P329G LALA 돌연변이를 포함하는 항체의 계열 희석물을 2 ml 딥 웰 플레이트 (Axygen®) 를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 200 ul/웰의 최종 부피에서 1 $\mu\text{g/ml}$ 내지 0.0001 $\mu\text{g/ml}$ 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 50 μl 엘리퀀트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 96 웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다.

[0692] 20 h 인큐베이션 후에 각각의 웰의 내용물을 멀티채널 피펫을 사용하여 아래 위로 10 회 피펫팅에 의해 혼합했다. 100 μl 세포 현탁액을 새로운 백색 넓적 투명 바닥 96-웰 플레이트 (Greiner-bio-one) 로 옮기고, 100 ul ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가했다. 어둠 속에서 회전식 셰이커에서 300 rpm 및 RT 에서 15 min 인큐베이션 후에 Tecan® Spark10M 플레이트 리더, 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 발광을 측정했다.

[0693] 5:1 비로 표적 세포 및 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 20 h 공동배양 시 (도 10 A 흑색 및 회색 동그란 점), CEA hMN14 항체 또는 CH1A1A 98 99 항체를 항체로서 사용했을 때 (도 9 A 및 B, 회색 동그란 점), 활성화가 검출가능하지 않다. 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포는 0.1 및 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 CEA hMN14 항체 또는 CH1A1A 98 99 항체 (도 10 C 흑색 및 회색 동그란 점) 둘 모두에서 적은 활성화를 보인다.

[0694] P329G LALA 돌연변이를 포함하는 대조군 항체 DP47/vk3 IgG (도 10 A 및 C, 흑색 삼각형) 를 사용한 경우에, 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 활성화도 검출가능하지 않았고, 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 활성화도 검출가능하지 않았다. 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 모든 값은 기준선 보정하여 표시되어 있다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.

[0695] 도 10 B 및 10 D 는 상이한 대조군 조건과 비교되는 둘 모두 표적 세포 및 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 CEA hMN14 항체 또는 CH1A1A 98 99 항체와 공동배양된 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 D) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 NFAT T 세포 (도 9D) 의 데이터를 나타낸다.

[0696] CD3 를 활성화 자극으로서 사용한 경우를 제외하고는, 모든 수행된 대조군 실험은 임의의 검출가능한 발광 신호를 보이지 않는다. 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.

[0697] **실시예 6**

[0698] 여기에서 기재되는 것은 부착성 TNC 발현 CT26TNC c1 19 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이다. 이펙터 세포로서, 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 11 C) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 11 A) 의 분류된 풀을 사용했다. P329G LALA 돌연변이를 포함하는 TNCA2B10 을 IgG 로서 사용했다. 추가로 P329G LALA 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다.

[0699] 양성 대조군으로서 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one, CAT-No. 655185) 의 웰을 10 $\mu\text{g/ml}$ CD3 항체 (Biolegend

⑧ 로부터의) 로 포스페이스트 완충 식염수 (PBS) 에서 1h 동안 37°C 에서 코팅했다. CD3 코팅된 웰을 PBS 로 2 회 세정하고, 최종 세정 단계 후에, PBS 를 완전히 제거했다.

[0700] 부착성 CT26TNC c1 19 표적 세포를 PBS 로 1 회 세정하고, 트립신을 사용하여 탈착시켰다. 탈착된 세포를 RPMI-1630+10%FCS 및 1% Glutamax+ 15 µg/ml 퓨로마이신에 재현탁시켰다.

[0701] 이펙터 세포 또는 저카트 NFAT 야생형 T 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 그러므로 세포 현탁액의 적당한 엘리퀼트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax (성장 배지) 에 재현탁시켰다.

[0702] 관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터 세포에 대해 기재된 바와 유사하게, RPMI-1640 + 10%FCS + 1% Glutamax 에서 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다.

[0703] 표적 세포 및 이펙터 세포를 5:1 E:T 비 (총 110.000 세포/웰) 로 트리플리케이트로 96-웰 현탁 배양 플레이트 (Greiner-bio one) 에 플레이팅했다.

[0704] 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, P329G LALA 돌연변이를 포함하는 항체의 계열 희석물을 2 ml 덩 플레이트 (Axygen®) 를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 200 ul/웰의 최종 부피에서 1 µg/ml 내지 0.0001 µg/ml 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 50 µl 엘리퀼트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 96 웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다.

[0705] 20 h 인큐베이션 후에 각각의 웰의 내용물을 멀티채널 피펫을 사용하여 아래 위로 10 회 피펫팅에 의해 혼합했다. 100 µl 세포 현탁액을 새로운 백색 넓적 투명 바닥 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one) 로 옮기고, 100 ul ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가했다. 어둠 속에서 회전식 셰이커에서 300 rpm 및 RT 에서 15 min 인큐베이션 후에 Tecan® Spark10M 플레이트 리더, 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 발광을 측정했다.

[0706] 20 h 동안 5:1 비로 표적 및 이펙터 세포의 공동배양시 (도 11 A 및 C 흑색 동그란 점) 그래프는 P329G LALA 돌연변이를 포함하는 TNC A2B10 을 항체로서 사용했을 때 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 뿐만 아니라 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 용량-의존적 활성화를 보여준다. P329G LALA 돌연변이를 포함하는 대조군 항체 DP47/vk3 IgG (도 11 A 및 C 흑색 동그란 점) 를 사용한 경우에, 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 활성화도 검출가능하지 않았고, 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 활성화도 검출가능하지 않았다. 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 모든 값은 기준선 보정하여 표시되어 있다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.

[0707] 도 11 B 및 11 D 는 상이한 대조군 조건과 비교되는 둘 모두 표적 세포 및 1 µg/ml 의 TNC A2B10 와 공동배양된 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 11 D) 또는 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 11 B) 의 데이터를 나타낸다.

[0708] 저카트 NFAT T 세포는 표적 세포 및 1 µg/ml IgG 와 공동배양시 임의의 검출가능한 발광 신호를 보이지 않는다 (도 11 B 및 도 11 D 백색 삼각형). 반면에 표적 세포 및 1 µg/ml IgG 와 공동배양된 저카트 NFAT 세포의 CD3 의존적 활성화는 검출가능한 발광 신호를 통해 그들의 기능성을 입증한다 (도 11 B 및 도 11 D 백색 정사각형).

[0709] 표적 세포 및 1 µg/ml IgG 와 공동배양된 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 11 B 백색 동그라미) 의 CD3 의존적 활성화는 및 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 11 D 백색 동그라미) 의 활성화는 최고 발광 신호를 보여주며, 그 이유는 CAR 매개 활성화 및 CD3 매개 활성화가 조합되기 때문이다. CD3 매개 발광 신호는 또한 CAR 가 표적 세포 및 1 µg/ml 의 DP47/vk3 항체와 인큐베이션될 때 가시적이다 (도 11 B 및 도 11 D, 흑색 다이아몬드). 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.

[0710] 실시예 7

[0711] 여기에서 기재되는 것은 부착성 TNC 발현 CT26TNC c1 19 종양 세포를 표적 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이다. 이펙터 세포로서, 항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포

의 분류된 풀 (도 12 A) 을 사용했다. P329G LALA 돌연변이를 포함하는 TNCA2B10 을 IgG 로서 사용했다. 추가로 P329G LALA 돌연변이를 보유하는 IgG DP47/vk3 을 동형 대조군으로서 포함시켰다.

- [0712] 양성 대조군으로서 96-웰 플레이트 (Greiner-bio-one, CAT-No. 655185) 의 웰을 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ CD3 항체 (Biolegend ® 로부터의) 로 포스페이스트 완충 식염수 (PBS) 에서 1h 동안 37°C 에서 코팅했다. CD3 코팅된 웰을 PBS 로 2 회 세정하고, 최종 세정 단계 후에, PBS 를 완전히 제거했다.
- [0713] 부착성 CT26TNC c1 19 표적 세포를 PBS 로 1 회 세정하고, 트립신을 사용하여 탈착시켰다. 탈착된 세포를 RPMI-1630+10%FCS 및 1% Glutamax+ 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 퓨로마이신에 재현탁시켰다.
- [0714] 이펙터 세포 또는 저카트 NFAT 야생형 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 그러므로 세포 현탁액의 적당한 엘리퀴트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax (성장 배지) 에 재현탁시켰다.
- [0715] 관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터 세포에 대해 기재된 바와 유사하게, RPMI-1640 + 10%FCS + 1% Glutamax 에서 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다.
- [0716] 표적 세포 및 이펙터 세포를 5:1 E:T 비 (총 110.000 세포/웰) 로 트리플리케이트로 96-웰 현탁 배양 플레이트 (Greiner-bio one) 에 플레이팅했다.
- [0717] 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, P329G LALA 돌연변이를 포함하는 항체의 계열 희석물을 2 ml 덩 플레이트 (Axygen®) 를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 200 ul/웰의 최종 부피에서 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 내지 0.0001 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 50 μl 엘리퀴트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 96 웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다.
- [0718] 20 h 인큐베이션 후에 각각의 웰의 내용물을 멀티채널 피펫을 사용하여 아래 위로 10 회 피펫팅에 의해 혼합했다. 100 μl 세포 현탁액을 새로운 백색 넓적 투명 바닥 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one) 로 옮기고, 100 ul ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가했다. 어둠 속에서 회전식 셰이커에서 300 rpm 및 RT 에서 15 min 인큐베이션 후에 Tecan® Spark10M 플레이트 리더, 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 발광을 측정했다.
- [0719] 20 h 동안 5:1 비로 표적 및 이펙터 세포의 공동배양시 (도 12 A 흑색 동그란 점) 그래프는 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 P329G LALA 돌연변이를 포함하는 TNC A2B10 로 시작하는 항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 용량-의존적 활성화를 보여준다. P329G LALA 돌연변이를 포함하는 대조군 항체 DP47/vk3 IgG (도 12 A 및 C 흑색 동그란 점) 를 사용한 경우에, 항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 활성도가 검출가능하지 않았다. 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 모든 값은 기준선 보정하여 표시되어 있다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.
- [0720] 도 12 B 는 상이한 대조군 조건과 비교되는 표적 세포 및 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 TNC A2B10 항체와 공동배양된 항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포의 데이터를 나타낸다.
- [0721] 표적 세포와 함께 그러나 항체의 부재 하에 인큐베이션된 항-P329G-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 발현 저카트 NFAT T 세포 (도 12 B 흑색 정사각형) 뿐만 아니라 표적 세포 및 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 TNC A2B10 항체와 함께 인큐베이션된 저카트 NFAT 세포 (도 12 B 백색 동그란 점) 는 검출가능한 발광 신호를 보이지 않는다. 반면에 CD3 코팅된 웰에 플레이팅된 표적 세포 및 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 TNC A2B10 와 공동배양된 저카트 NFAT 세포는 분명한 발광 신호를 보인다.
- [0722] 추가로, CD3 코팅된 웰에서, 표적 세포 및 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 TNC A2B10 또는 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ DP47/vk3 항체와 인큐베이션된 항-P329G-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD Fab 발현 저카트 NFAT T 세포는 높은 발광 신호를 보인다. 각각의 점은 기술적 트리플리케이트의 평균 값을 나타낸다. 표준 편차는 에러 바에 의해 표시된다.
- [0723] **실시예 8**
- [0724] 여기에서 기재되는 것은 CD20 발현 SUDHDL4 종양 세포를 표적 세포로서 및 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD (도 13A) 또는 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD (도 13B) 발현 저카트 NFAT 세포의 풀을 이펙터 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어레이이다. P329G LALA, D265A P329G 돌연변이, LALA

돌연변이 단독을 포함하는 또는 돌연변이를 전혀 포함하지 않는 GA101 IgG 를 IgG 로서 사용했으며, 이는 한편으로는 종양 항원을 인지하고 다른 한편으로는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 이펙터 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 세포 현탁액의 적당한 앨리퀴트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax 에 재현탁시켰다. 관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터 세포에 대해 기재된 바와 유사하게, 성장 배지에서 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 표적 세포 및 이펙터 세포를 5:1 E:T 비 (총 110.000 세포/웰) 로 트리플리케이트로 96-웰 현탁 배양 플레이트 (Greiner-bio one) 에 플레이팅했다. 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, 상이한 항체의 계열 희석물을 2 ml 딥 웰 플레이트 (Axygen®) 를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 200 μ l/웰 의 최종 부피에서 1 μ g/ml 내지 10 pg/ml 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 50 μ l 앨리퀴트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 96 웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다. 20h 인큐베이션 후에 각각의 웰의 내용물을 멀티채널 피펫을 사용하여 아래 위로 10 회 피펫팅에 의해 혼합했다. 100 μ l 세포 현탁액을 새로운 백색 넓적 투명 바닥 96 웰 플레이트 (Greiner-bio-one) 로 옮기고, 100 μ l ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가했다. 어둠 속에서 회전식 셰이커에서 300 rpm 및 RT 에서 15 min 인큐베이션 후에 Tecan® Spark10M 플레이트 리더, 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 발광을 측정했다. 그래프는 P329G 돌연변이 또는 P329G 및 LALA 돌연변이 (그러나 LALA 돌연변이 단독은 아님) 를 보유하는 항체를 사용할 때에만 표적 세포의 용량 의존적 활성화를 보인다. 추가로, GA101 야생형 항체를 사용하는 경우에, 이펙터 세포의 활성화는 검출가능하지 않다.

[0725] 실시예 9

[0726] 여기에서 기재되는 것은 CD20 발현 SUDHDL4 종양 세포를 표적 세포로서 및 항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD (도 14A) 또는 항-P329G-ds-Fab-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD (도 14B) 발현 저카트 NFAT 세포의 풀을 이펙터 세포로서 사용하는 저카트 NFAT T 세포 리포터 어세이다. P329G LALA, P329G 돌연변이 단독, LALA 돌연변이 단독을 포함하는 또는 돌연변이를 전혀 포함하지 않는 GA101 IgG 을 IgG 로서 사용했으며, 이는 한편으로는 종양 항원을 인지하고 다른 한편으로는 저카트 NFAT T 세포에 의해 인지된다. 이펙터 세포를 계수하고, Cedex HiRes 를 사용하여 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 세포 현탁액의 적당한 앨리퀴트를 210g 에서 5 min 동안 실온 (RT) 에서 펠렛화하고, 신선한 RPMI-160+10% FCS+1% Glutamax 에 재현탁시켰다. 관심의 항원을 발현하는 표적 세포를 계수하고, 또한 그들의 생활력에 대해 확인했다. 세포 수를, 이펙터 세포에 대해 기재된 바와 유사하게, 성장 배지에서 1×10^6 생세포/ml 로 조정했다. 표적 세포 및 이펙터 세포를 5:1 E:T 비 (총 110.000 세포/웰) 로 트리플리케이트로 384-웰 플레이트에 플레이팅했다. 다음 단계로서, 관심의 항원을 표적화하는, 상이한 항체의 계열 희석물을 96 웰 플레이트를 사용하여 성장 배지에서 제조했다. 30 μ l/웰 의 최종 부피에서 1 μ g/ml 내지 10 pg/ml 범위의 최종 농도를 얻기 위해서, 상이한 희석물의 10 μ l 앨리퀴트를 각각의 웰에 피펫팅했다. 384 웰 플레이트를 2 min 동안 190g 및 RT 에서 원심분리했다. Parafilm® 으로 밀봉된, 플레이트를 37°C 및 5% CO₂ 에서 습한 분위기에서 인큐베이션했다. 20h 인큐베이션 후에, 6 μ l 의 ONE-Glo™ Luciferase Assay (Promega) 를 첨가하고, Tecan® Spark10M 플레이트 리더, 검출 시간으로서 1 sec/웰 을 사용하여 판독을 즉시 수행했다. 그래프는 P329G 돌연변이 또는 P329G 및 LALA 돌연변이 (그러나 LALA 돌연변이 단독은 아님) 을 보유하는 항체를 사용할 때에만 표적 세포의 용량 의존적 활성화를 보여준다. 추가로, GA101 야생형 항체를 사용하는 경우에는 이펙터 세포의 활성화가 검출가능하지 않다.

[0727] 예시적 서열

표 2: 항-P329G-ds-scFv 아미노산 서열:

구성체	아미노산 서열	SEQ ID NO
항-P329G CDR H1 카뱃	RYWMN	1
항-P329G CDR H2 카뱃	EITPDSSTINYTPSLKD	2
항-P329G CDR H3 카뱃	PYDYGAWFAS	3
항-P329G CDR L1 카뱃	RSSTGAVTTSNYAN	4
항-P329G CDR L2 카뱃	GTNKRAP	5
항-P329G CDR L3 카뱃	ALWYSNHVV	6
항-P329G-ds-scFv-CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 융합체 pETR17096	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYSRYWMNWV RQAPGKCLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN TLYLQMIKVRSEDTALYYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAVVVQESALT TSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGL IGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALITITGAQTEDEAIY FCALWYSNHVWFVCGTKLTVLGGGGSFWLVVVGGV LACYSLLVTAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPG PTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLY QGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	7
항-P329G-ds VH	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYSRYWMNWV RQAPGKCLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN TLYLQMIKVRSEDTALYYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSA	8
항-P329G-ds VL	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTI TGAQTEDEAIYFCALWYSNHVWFVCGTKLTVL	9
항-P329G-ds-scFv	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYSRYWMNWV RQAPGKCLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN TLYLQMIKVRSEDTALYYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAVVVQESALT TSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGL IGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALITITGAQTEDEAIY FCALWYSNHVWFVCGTKLTVL	10
CD28ATD	FWVLVVVGGVLACYSLLVTAFIIFWV	11
CD28CSD	RSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRS	12
CD3zSSD	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDK RRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	13
CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD	FWVLVVVGGVLACYSLLVTAFIIFWVRSKRSLHSD YMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	14
eGFP	VSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHKFSVSGEGEGDAT YGKLTLLKFICTTGKLPVPWPTLVTTLYGVQCFSRYPD HMKQHDFFKSAMPEGVVQERTIFFKDDGNYKTRAEVK FEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNLGHKLEYNYNSHNVYI MADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIG DGPVLLPDNHYLSTQSALSKDPNEKRDMVLEFVTA	15

[0728]

	AGITLGMDELYK	
(G4S)4 링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	16
G4S 링커	GGGGS	17
T2A 링커	GEGRGSLTTCGDVEENPGP	18

[0729]

표 3: 항-P329G-ds- scFv DNA 서열:

구성체	DNA 서열	SEQ ID NO
항-P329G-ds-scFv- CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD 융합체 pETR17096	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAA CAGTACCCGGTGTGCATTCGAGGGTGAAGCTGCTGG AGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGAGCC TGAAGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCGACTTCA GCAGGTACTGGATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCCCG GCAAGTGCTGGAGTGGATCGGCGAGATCACCCCG ACAGCAGCACCATCAACTACACCCAGCCTGAAGG ACAAGTTTCATCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACA CCCTGTACCTGCAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGG ACACCGCCCTGTAATACTGCGTGAGGCCCTACGACT ACGGCGCCTGGTTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACCGTGAGCGCCGAGGGGGCGGAAGTGGTG GCGGGGAAGCGGCGGGGTGGCAGCGGAGGGGGC GGATCTCAGCCGTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTG ACCACAGCCCCGGGAGACCGTGACCTGACCTGC AGGAGCAGCACCGGCGCGTGACCCAGCAACTAC GCCAACTGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACTGTTC ACCGCCTGATCGGCGCACCAACAAGGGGCCCC GGCGTGCCCGCCAGGTTTCAGCGGAGCCTGATCGGC GACAAAGCCCGCCTGACCATCACCGCGCCAGACC GAGGACGAGGCCATCTACTTTCGCGCCCTGTGGTAC AGCAACCACTGGGTGTTTCGGCTGTGGCACCAAGCTG ACCGTGCTGGGAGGGGGCGGATCCTTTCGGGTGCTG GTGGTGGTGGGCGGCTGGCCTGTACAGCCTG CTGGTGACCGTGCCCTTCATCATCTTCTGGGTGAGGA GCAAGAGGAGCAGGCTGTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCCAGGAGGCCCGCCCCACCGGAAGC ACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGACTTCGCCG CCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCG ACGCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGT ATAACGAGCTGAACCTGGGCAGGAGGAGGAGTAC GACGTGCTGGACAAGAGGAGGGGCAGGACCCCGA GATGGGCGGCAAGCCAGGAGGAAGAACCAGGAGG AGGGCCTGTATAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGG CCGAGGCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAG AGGAGGAGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCA GGCCTGAGCACCGCCACCAAGGACACCTACGACGC CTGCACATGCAGGCCCTGCCCCAGG	19
항-P329G-ds VH	GAGGTGAAGCTGCTGGAGAGCGGCGGCGCCTGGTG CAGCCCGGCGGAGCCTGAAGCTGAGCTGCGCCGCC AGCGGCTTCGACTTCAGCAGGTAAGTGAAGTGG GTGAGGAGGCCCCCGCAAGTGTCTGGAGTGGATC GGCGAGATCACCCCGACAGCAGCACCATCAACTAC ACCCAGCCTGAAGGACAAGTTCATCATCAGCAGG GACAACGCCAAGAACCCTGTACCTGCAGATGATC AAGGTGAGGAGCGAGGACACCGCCCTGACTACTGC GTGAGGCCCTACGACTACGGCGCCTGGTTCGCCAGC TGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCC	20
항-P329G-ds VL	CAGCCCGTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTGACCA AGCCCCGGGAGACCGTGACCCCTGACCTGCAGGAGC	21

[0730]

	AGCACCGGCGCCGTGACCACCAGCAACTACGCCAAC TGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACCTGTTACCGGC CTGATCGGCGGCACCAACAAGAGGGCCCCGGCGTG CCCGCCAGGTTACGCGGCAGCCTGATCGGCGACAAG GCCGCCCTGACCATCACCGCGCCAGACCGAGGAC GAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGTGGTACAGCAACC ACTGGGTGTTGGCTGTGGCACCAGCTGACCGTGC TG	
항-P329G-ds-scFv	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAA CAGCTACCGGTGTGCATTCCGAGGTGAAGCTGCTGG AGAGCGGCGCGCCCTGGTGCAGCCCGCGGCAGCC TGAAGCTGAGCTGCGCCGCCAGGGCTTCGACTTCA GCAGGTACTGGATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCCCG GCAAGTGTCTGGAGTGGATCGGCGAGATCACCCCG ACAGCAGCACCATCAACTACACCCCGAGCCTGAAGG ACAAGTTCATCATCAGCAGGACAACGCCAAGAACA CCCTGTACTGCAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGG ACACCGCCCTGTACTACTGCGTGAGGCCCTACGACT ACGGCGCCTGGTTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACCGTGAGCGCCGGAGGGGGCGGAAGTGGTG GCGGGGAAGCGGCGGGGGTGGCAGCGGAGGGGGC GGATCTCAGCCGTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTG ACCACCAGCCCCGGGAGACCGTGACCTGACCTGC AGGAGCAGCACCGGCGCCGTGACCACCAGCAACTAC GCCAACTGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACCTGTT ACCGGCCTGATCGGCGGCACCAACAAGAGGGCCCC GGCGTGCCCGCCAGGTTACGCGGCAGCCTGATCGGC GACAAGGCCCGCCTGACCATCACCGGCGCCAGACC GAGGACGAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGTGGTAC AGCAACCACTGGGTGTTGGCTGTGGCACCAGCTG ACCGTGC	22
IRES EV71, 내부 리보솜 진입부	CCCGAAGTAACTAGAAAGCTGTAATCAACGATCAA TAGCAGGTGTGGCACACCAGTCATACCTTGATCAAG CACTTCTGTTTCCCGGACTGAGTATCAATAGGCTGC TCGCGCGGCTGAAGGAGAAAACGTTCTGTTACCCGAC CAACTACTTCGAGAAGCTTAGTACCACCATGAACGA GGCAGGGTGTTCGCTCAGCACAAACCCAGTGTAGA TCAGGCTGATGAGTCACTGAACCCCATGGGCGAC CATGGCAGTGGCTGCGTTGGCGCCCTGCCATGGAG AAATCCATGGGACGCTCTAATTCTGACATGGTGTGA AGTGCCTATTGAGCTAACTGGTAGTCTCCGGCCCT GATTGCGGCTAATCCTAACTGCGGAGCACATGCTCA CAAACCAAGTGGGTGGTGTGTCGTAACGGGCAACTCT GCAGCGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCT TTTATTCTATATTGGCTGCTTATGGTGACAATCAAA AAGTTGTTACCATATAGCTATTGGATTGGCCATCCGG TGTGCAACAGGGCAACTGTTTACCTATTTATTGGTTT TGTACCATTATCACTGAAGTCTGTGATCACTCTCAA TTCATTTTGACCCTCAACACAATCAAAAC	23
CD28ATD	TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGTGGAGTCTGGCTT GCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTT CTGGGTG	24
CD28CSD	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTAC ATGAACATGACTCCCCGCGCCCGGGCCACCCGC AAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTC GCAGCCTATCGCTCC	25
CD3zSSD	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGG TACCAGCAGGGCCAGAACAGCTCTATAACGAGCTC AATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTGGAC AAGAGACGTGGCCGGACCTGAGATGGGGGAAA GCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACA	26

[0731]

	ATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACA GTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGGGC AAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACA GCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAG GCCCTGCCCCCTCGC	
CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD	TTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGGCGGTGCTGGCCT GCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTTCATCATCTT CTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCACA GCGACTACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCC CCACCAGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCCCCA GGGACTTCGCCGCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCA GCAGGAGCGCCGACGCCCCGCTACCAGCAGGGCC AGAACAGCTGTATAACGAGCTGAACCTGGGCAGGA GGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGGGC AGGGACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCAGGAGGAA GAACCCCAAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTGCAGAA GGACAAGATGGCCGAGGCTACAGCGAGATCGGCAT GAAGGGCGAGAGGAGGAGGGGCAAGGGCCACGACG GCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCCGCCACCAAGGACA CCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCA GG	27
T2A 요소	TCCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGT GACGTGGAGGAGAATCCCGGCCCTAGG	28
eGFP	GTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTG CCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGC CACAAGTTACAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGAT GCCACCTACGGCAAGCTGACCTGAAAGTTTCATCTGC ACCACGGCAAGCTGCCCGTGCCTGGCCACCCCTC GTGACCACCTGACCTACGGCGTGCAGTGTTCAGC CGTACCCCGACCATGAAGCAGCAGCACTTCTTC AAGTCCGCCATGCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGC ACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCACTACAAGACC CGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCTGGTG AACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAG GACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAAC TACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAG CAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACCTCAAGATCCGC CACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGAC CACTACCAGCAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCC GTGCTGTGCCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAG TCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGAT CACATGGTCTGTGGAGTTCGTGACCGCCGCGGG ATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTGA	29
항-P329G-ds-scFv- CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD- eGFP 융합체 pETR17096	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAA CAGCTACCGGTGTGCATTCGAGGTGAAGCTGCTGG AGAGCGGCGGCGCCTGGTGCAGCCCGCGGCAGCC TGAAGCTGAGCTGCGCCGCCAGGGCTTCGACTTCA GCAGGTAAGTGAAGTGGGTGAGGCAAGCCCCCG GCAAGTGTCTGGAGTGGATCGGCGAGATCACCCCG ACAGCAGCACCATCAACTACACCCCAAGCCTGAAGG ACAAGTTATCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACA CCCTGTACCTGCAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGG ACACCGCCCTGTAATACTGCGTGAGGCCCTACGACT ACGGCGCCTGGTTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACCGTGAGCGCCGAGGGGGCGGAAGTGGTG GCGGGGAAGCGCGGGGGTGGCAGCGGAGGGGGC GGATCTCAGGCCGTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTG ACCACAGCCCCGGGAGACCGTGACCTGACCTGC AGGAGCAGCACCGGCGCGGTGACCAACAGCAACTAC GCCAACTGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACTGTTC ACCGCCTGATCGGCGCACCAACAAGAGGGCCCC	30

[0732]

	GCGGTGCCCGCCAGGTTTCAGCGGCAGCCTGATCGGC GACAAGGCCGCGCTGACCATCACCGCGCCCAGACC GAGGACGAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGTGGTAC AGCAACCACTGGGTGTTTCGGCTGTGGCACCAAGCTG ACCGTGCTGGGAGGGGGCGGATCCTTCTGGGTGCTG GTGGTGTGGGCGGCGTGTGGCCTGCTACAGCCTG CTGGTGACCGTGGCCTTCATCATCTTCTGGGTGAGGA GCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCACCAGGAAGC ACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCG CCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCG ACGCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGT ATAACGAGCTGAACCTGGGCAGGAGGGAGGAGTAC GACGTGCTGGACAAGAGGAGGGGCAGGGACCCCGA GATGGGCGCAAGCCCAGGAGGAAGAACCCCGAGG AGGGCCTGTATAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGG CCGAGGCCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAG AGGAGGAGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCA GGGCCTGAGCACCGCCACCAAGGACACCTACGACGC CCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAGGTCCGGAGA GGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGA GGAGAATCCCGGCCCTAGGGTGAGCAAGGGCGAGG AGCTGTTACCGGGTGGTGCCATCCTGGTCGAGCT GGACGGCGACGTAACCGGCCACAAGTTCAGCGTGTC CGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCT GACCTGAAGTTCATCTGCACCACCGCAAGCTGCC CGTGCCCTGGCCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTAC GCGGTGCAGTGCTTACGCCGCTACCCCGACCACATG AAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGAA GGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGAC GACGGCAACTACAAGACCCCGCCGAGGTGAAGTTC GAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAG GGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGG CACAAGCTGGAGTACAACATAACAGCCACAACGTC TATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAG GTGAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGC AGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACC CCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGTGCCCGACAAC CACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGAC CCCAACGAGAAGCGGATCACATGGTCTGCTGGAG TTCGTGACCGCGCGGGATCACTCTCGGCATGGAC GAGCTGTACAAGTGA	
--	--	--

[0733]

표 4: 항-P329G-scFv 아미노산 서열:

구성체	아미노산 서열	SEQ ID NO
항-P329G CDR H1 카뱃	표 2 참조	1
항-P329G CDR H2 카뱃	표 2 참조	2
항-P329G CDR H3 카뱃	표 2 참조	3
항-P329G CDR L1 카뱃	표 2 참조	4
항-P329G CDR L2 카뱃	표 2 참조	5
항-P329G CDR L3 카뱃	표 2 참조	6
항-P329G-scFv- CD28ATD-CD28CSD-	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSRVWV RQAPGKLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN	31

[0734]

CD3zSSD 융합체	TLYLQMIKVRSEDTALYYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAVVVTQESALT TSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGL IGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALITITGAQTEDEAIY FCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGGGGSFVWLVVVGGV LACYLLVTVAFIHFVVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPG PTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
항-P329G VH	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSRYSWMNWV RQAPGKGLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNKN TLYLQMIKVRSEDTALYYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSA	32
항-P329G VL	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTI TGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	33
항-P329G-scFv	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSRYSWMNWV RQAPGKGLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNKN TLYLQMIKVRSEDTALYYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAVVVTQESALT TSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGL IGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALITITGAQTEDEAIY FCALWYSNHWVFGGGTKLTVL	34
CD28ATD	표 2 참조	11
CD28CSD	표 2 참조	12
CD3zSSD	표 2 참조	13
CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD	표 2 참조	14
eGFP	표 2 참조	15
(G4S)4 링커	표 2 참조	16
G4S 링커	표 2 참조	17
T2A 링커	표 2 참조	18

[0735]

표 5: 항-P329G- scFv DNA 서열:

구성체	DNA 서열	SEQ ID NO
항-P329G-scFv- CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD 융합체	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAA CAGCTACCGGTGTGCATTCGAGGTGAAGCTGCTGG AGAGCGCGCGCGCCTGGTGCAGCCCGCGCAGCC TGAAGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCGACTTCA GCAGGTAAGTGAAGTGGGTGAGGCAGGCCCCCG GCAAGGGTCTGGAGTGGATCGGCGAGATCACCCCG ACAGCAGCACCATCAACTACCCCCAGCCTGAAGG ACAAGTTCATCATCAGCAGGACAACGCCAAGAACA CCCTGTACCTGCAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGG ACACCGCCCTGTAATACTGCGTGAGGCCCTACGACT ACGGCGCCTGGTTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACCGTGAGCGCCGAGGGGGCGGAAGTGGTG GCGGGGAAGCGCGGGGGTGGCAGCGGAGGGGGC GGATCTCAGCCGTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTG ACCACGAGCCCGGAGACCGTGACCTGACCTGC AGGAGCAGCACCGGCGCGTGACCACCAACTAC GCCAACTGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCCTGTTC ACCGCCTGATCGGGCCACCAACAAGAGGGCCCCC GGCGTGCCCGCCAGGTTACGCGGAGCCTGATCGGC GACAAGCCCGCCTGACCATCACCGCGCCAGACC GAGGACGAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGTGGTAC AGCAACCACTGGGTGTTCCGGGTGGCACCAAGCTG ACCGTGCTGGGAGGGGGCGGATCCTTCTGGGTGCTG	35

[0736]

	GTGGTGGTGGGCGGCGTGTGGCCTGCTACAGCCTG CTGGTGACCGTGGCCTTCATCATCTTCTGGGTGAGGA GCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCACCAGGAAGC ACTACCAGCCTACGCCCCCCCAGGACTTCGCCG CCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCG ACGCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGT ATAACGAGCTGAACCTGGGCAGGAGGGAGGAGTAC GACGTGCTGGACAAGAGGAGGGGCAGGGACCCCGA GATGGCGGCAAGCCCAGGAGGAAGAACCACCAGG AGGGCCTGTATAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGG CCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAG AGGAGGAGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCA GGCCCTGAGCACCGCCACCAAGGACACCTACGACGC CCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCAGG	
항-P329G VH	GAGGTGAAGCTGCTGGAGAGCGGCGGCGCCTGGTG CAGCCCGGCGGAGCCTGAAGCTGAGCTGCGCCGCC AGCGGCTTCGACTTCAGCAGGTAAGTGAAGTGG GTGAGGAGGCCCCCGCAAGGGTCTGGAGTGGATC GGCGAGATCACCCCGACAGCAGCACCATCAACTAC ACCCAGCCTGAAGGACAAGTTCATCATCAGCAGG GACAACGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGATC AAGGTGAGGAGGAGGACACCGCCTGTACTACTGC GTGAGGCCCTACGACTACGGCGCCTGGTTCGCCAGC TGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCC	36
항-P329G VL	CAGGCCGTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTGACCACC AGCCCGGCGAGACCGTGACCTGACCTGCAGGAGC AGCACCGGCGCGTGACCACCAGCAACTACGCCAAC TGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACTGTTCACCGGC CTGATCGGGCGCACCAACAAGAGGGCCCCGCGGTG CCCGCCAGGTTACAGCGCAGCCTGATCGGGACAAG GCCGCCCTGACCATCACCGGCCCCAGACCGGAGGAC GAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGTGGTACAGCAACC ACTGGGTGTTCCGGCGGTGGCACCAAGCTGACCGTGC TG	37
CD28ATD	표 3 참조	24
CD28CSD	표 3 참조	25
CD3zSSD	표 3 참조	26
CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD	표 3 참조	27
T2A 요소	표 3 참조	28
eGFP	표 3 참조	29
항-P329G-scFv- CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD- eGFP 융합체	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAA CAGCTACCGGTGTGCATTCCGAGGTGAAGCTGCTGG AGAGCGGCGGCGCCTGGTGCAGCCCGGCGGAGCC TGAAGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTCGACTTCA GCAGGTAAGTGAAGTGGGTGAGGCAGGCCCCCG GCAAGGTCTGGAGTGGATCGGGAGATCACCCCG ACAGCAGCACCATCAACTACACCCCGCCTGAAGG ACAAGTTCATCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACA CCCTGTACCTGCAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGG ACACCGCCTGTACTACTGCGTGAGGCCCTACGACT ACGGCGCCTGGTTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCC TGGTGACCGTGAGCGCCGAGGGGGCGGAAGTGGTG GCGGGGGAAGCGGCGGGGTGGCAGCGGAGGGGGC GGATCTCAGGCCGTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTG ACCACAGCCCCGGGAGACCGTGACCCTGACCTGC AGGAGCAGCACCGCGCCGTGACCACAGCAACTAC GCCAACTGGGTGAGGAGAAGCCCGACCACTGTTTC ACGGCCTGATCGGGCGCACCAACAAGAGGGCCCC	38

[0737]

	GCGTGTCCCGCCAGGTTTCAGCGGCAGCCTGATCGGC GACAAGGCCGCCCTGACCATCACCGCGCCAGACC GAGGACGAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGTGGTAC AGCAACCACTGGGTGTTTCGGCGGTGGCACCAGCTG ACCGTGCTGGGAGGGGGCGGATCCTTCTGGGTGCTG GTGGTGGTGGGCGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTG CTGGTGACCGTGGCCTTCATCATCTTCTGGGTGAGGA GCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCAAGGAGGCCCGCCACCAGGAAGC ACTACCAGCCCTACGCCCGCCAGGGACTTCGCCG CCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCG ACGCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGT ATAACGAGCTGAACCTGGGCAGGAGGGAGGAGTAC GACGTGCTGGACAAGAGGAGGGCAGGGACCCCGA GATGGGCGGCAAGCCAGGAGGAAGAACCCCGAGG AGGGCCTGTATAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGG CCGAGGCCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAG AGGAGGAGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCA GGGCCTGAGCACCGCCACCAAGGACACCTACGACGC CCTGCACATGCAGGCCCTGCCCGCAGGTCCGGAGA GGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGA GGAGAATCCCGGCCCTAGGGTGAGCAAGGGCGAGG AGCTGTTACCGGGGTGGTGCCATCCTGGTTCGAGCT GGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTG CGCGGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCT GACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGCAAGCTGCC CGTGCCCTGGCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTAC GGGTGCAGTGCTTACGCCGCTACCCCGACCATG AAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAA GGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGAC GACGGCAACTACAAGACCCCGCCGAGGTGAAGTTC GAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAG GGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGG CACAAGCTGGAGTACAACACTACAACAGCCACAACGTC TATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAG GTGAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGC AGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACC CCCATCGGCGACGGCCCGTGCTGCTGCCCGACAAC CACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGAC CCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTGCTGGAG TTCGTGACCGCCCGGGATCACTCTCGGCATGGAC GAGCTGTACAAGTGA	
--	---	--

[0738]

표 6: 항-P329G-ds- Fab 아미노산 서열

구성체	아미노산 서열	SEQ ID NO
항-P329G CDR H1 카뱃	표 2 참조	1
항-P329G CDR H2 카뱃	표 2 참조	2
항-P329G CDR H3 카뱃	표 2 참조	3
항-P329G CDR L1 카뱃	표 2 참조	4
항-P329G CDR L2 카뱃	표 2 참조	5
항-P329G CDR L3 카뱃	표 2 참조	6
항-P329G-ds-Fab-	EVKLLSEGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSR YWMN WV RQAPGKCLEWIGEITPDSSTIN YTPSLKDKFIISRDN AKN	39

[0739]

중쇄- CD28ATD- CD28CSD- CD3zSSD 융합체 pETR17100	TLYLQMIKVRSEDTALYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSAASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGS FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRRLHSD YMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRS ADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGDGLYQGLSTATKDYDALHMALPPR	
항-P329G-ds-Fab 중쇄	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSRVWNNV RQAPGKCLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN TLYLQMIKVRSEDTALYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSAASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	40
항-P329G-ds-Fab 경쇄	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTI TGAQTEDEAIYFCALWYSNHWFVFGCGTKLTVLRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADYK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	41
항-P329G-ds VL	표 2 참조	9
CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADYK DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	42
항-P329G-ds VH	표 2 참조	8
CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	43
CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD	표 2 참조	14

[0740]

표 7: 항-P329G-ds-Fab DNA 서열:

구성체	DNA 서열	SEQ ID NO
항-P329G-ds-Fab- 중쇄- CD28ATD- CD28CSD- CD3zSSD 융합체 pETR17100	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAA CAGCTACGGGTGTGCATCCCAGGCCGTGGTGACCC AGGAGAGCGCCTGACCACCAGCCCCGCGAGACCG TGACCCTGACCTGCAGGAGCAGCACCCGGCGCCGTGA CCACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAGAAGC CCGACCACCTGTTACCCGGCCTGATCGGGCGCACCA ACAAGAGGGCCCCCGCGTGCCCGCCAGGTTACAGCG GCAGCCTGATCGGGCACAAGGCCGCCCTGACCATCA CCGGCGCCAGACCGAGGACGAGGCCATCTACTTCT GCGCCCTGTGGTACAGCAACCCTGGGTGTTGCGCT GTGGCACCAAGCTGACCGTGCTGCGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTATCTTCCCGCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAAGTGCCTTGTGTGCTGCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGC AGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTACAAAGAG CTTCAACAGGGGAGAGTGTAGGAATCCCCGAAGT AACTTAGAAGCTGTAATCAACGATCAATAGCAGGT GTGGCACACCAGTCATACCTTGATCAAGCACTTCTGT TTCCCCGACTGAGTATCAATAGGCTGCTCGCGCGG CTGAAGGAGAAAACGTTTCGTTACCCGACCAACTACT TCGAGAAGCTTAGTACCACCATGAACGAGGCAGGGT GTTTCGCTCAGCACAAACCCAGTGTAGATCAGGCTG	44

[0741]

	ATGAGTCACTGCAACCCCATGGGCGACCATGGCAG TGGCTGCGTTGGCGGCTGCCCATGGAGAAATCCAT GGGACGCTCTAATTCTGACATGGTGTGAAGTGCCTAT TGAGCTAACTGGTAGTCTCCGGCCCTGATTGCGGC TAATCCTAACTGCGGAGCATGCTCACAACCAAGT GGGTGGTGTGTCGTAACGGGCAACTCTGCAGCGGAA CCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCCCTTTTATCCCTA TATTGGCTGCTTATGGTGACAATCAAAAAGTTGTTAC CATATAGCTATTGGATTGGCCATCCGGTGTGCAACA GGGCAACTGTTTACCTATTTATTGGTTTTGTACCACTT ATCACTGAAGTCTGTGATCACTCTCAAATTCATTTTG ACCCTCAACACAATCAAACGCCACCATGGGATGGAG CTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCCGGT GTGCACTCCGAGGTGAAGCTGCTGGAGAGCGGCGGC GGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCCTGAAGCTGAGC TGCGCCGACGCGGCTTCGACTTCAGCAGGTAAGTGG ATGAACTGGGTGAGGCAGCCCCGGCAAGTGTCTG GAGTGGATCGGCGAGATCACCCCGACAGCAGCACC ATCAACTACACCCCGAGCCTGAAGGACAAGTTCATC ATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACACCTGTACCTG CAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGGACACCGCCCTG TACTACTGCGTGAGGCCCTACGACTACGGCGCCTGG TTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTG AGCGCCGCTAGCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCC CTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGCGGCACA GCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCG AGCCCGTGACCGGTGCTCTGGAACAGCGGAGCCCTGA CCTCCGGCGTGCACACCTTCCCGCCGTGCTGCAGAG TTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTACCCGTG CCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGGAGGGGGCGGA TCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGCGGCGTGTGG CCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTCATCAT CTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCGAGGAGGCCCGG CCCCACCAGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCCC CAGGACTTCGCCGCTACAGGAGCAGGGTGAAGTT CAGCAGGAGCGCCGACGCCCCCGCTACCAGCAGGG CCAGAACCAGCTGTATAACGAGCTGAACCTGGGCAG GAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGG GCAGGGACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCAGGAGG AAGAACCCCGAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTGCAG AAGGACAAGATGGCCGAGGCTACAGCGAGATCGG CATGAAGGGCGAGAGGAGGAGGGGCAAGGGCCACG ACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAAGG ACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCC CCAGG	
항-P329G-ds VL	표 3 참조	21
CL	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGC CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGT TGTGTGCCTGTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC AAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG GGTAACTCCCAGGAGTGTACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAACAAAAGTCTAC GCCTGCGAAGTACCCATCAGGGCCTGAGTCCGCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG	45
항-P329G-ds VH	표 3 참조	20
CHI	GCTAGCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCGCTGGCCC CCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCTC	46

[0742]

	TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGT GACCGTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGG CGTGCACACCTTCCCCGCGTGTGCAGAGTTCTGGC CTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCAACCGTGCCTTCTA GCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGA ACCAACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAAG GTGGAGCCCAAGAGCTGC	
CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD	표 3 참조	27
항-P329G-ds-Fab- 중쇄- CD28ATD- CD28CSD- CD3ZSSD- eGFP 융합체 pETR17100	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAA CAGCTACGGGTGTGCATTCCCAGGCCGTGGTGACCC AGGAGAGCGCCCTGACCACCAGCCCCGCGAGACCG TGACCCTGACCTGCAGGAGCAGCACCAGCGCCGTGA CCACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAGAAGC CCGACCACCTGTTCAACGGCCTGATCGGGCGCACCA ACAAGAGGGCCCCCGCGTGCAGCCAGGTTACGCG GCAGCCTGATCGGGCAACAAGGCCGCCCTGACCATCA CCGGCGCCAGACCGAGGACGAGGCCATCTACTTCT GCGCCCTGTGGTACAGCAACCACTGGGTGTTGCGCT GTGGACCAAGCTGACCGTGTGCGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTGTGTGCCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGC AGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAG CTTCAACAGGGGAGAGTGTTAGGAATCCCCGAAGT AACTTAGAAGCTGTAATCAACGATCAATAGCAGGT GTGGCACACCAGTCAATCCTTGATCAAGCACTTCTGT TTCCCCGACTGAGTATCAATAGGCTGCTCGCGCGG CTGAAGGAGAAAACGTTTCGTTACCCGACCAACTACT TCGAGAAGCTTAGTACCACCATGAACGAGGCAGGGT GTTTCGCTCAGCACAACCCAGTGTAGATCAGGCTG ATGAGTCACTGCAACCCCAATGGGGGACCATGGCAG TGGCTGCGTTGGCGCCTGCCATGGAGAAAATCCAT GGGACGCTCTAATTCTGACATGGTGTGAAGTGCCTAT TGAGCTAACTGGTAGTCTCCCGGCCCTGATTGCGGC TAATCCTAACTGCGGAGCACATGCTCACAAACCAGT GGGTGGTGTGTCGTAACGGGCAACTCTGCAGCGGAA CCGACTACTTGGGTGTCCGTGTTTCTTTTATTCCTA TATTGGCTGCTTATGGTGACAATCAAAAAGTTGTTAC CATATAGCTATTGGATTGGCCATCCGGTGTGCAACA GGGCAACTGTTTACCTATTTATTGGTTTTGTACCATT ATCACTGAAGTCTGTGATCACTCTCAAATTCATTTG ACCCTAACACAATCAAACGCCACCATGGGATGGAG CTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGT GTGCACTCCGAGGTGAAGCTGTGGAGAGCGGCGGC GGCCTGGTGCAGCCCGGGCAGCCTGAAGCTGAGC TGCGCCGCCAGCGGCTTCGACTTCAGCAGGTAAGTGG ATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCGGCAAGTGTCTG GAGTGGATCGGCGAGATCACCCCGACAGCAGCACC ATCAACTACACCCCAAGCCTGAAGGACAAGTTCATC ATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACACCTGTACCTG CAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGGACACCGCCCTG TACTACTGCGTGAGGCCCTACGACTACGGCGCCTGG TTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTG AGCGCCGCTAGCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCC CTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGCGGCACA GCCGCTCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG	47

[0743]

	AGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGA CCTCCGGCGTGACACCTTCCCCGCGTGTGCAGAG TTCTGGCCTGTATAGCTGAGCAGCGTGGTACCGTG CCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGGAGGGGGCGGA TCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGGCGCGTGTGG CCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTCATCAT CTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCAAGGAGGCCCGG CCCCACAGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCCCC CAGGGACTTCGCCCGCTACAGGAGCAGGGTGAAGTT CAGCAGGAGCGCCGACGCCCCCGCTACCAGCAGGG CCAGAACCAGCTGTATAACGAGCTGAACCTGGGCAG GAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGG GCAGGGACCCGAGATGGGGCGCAAGCCAGGAGG AAGAACCCCAAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTGCAG AAGGACAAGATGGCCGAGGCCACAGCGAGATCGG CATGAAGGGCGAGAGGAGGAGGGCAAGGGCCACG ACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCCGCCACCAAGG ACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCC CCAGGTCCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCAACAT GCGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGCCCTAGGGTGA GCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGTGGTGCCCA TCCTGGTCGAGCTGGACGCGACGTAACCGCCACA AGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCA CCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCA CCGGCAAGCTGCCCGTGCCTGGCCACCCTCGTGA CCACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGTTCAGCCGTA CCCCAGCACATGAAGCAGCACGACTTCTCAAGTC CGCCATGCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCAT CTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGC CGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCG CATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGG CAACATCCTGGGGACAAGCTGGAGTACAACACTAAA CAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAA GAACGGCATCAAGGTGAACCTCAAGATCCGCCACAA CATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTA CCAGCAGAACACCCCACTCGGCGACGGCCCCGTGCT GCTGCCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGC CCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACAT GGTCTGTGGAGTTCGTGACCGCCGGGATCAC TCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTGA	
--	---	--

[0744]

표 8: 항-P329G-Fab 아미노산 서열:

구성체	아미노산 서열	SEQ ID NO
항-P329G CDR H1 카뎃	표 2 참조	1
항-P329G CDR H2 카뎃	표 2 참조	2
항-P329G CDR H3 카뎃	표 2 참조	3
항-P329G CDR L1 카뎃	표 2 참조	4
항-P329G CDR L2 카뎃	표 2 참조	5
항-P329G CDR L3 카뎃	표 2 참조	6
항-P329G-Fab-	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSRWYMNWV	48

[0745]

중쇄- CD28ATD- CD28CSD- CD3zSSD 융합체 pETR17594	RQAPGKGLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN TLYLQMIKVRSEDTALYYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSAASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCGGGGS FWVLVVVGGVLAACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLRHSD YMNMTPRRPGPTRKHYPYAPRDFAAAYRSRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
항-P329G-Fab 중쇄	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGDFFSRYWMNWV RQAPGKGLEWIGEITPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN TLYLQMIKVRSEDTALYYCVRPYDYGAWFASWGQGT LVTVSAASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSC	49
항-P329G-Fab 경쇄	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTI TGAQTEDEAIYFCALWYSNHWFVGGGKTTLVLRVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLISKADYK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	50
항-P329G VL	표 4 참조	33
CL	표 6 참조	42
항-P329G VH	표 4 참조	32
CH1	표 6 참조	43
CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD	표 2 참조	14

[0746]

표 9: 항-P329G-Fab DNA 서열:

구성체	DNA 서열	SEQ ID NO
항-P329G-Fab- 중쇄- CD28ATD- CD28CSD- CD3zSSD 융합체 pETR17594	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAA CAGCTACGGGTGTGCATTCCCAGGCCGTGGTGACCC AGGAGAGCGCCCTGACCACCAGCCCCGGCGAGACCG TGACCCTGACCTGCAGGAGCAGCACCGGCGCCGTGA CCACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAGAAGC CCGACCACCTGTTCACCGGCCTGATCGGCGGCACCA ACAAGAGGGCCCCCGGCGTGCCCGCCAGGTTAGCG GCAGCCTGATCGGCGACAAGGCCGCCCTGACCATCA CCGGCGCCAGACCGAGGACGAGGCCATCTACTTCT GCGCCCTGTGGTACAGCAACCACTGGGTGTTGCGCG GTGGCACCAAGCTGACCGTGCTGCGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACGCCTCTGTTGTGTGCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGC AGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCGTCACAAAGAG CTTCAACAGGGGAGAGTGTAGGAATCCCCGAAGT AACTAGAAGCTGTAATCAACGATCAATAGCAGGT GTGGCACACCAGTCATACCTTGATCAAGCACTTCTGT TTCCCCGACTGAGTATCAATAGGCTGCTCGCGCGG CTGAAGGAGAAAACGTTTCGTTACCCGACCAACTACT TCGAGAAGCTTAGTACCACATGAACGAGGCAGGGT GTTTCGCTCAGCACAAACCCAGTGTAGATCAGGCTG ATGAGTCACTGCAACCCCATGGGCGACCATGGCAG TGGCTGCGTTGGCGGCTGCCATGGAGAAATCCAT GGGACGCTCTAATTCTGACATGGTGTGAAGTGCCTAT	51

[0747]

	<p>TGAGCTAACTGGTAGTCTCCGGCCCTGATTGCGGC TAATCCTAACTGCGGAGCACATGCTCACAAACCAGT GGGTGGTGTGTCGTAAACGGGCAACTCTGCAGCGGAA CCGACTACTTTGGGTGTCGGTGTTCCTTTTATTCTTA TATTGGCTGCTTATGGTGACAATCAAAAAGTTGTTAC CATATAGCTATTGGATTGGCCATCCGGTGTGCAACA GGGCAACTGTTTACCTATTTATTGGTTTTGTACCATT ATCACTGAAGTCTGTGATCACTCTCAAATTCATTTG ACCCTCAACACAATCAAACGCCACCATGGGATGGAG CTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGT GTGCACTCCGAGGTGAAGCTGCTGGAGAGCGGGCGC GGCCTGGTGCAGCCCGCGGCAGCCTGAAGCTGAGC TGCGCCGACAGCGGCTTCGACTTCAGCAGGTAAGTGG ATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCGCCGCAAGGGTCTG GAGTGGATCGGCGAGATCACCCCGACAGCAGCACC ATCAACTACACCCCGAGCCTGAAGGACAAGTTCATC ATCAGCAGGACAAACGCCAAGAACACCCTGTACCTG CAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGGACACCGCCCTG TACTACTGCGTGAGGCCCTACGACTACGGCGCCTGG TTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTG AGCGCCGCTAGCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCC CTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACACCGCGCGGCACA GCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCG AGCCCGTGACCGTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGA CCTCCGGCTGCACACCTTCCCGCGGTGCTGCAGAG TTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTCAACCGT CCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCAAGAGCTGCGGAGGGGGCGGA TCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGCGGGCTGCTGG CCTGTACAGCCTGTGGTGACCGTGGCCTTCATCAT CTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCGAGGAGGCCCGG CCCCACAGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCCCC CAGGGACTTCGCGCCTACAGGAGCAGGGTGAAGTT CAGCAGGAGCGCCGACGCCCGCCTACCAGCAGGG CCAGAACCAGCTGTATAACGAGCTGAACCTGGGCAG GAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGG GCAGGGACCCGAGATGGGCGCAAGCCAGGAGG AAGAACCCCGAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTGCAG AAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGG CATGAAGGGCGAGAGGAGGAGGGGCAAGGGCCACG ACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAAGG ACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCC CCAGG</p>	
항-P329G VL	표 5 참조	37
CL	표 7 참조	45
항-P329G VH	표 5 참조	36
CH1	표 7 참조	46
CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD	표 3 참조	27
항-P329G-Fab- 중쇄- CD28ATD- CD28CSD- CD3zSSD- eGFP 융합체 pETR17594	<p>ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAA CAGTACGGGTGTGCATTCCCAGGCCGTGGTGACCC AGGAGAGCGCCCTGACCACCAGCCCGGCGAGACCG TGACCCTGACCTGCAGGAGCAGCACCGCGCCGTGA CCACCAGCAACTACGCCAACTGGGTGCAGGAGAAGC CCGACCACCTGTTACCGGCCTGATCGGGCGGCACCA ACAAGAGGGCCCCCGCGTGCCCGCCAGGTTACGCG GCAGCCTGATCGGCGACAAGGCCCGCCTGACCATCA CCGGCGCCAGACCGAGGACGAGGCCATCTACTTCT</p>	52

[0748]

	<p>GCGCCCTGTGGTACAGCAACCACTGGGTGTTCCGGCG GTGGACCAAGCTGACCGTGCTGCGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCA GTTGAATCTGGAAGTGCCTCTGTGTGTGCCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAG GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGC AGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAAGAG CTTCAACAGGGGAGAGTGTTAGGAATTCCCCGAAGT AACTTAGAAGCTGTAATCAACGATCAATAGCAGGT GTGGCACACCAGTCAACCTTGATCAAGCACTTCTGT TTCCCCGACTGAGTATCAATAGGCTGCTCGCGCGG CTGAAGGAGAAAACGTTTCGTTACCCGACCAACTACT TCGAGAAGCTTAGTACCACATGAACGAGGCAGGGT GTTTCGCTCAGCACAACCCAGTGTAGATCAGGCTG ATGAGTCACTGCAACCCCATGGGCGACCATGGCAG TGGTGCCTGGGCGCCTGCCATGGAGAAATCCAT GGGACGCTCTAATTCTGACATGGTGTGAAGTGCCTAT TGAGCTAACTGGTAGTCTCCGGCCCTGATTGCGGC TAATCCTAACTGCGGAGCACATGCTCACAAACCACT GGGTGGTGTGTCGTAAACGGGCAACTTCGACGCGGAA CCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTTCCTTTTATTCTTA TATTGGCTGCTTATGGTGACAATCAAAAAGTTGTTAC CATATAGCTATTGGATTGGCCATCCGGTGTGCAACA GGGCAACTGTTTACCTATTATTGGTTTTGTACCATT ATCACTGAAGTCTGTGATCACTCTCAAATTCATTTG ACCCTCAACACAATCAAACGCCACCATGGGATGGAG CTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGT GTGCACTCCGAGGTGAAGCTGCTGGAGAGCGGCGGC GGCTGGTGCAGCCCGGCGGCGAGCCTGAAGCTGAGC TGGCCCGCCAGCGGCTTCGACTTCAGCAGGTACTGG ATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGTCTG GAGTGGATCGGCGAGATCACCCCGACAGCAGCACCC ATCAACTACACCCCGAGCCTGAAGGACAAGTTCATC ATCAGCAGGACAACGCCAAGAACACCCTGTACCTG CAGATGATCAAGGTGAGGAGCGAGGACACCCGCCCTG TACTACTGCGTGAGGCCCTACGACTACGGCGCCTGG TTCGCCAGCTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTG AGCGCCGCTAGCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCC CTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACAGCGGCGGCACA GCCGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG AGCCCGTGACCGTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGA CCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCCGCGTGTGCAGAG TTCTGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTACCGTG CCTTCTAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGCGGAGGGGGCGGA TCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGCGCTGCTGG CCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTCATCAT CTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCAAGGAGGCCCGG CCCCACAGGAAGCACTACAGCCCTACGCCCCCCC CAGGGACTTCGCCGCTACAGGAGCAGGGTGAAGTT CAGCAGGAGCGCCGACGCCCCCGCTACCAGCAGGG CCAGAACAGCTGTATAACGAGCTGAACCTGGGCAG GAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGG GCAGGGACCCGAGATGGGCGGCAAGCCAGGAGG AAGAACCCCAAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTGCAG AAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGG</p>	
--	--	--

[0749]

	CATGAAGGGCGAGAGGAGGAGGGGCAAGGGCCACG ACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAAGG ACACCTACGACGCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCC CCAAGTCCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACAT GCGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGCCCTAGGGTGA GCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCA TCCTGGTTCGAGCTGGACGCGACGTAACCGCCACA AGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCA CCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCA CCGGCAAGCTGCCCGTGCCTGGCCACCCTCGTGA CCACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTA CCCCACCATGAAGCAGCAGACTTCTTCAAGTC CGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCAT CTTCTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGC CGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCG CATCGAGCTGAAGGCGATCGACTTCAAGGAGGACGG CAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAATAAA CAGCCACAACGCTTATATCATGGCCGACAAGCAGAA GAACGGCATCAAGGTGAACCTCAAGTCCGCCACAA CATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTA CCAGCAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCT GCTGCCCCACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGC CCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACAT GGTCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCCGGGATCAC TCTCGCATGGACGAGCTGTACAAGTGA	
--	--	--

[0750]

표 10: 항-AAA-scFv 아미노산 서열

구성체	아미노산 서열	SEQ ID NO
항-AAA CDR H1 카펫	SYGMS	53
항-AAA CDR H2 카펫	SSGGSY	54
항-AAA CDR H3 카펫	LGMITTYAMDY	55
항-AAA CDR L1 카펫	RSSQTI VHSTGHTYLE	56
항-AAA CDR L2 카펫	KVSNRFS	57
항-AAA CDR L3 카펫	FQGSHPYPT	58
항-AAA-scFv- CD28ATD-CD28CSD- CD3zSSD 융합체	MNFGLSLVFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLK LSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGSY IYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLKS EDTAMYY CARLGMITTYAMDYWGQTSVTVSSGGGGSGGGGS GGGSGGGSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQTI VHSTGHTYLEWFLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYYCFQGSHPYPTFGG GTKLEIKGGGGSFVVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFW VRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAYRSRVKFSRSDAPAYQQGQNLYNELNLRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDYDALH MQALPPR	59
항-AAA-scFv	MNFGLSLVFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLK LSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGSY IYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLKS EDTAMYY CARLGMITTYAMDYWGQTSVTVSSGGGGSGGGGS GGGSGGGSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQTI VHSTGHTYLEWFLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYYCFQGSHPYPTFGG	60

[0751]

	GTKLEIK	
항-AAA VH	MNFGLSLVFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLK LSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGSY IYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLKS EDTAMYY CARLGMITTYAMDYWGQTSVTVSS	61
항-AAA VL	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQTI VHSTGHTYLE WFLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDLG VYYCFQGSHPYPTFGGGTKLEIK	62

[0752]

표 11: 항-AAA-Fab 아미노산 서열

구성체	단백질 서열	SEQ ID NO
항-AAA CDR H1 카뱃	표 10 참조	53
항-AAA CDR H2 카뱃	표 10 참조	54
항-AAA CDR H3 카뱃	표 10 참조	55
항-AAA CDR L1 카뱃	표 10 참조	56
항-AAA CDR L2 카뱃	표 10 참조	57
항-AAA CDR L3 카뱃	표 10 참조	58
항-AAA-Fab-중쇄- CD28ATD-CD28CSD-CD3zSSD 융합체	MNFGLSLVFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLK LSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGSY IYYPDSVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLKSEDTAMYY CARLGMITTYAMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKEPKSCGGGSFWLVVVGGLACYSLL VTVAFIIFWVRSKRRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYY PYAPPRDFAAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNLYNEL NLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLGYQLSTAT KDTYDALHMQALPPR	63
항-AAA-Fab 중쇄	MNFGLSLVFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLK LSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGSY IYYPDSVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLKSEDTAMYY CARLGMITTYAMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKEPKSC	64
항-AAA-Fab 경쇄	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQTIVHSTGHTYLE WFLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDLGVYYCFQGSHPVYTFGGGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	65
항-AAA VL	표 10 참조	62
CL	표 6 참조	42
항-AAA VH	표 10 참조	61
CHI	표 6 참조	43

[0753]

표 12

구성체	아미노산 서열	SEQIDNO
인간 CD27	ATGGCGCGCCCGCATCCGTGGTGGCTGTGCGTGCTG GGCACCTGGTGGGCTGAGCGCGACCCGGCGCCG AAAAGCTGCCCGAACGCCATTATTGGGCGCAGGGC AAACTGTGTGCCAGATGTGCGAACCGGGCACCTTT	66

[0754]

	CTGGTGAAAGATTGCGATCAGCATCGCAAAGCGGCG CAGTGCGATCCGTGCATTCCGGGCGTGAGCTTTAGCC CGGATCATCATACCCGCCCGCATTGCGAAAGCTGCC GCCATTGCAACAGCGGCTGCTGGTGCCTGCAACTGCA CCATTACCGCGAACGCGGAATGCGCGTGCCGCAACG GCTGGCAGTGCCGCGATAAAGAAATGCACCGAATGCG ATCCGCTGCCGAACCCGAGCCTGACCGCGCGCAGCA GCCAGGCGCTGAGCCCGCATCCGAGCCGACCCATC TGCCGTATGTGAGCGAAATGTGGAAGCGCGCACCG CGGGCCATATGCAGACCCCTGGCGGATTTTCGCCAGC TGCCGGCGCGCACCCCTGAGCACCCATTGGCCGCGC AGCGCAGCCTGTGCAGCAGCGATTTTATTCGATTCT GGTGATTTTTCAGCGCATGTTTCTGGTGTTCACCTG GCGGGCGCGCTGTTTCTGCATCAGCGCCGCAATAT CGCAGCAACAAAGGCGAAAGCCCGGTGGAACCGGC GGAACCGTGCCATTATAGCTGCCCGCGGAAGAAGA AGGCAGCACCATTCGATTACAGGAAGATTATCGCAA ACCGGAACCGGCGTGACCCG	
인간 CD27	MARPHPWWLCVLGTLVGLSATPAKSCPERHYWAQG KLCCQMCEPGTFLVKDCDQHRKAAQCDPCIPGVSFSPD HHTRPHCESCRHCNSGLLVNRNCTTANAECACRNGWQ CRDKECTECDPLPNPLSTARSSQALSPHPQPTLPHYVSE MLEARTAGHMQLADFRQLPARTLSTHWPPQRSLCSS DFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFLHQRKRYRSNKGESPV EPAEPCHYSCPREEGSTIPIQEDYRKPEPACSP	67
쥐과 CD27	ATGGCGTGGCCGCGCGTATTGGCTGTGCATGCTG GGCACCCCTGGTGGGCTGAGCGCGACCCCTGGCGCG AACAGCTGCCCGGATAAACATTATTGGACCGGCGGC GGCCTGTGCTGCCGATGTGCGAACCCGGCACCTTTT TTGTGAAAGATTGCGAACAGGATCGCACCGCGCGC AGTGCAGTCCGTGCATTCCGGGCACCAGCTTAGCCC GGATTATCATACCCGCCCGCATTGCGAAAGCTGCCG CCATTGCAACAGCGGCTTCTGATTGCAACTGCACC GTGACCGCGAACCGGGAATGCAGCTGCAGCAAAAAC TGCCAGTGCCGCGATCAGGAATGCACCGAATGCGAT CCGCCGCTGAAACCCGGCGCTGACCCGCCAGCCGAGC GAAACCCCGAGCCCGCAGCCGCCCGCACCCATCTG CCGATGGCACCGAAAAACCGAGCTGGCCGCTGCAT CGCCAGCTGCCGAACAGCACCGTGTATAGCCAGCGC AGCAGCCATCGCCCGCTGTGCAGCAGCGATTGCATT CGCATTTTGTGACCTTAGCAGCATGTTTCTGATTTT TGTGCTGGGCGCGATTCTGTTTTTTCATCAGCGCCGC AACCATGGCCCGAACGAAGATCGCCAGGCGGTGCCG GAAGAACCGTGCCGATAGCTGCCCGCGGAAGAA GAAGGCAGCGGATTCCGATTACAGGAAGATTATCGC AAACCGGAACCGGCGTTTTATCCG	68
쥐과 CD27	MAWPPPYWLCMLGTLVGLSATLAPNSCPDKHYWTGG GLCCRMCEPGTFFVKDCEQDRATAAQDPCIPGTSFSPD YHTRPHCESCRHCNSGFLIRNCTVTANAECSCSNWQC RDQECTECDPPLNPLTRQPSSETPPPPPTLPHGTEK PSWPLHRQLPNSTVYSQRSSHRPLCSSDCIRIFVTFSSMF LIFVLGAILFFHQRRNHGPNEDRQAVPEEPCPYSCPRE EGSAIPIQEDYRKPEPAFYP	69
인간 CD28	ATGCTGCGCCTGCTGCTGGCGCTGAACCTGTTCCGA GCATTACAGGTGACCGCAACAAAATTCTGGTGAAC AGAGCCGATGCTGGTGGCGTATGATAACCGGTGA ACCTGAGCTGCAAAATATAGCTATAACCTGTTAGCCG CGAATTTCCGCGGAGCCTGCATAAAGGCCTGGATAG CGCGGTGGAAGTGTGCGTGGTGTATGGCAACTATAG CCAGCAGCTGCAGGTGTATAGCAAACCGCTTTAA CTGCGATGGCAAACCTGGGCAACGAAAGCGTGACCTT	70

[0755]

	TTATCTGCAGAACCTGTATGTGAACCAGACCGATATT TATTTTGC AAAATTGAAGTGATGTATCCGCCCGCT ATCTGGATAACGAAAAAGCAACGGCACCATTATTC ATGTGAAAGGCAAAACATCTGTGCCCGAGCCCGCTGT TTCCGGGCCCGAGCAAACCGTTTGGGTGCTGGTGGT GGTGGGGCGCTGTGGCGTGCTATAGCCTGCTGGT GACCGTGGCGTTTATATTTTTGGGTGCGCAGCAAA CGCAGCCGCTGCTGCATAGCGATTATATGAACATG ACCCCGCGCCCGCCGGCCGACCCGCAAACATTAT CAGCCGTATGCGCCGCCGCGGATTTGCGGCGTATC GCAGC	
인간 CD28	MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNL SCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSA VEVCVYVGNYSQQ LQVYSKTGFNCDGKLGNE SVTFYLQNLVYNQTDIYFC KIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSK PFWVLLVVVGGVLACYLLVTVAFIWFVRSKRSRLLHS DYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	71
쥐 과 CD28	ATGACCCTGCGCCTGCTGTTTCTGGCGCTGAACTTTT TTAGCGTGCAGGTGACCGAAAACAAAATTCTGGTGA AACAGAGCCCGCTGCTGGTGGTGGATAGCAACGAA TGAGCCTGAGCTGCCGCTATAGCTATAACCTGCTGCG GAAAGAATTTGCGCGAGCCTGTATAAAGGCGTGAA CAGCGATGTGGAAGTGTGCGTGGGCAACGGCAACTT TACCTATCAGCCGAGTTTCGCAGCAACGCGGAATTT AACTGCGATGGCGATTTTGATAACGAAACCGTGACC TTTCGCCTGTGGAACCTGCATGTGAACCATACCGATA TTTATTTTGC AAAATTGAATTTATGTATCCGCCGCC GTATCTGGATAACGAAACGCAACGGCACCATTAT TCATATTAAGAAAAACATCTGTGCCATACCCAGAG CAGCCCGAAACTGTTTGGGCGCTGGTGGTGGTGGC GGGCGTGCTGTTTTGCTATGGCCTGCTGGTGACCGTG GGCTGTGCGTGATTTGGACCAACAGCCGCCGCAAC CGCCTGCTGCAGAGCGATTATGAACATGACCCCG CGCCGCCCGGGCCTGACCCGCAAACCGTATCAGCCG TATGCGCCGGCGCGGATTTGCGGCGTATCGCCCG	72
쥐 과 CD28	MTLRLFLALNFFSVQVTENKILVKQSPMLVVDNSNEVSL SCRYSYNLLAKEFRASLYKGVNSDVEVCVGNNGFTYQ PQFRSNAEFNCDGDFDNETVTFRLWNLHVNHTDIYFCK IEFMYPYPYLDNERSNGTIIHIKEKHLCHTQSSPKLFWAL VVVAGVLFYGLLVTVALCVIWTNSRRNRLLQSDYMN MTPRRPGLTRKPYQPYAPARDFAAYRP	73
인간 CD137	ATGGGAAACAGCTGTTACAACATAGTAGCCACTCTG TTGCTGGTCCCTCAACTTTGAGAGGACAAGATCATTGC AGGATCCTTGTAGTAACTGCCAGCTGGTACATTCTG TGATAATAACAGGAATCAGATTTGCAGTCCCTGTCC CCAAATAGTTTCTCCAGCGCAGGTGGACAAAGGACC TGTGACATATGCAGGCAGTGTAAGGTGTTTTCAGG ACCAGGAAGGAGTGTTCTCCACCAGCAATGCAGAG TGTGACTGCACTCCAGGGTTCACTGCCTGGGGCA GGATGCAGCATGTGTGAACAGGATTGTAACAAGGT CAAGAACTGACAAAAAAGGTTGTAAGACTGTTGC TTTGGGACATTTAACGATCAGAAACGTGGCATCTGTC GACCCTGGACAAACTGTTCTTTGGATGGAAGTCTGT GCTTGTGAATGGGACGAAGGAGAGGGACGTGGTCTG TGGACCATCTCCAGCCGACCTCTCTCCGGGAGCATCC TCTGTGACCCCGCCTGCCCTGCGAGAGAGCCAGGA CACTCTCCGAGATCATCTCTTCTTTCTTGCCTGA CGTCGACTGCGTTGCTTCTCTGCTGTTCTTCTCACG CTCCGTTTCTCTGTTGTTAAACGGGCGAGAAAGAAA CTCCTGTATATTAACAACACCATTTATGAGACCCAG TACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCC	74

[0756]

	GATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGTGA	
인간 CD137	MGNSCYNIVATLLLVLFNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCD NNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKE CSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTK KGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGT KERDVVCGPSPADLSPGASSVTPAPAREPGHSPQIISFF LALTSTALLFLFLTLRFSVVKRGRKLLYIFKQPFMR PVQTTQBEDGCSCRFPPEEEGGCEL	75
쥐과 CD137	ATGGGCAACAACCTGTATAACGTGGTGGTGATTGTG CTGCTGCTGGTGGGCTGCGAAAAAGTGGGCGCGGTG CAGAACAGCTGCGATAACTGCCAGCCGGGCACCTTT TGCCGCAAATATAACCCGGTGTGCAAAAGCTGCCCC CCGAGCACCTTTAGCAGCATTGGCGGCCAGCCGAAC TGCAACATTTGCCGCGTGTGCGCGGGCTATTTTCGCT TTAAAAAATTTTGCAGCAGCACCCATAACGCGGAAT GCGAATGCATTGAAGGCTTTCATTGCCTGGGCCCGC AGTGCACCCGCTGCGAAAAAGATTGCCGCCCGGGCC AGGAACTGACCAAACAGGGCTGCAAAACCTGCAGCC TGGGCACCTTTAACGATCAGAACGGCACCCGGCGTGT GCCGCCCGTGGACCAACTGCAGCCTGGATGGCCGCA GCGTGTGAAAACCCGGCACCCGAAAAAGATGTGG TGTGCGGCCCGCGGTGGTGTGAGCTTAGCCCGAGCA CCACCATTAGCGTGACCCCGGAAGGCGGCCCGGGCG GCCATAGCCTGCAGGTGCTGACCTGTTTCTGGCGCT GACCAGCGCGCTGCTGCTGGCGCTGATTTTATTACC CTGCTGTTTAGCGTGTGAAATGGATTGCAAAAAA TTCCGCATATTTTAAACAGCCGTTTAAAAAACCA CCGGCGCGGCGCAGGAAGAAGATGCGTGCAGCTGCC GCTGCCCGCAGGAAGAAGAAGGCGGCGGCGCGGC TATGAACTG	76
쥐과 CD137	MGNNCYNVVVIVLLLVGCEKVGAVQNSCDNCQPGTF CRKYNPVCKSCPPSTFSSIGGQPNICRVCAGYFRFKK FCSSTHNAECECIEGFHCLGPQCTRCEKDCRPGQELTK QGCKTCSLGTFFNDQNGTGVCRPWTNCSLDGRSVLKTG TTEKDVVCGPPVVSFSPSTTISVTPEGGPGGHSVLVTL FLALTSALLLALIFITLLFSVLKWRKKFPHFKQPFKKT GAAQEEDACSCRCPOEEGGGGYEL	77
인간 OX40	ATGTGCGTGGGCGCGCCGCTGGGCCGCGGCCCG TGCGCGCGCTGCTGCTGCTGGGCCTGGCCTGAGC ACCGTGACCGGCTGCATTGCGTGGGCGATACCTAT CCGAGCAACGATCGCTGCTGCCATGAATGCCGCCCC GGCAACGGCATGGTGAGCCGCTGCAGCCGAGCCAG AACACCGTGTGCCGCCGTCGGCCCGGGCTTTTATA ACGATGTGGTGAGCAGCAAACCGTGCAAACCGTGCA CCTGGTGCAAACCTGCGCAGCGGAGCGAACGCAAAC AGCTGTGCACCGGACCCAGGATACCGTGTGCCGCT GCCGCGCGGGCACCCAGCCGCTGGATAGCTATAAAC CGGGCGTGGATTGCGCGCCGTCGCCCGGGCCATT TTAGCCCGGGCGATAACCCAGGCGTGCAAACCGTGGA CCAACTGCACCCTGGCGGGCAAACATACCCTGCAGC CGGCGAGCAACAGCAGCGATGCGATTTGCGAAGATC GCGATCCGCGGGCGACCCAGCCGAGGAAACCCAGG GCCCGCGGCGCGCCGATTACCGTGCAGCCGACCC AAGCGTGGCCGCGCACCCAGCCAGGGCCCGAGCACCC GCCCGGTGGAAGTGCCGGGCGGCCGCGCGGTGGCGG CGATTCTGGGCTGGGCTGGTGTGGGCTGCTGG GCCCGCTGGCGATTCTGCTGGCGCTGTATCTGCTGG CCGCGATCAGCGCCTGCCGCCGATGCGCATAAACCC GCCGGGCGGCGGAGCTTTCGACCCCGATTACAGGA AGAACAGGCGGATGCGCATAGCACCCCTGGCGAAAAAT	78

[0757]

	T	
인간 OX40	MCV GARRLGRGP CAALLLGLGLSTVTGLHCVGDTYP SNDRCCHECRPGNGMVSRCRSRQNTVCRPCGPGFYND VVSSKPKPCTWCNLRSGSERKQLCTATQD TVCRRA GTQLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQACKPWTNCT LAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPATQPQETQGP PARPI TVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVL GLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQ EEQADAHSTLAKI	79
쥐과 OX40	ATGTATGTGTGGGTGCAGCAGCCGACCGCGCTGCTG CTGCTGGCGCTGACCTGGGCGTGACCGCGCGCCGC CTGAACTGCGTGAAACATACCTATCCGAGCGGCCAT AAATGCTGCCGGAATGCCAGCCGGCCATGGCATG GTGAGCCGCTGCGATCATAACCGCGATACCTGTGC CATCCGTGCGAAAACCGGCTTTTATAACGAAGCGGTG AACTATGATACCTGCAACAGTGCACCCAGTGCAAC CATCGCAGCGGCAGCGAACTGAAACAGAAGTGCACC CCGACCCAGGATACCGTGTGCCGTGCCGCCCGGC ACCCAGCCGCGCCAGGATAGCGGTATAAACTGGGC GTGGATTGCGTGCCGTGCCCGCCGGGCCATTTAGCC CGGGCAACAACAGCGGTGCAAAACCGTGGACCAACT GCACCTGAGCGGCAACAGACCCGCCATCCGGCGA GCGATAGCCTGGATGCGGTGTGCGAAGATCGCAGCC TGCTGGCGACCTGCTGTGGGAAACCCAGCGCCGA CCTTTCGCCGACCACCGTGCAGAGCACCACCGTGT GGCCGCGCACCAGCGAACTGCCGAGCCCGCCGACCC TGGTGACCCCGGAAGGCCCGCGTTCGCGGTGCTGC TGGGCCTGGGCCTGGGCCTGCTGGCGCCGCTGACCG TGCTGCTGGCGCTGTATCTGCTGCGCAAAGCGTGGC GCCTGCCGAACACCCCGAAACCGTGTGGGCAACA GCTTTCGCACCCCGATTAGGAAGAACAATACCGATG CGCATTTTACCCTGGCGAAAAAT	80
쥐과 OX40	MYVWVQPTALLLALTLGVTARRLNCVKHTYPSGH KCCRECQPGHGMVSRCDHTRDTLCHPCETGFYNEAVN YDTCKQCTQCNRHRSSELKQNCPTQD TVCRCPGTQ PRQDSGYKLGVDVPCPPGHFSPGNNQACKPWTNCTL SGKQTRHPASDSLDAVCEDRSLLATLLWETQRPTFRPT TVQSTTVWPRTSELSPPTLVTPGPAFVLLGLGLGLL APLTVLLALYLLRKA WRLPNTPKPCWGNFSFRTPIQEEH TDAHFTLAKI	81
인간 ICOS	ATGAAAAGCGGCCTGTGGTATTTTTTCTGTTTTGCC TGCGCATAAAGTGCTGACCGCGGAAATTAACGGCA GCGCGAACTATGAAATGTTATTTTTTCATAACGGCGG CGTGCA GATTCTGTGCAAATATCCGGATATTGTGCAG CAGTTTAAATGCAGCTGCTGAAAGGCGGCCAGATT CTGTGCGATCTGACAAAACCAAAGGCAGCGGCAAC ACCGTGAGCATTAAAAGCCTGAAATTTTGCCATAGC CAGCTGAGCAACAACAGCGTGAGCTTTTTCTGTATA ACCTGGATCATAGCCATGCGAACTATTATTTTGCAA CCTGAGCATTTTGATCCGCCCGCTTTAAAGTGACC CTGACCGGCGGCTATCTGCATATTTATGAAAGCCAG CTGTGCTGCCAGCTGAAATTTGGCTGCCGATTGGCT GCGCGCGGTTTGTGGTGGTGTGCATTCTGGGCTGCAT TCTGATTTGCTGGCTGACAAAAAAAATATAGCAG CAGCGTGATGATCCGAACGGCGAATATATGTTTAT GCGCGCGGTGAACACCGCGAAAAAAAAGCCGCTGAC CGATGTGACCCTG	82
인간 ICOS	MKSGLWYFFLFLRIKVL TGEINGSANYEMFIFHNGGV QILCKYPDIVQFKMQLLKGQILCDLTKTKGSGNTVSI KSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNL DSHANY YFCNLSIFDP PPFRVTLTG GYLHIYESQLCCQLKFWLPIGCAAFVVVCI	83

[0758]

	LGCILICWLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKS RLTDVTL	
쥐과 ICOS	ATGAAACCGTATTTTGGCCGCTGTTTGTGTTTGGCTT TCTGATTCGCCTGCTGACCGGCGAAATTAACGGCAG CGCGGATCATCGCATGTTTAGCTTTCATAACGGCGGC GTGCAGATTAGCTGCAAATATCCGAAACCGTGCAG CAGCTGAAAATGCGCCTGTTTCGGAAACGGGAAGTG CTGTGCGAACTGACCAAAAACCAAGGCAGCGGCAAC GCGGTGAGCATTAAAAACCCGATGCTGTGCCTGTAT CATCTGAGCAACAACAGCGTGAGCTTTTTTCTGAACA ACCCGGATAGCAGCCAGGGCAGCTATTATTTTTCGA GCCTGAGCATTTTTGTATCCGCCCGCTTTCAGGAACG CAACCTGAGCGGCGCTATCTGCATATTTATGAAAG CCAGCTGTGCTGCCAGCTGAAACTGTGGCTGCCGGT GGCTGCGCGGCGTTTGTGGTGGTGTGCTGTTTGGC TGCACTCTGATTATTTGGTTTAGCAAAAAAAATATG GCAGCAGGTGCATGATCCGAACAGCGAATATATGT TTATGGCGGCGGTGAACACCAACAAAAAAGCCGCC TGGCGGCGGTGACCAGC	84
쥐과 ICOS	MKPYFCRVFVFCFLIRLLTGEINGSADHRMFSFHNGGV QISCKYPETVQQLKMRLFREREVLCELTKKSGSNAVS IKNPMLCLYHLNNNSVFFLNPNPDSQGSYYFCSLSIFDP PPFQERNLSGGYLHIYESQLCCQLKLWLPVGCAAFVVV LLFGCILIIWFSKKKYGSSVHDPNSEYMFMAAVNTNKK SRLAGVTS	85
인간 DAP10	ATGATTCATCTGGGCCATATTCTGTTTCTGCTGCTGC TGCCGGTGGCGGCGGCGCAGACCACCCGGGCGAAC GCAGCAGCCTGCCGGCGTTTATCCGGGCACCAGCG GCAGCTGCAGCGGCTGCGGCAGCCTGACCTGCCGC TGCTGGCGGCGCTGTTGGCGGCGGATGCGGTGCGGA GCCTGCTGATTGTGGGCGCGGTGTTTCTGTGCGCGC CCCGCGCCGAGCCCGGCGCAGGAAGATGGCAAAGT GTATATTAACATGCCGGGCCGCGGC	86
인간 DAP10	MIHLGHILFLLLLPVAQAQTTPGERSSLPAPYPGTSGSCS GCGSLSLPLLAGLVAADAVASLLIVGAVFLCARPRRSP AQEDGKVYINMPGRG	87
쥐과 DAP10	ATGGATCCGCGGGCTATCTGCTGTTTCTGCTGCTGC TGCCGGTGGCGGCGAGCCAGACCAGCGCGGGCAGCT GCAGCGGTGCGGCACCCTGAGCCTGCCGCTGCTGG CGGGCCTGGTGGCGGCGGATGCGGTGATGAGCCTGC TGATTGTGGGCGTGGTGTGTTGTGTGCATGCGCCGCA TGCCCGCCCGGCGCAGGAAGATGGCCGCGTGTATAT TAACATGCCGGGCCGCGGC	88
쥐과 DAP10	MDPPGYLLFLLLLPVAASQTSAGSCSGCGLSLPLL VAADAVMSLLIVGVFVCMRPHGRPAQEDGRVYINMP GRG	89
인간 DAP12	ATGGGGGACTTGAACCCTGCAGCAGGCTCCTGCTC CTGCCTCTCCTGCTGGCTGTAAGTGGTCTCCGCTCCTG TCCAGGCCAGGCCAGAGCGATTGCAGTTGCTCTA CGGTGAGCCCGGGCGTGTGGCAGGGATCGTGATGG GAGACCTGGTGTGACAGTGCTCATTGCCCTGGCCGT GTACTTCTGGGCCGGCTGGTCCCTCGGGGGCGAGG GGCTGCGGAGGCAGCGACCCGAAACAGCGTATCAC TGAGACCGAGTCGCCTTATCAGGAGCTCCAGGGTCA GAGGTGGATGTCTACAGCGACCTCAACACACAGAG GCCGTATTACAAATGA	90
인간 DAP12	MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSGLRPVQAQAQSDCSCSTV SPGVLAGIVMGDLVTLVLIALAVYFLGRLVPRGRGA AATRQORITETESPYQELQGQRSDVYSDLNTQRPYYK	91
쥐과 DAP12	ATGGGGGCTCTGGAGCCCTCCTGGTGCCTTCTGTTCC TTCCTGTCTCCTGACTGTGGGAGGATTAAGTCCCGT	92

[0759]

	ACAGGCCAGAGTGACACTTTCCCAAGATGCGACTG TTCTTCCGTGAGCCCTGGTGTACTGGCTGGGATTGTT CTGGGTGACTTGGTGTGACTCTGCTGATTGCCCTGG CTGTGTACTCTCTGGGCCGCTGGTCTCCCGAGGTCA AGGGACAGCGGAAGGGACCCGGAACAACACATTG CTGAGACTGAGTCGCCTTATCAGGAGCTTCAGGGTC AGAGACCAGAAGTATACAGTGACCTCAACACACAGA GGCAATATTACAGATGA	
쥐과 DAP12	MGALEPSWCLLFLPVLLTVGGLSPVQAQSDTFPRCDCS SVSPGVLAVLGDVLLVLLIALAVYSLGRLVSRGQGT AEGTRKQHIAETESPYQELQGORPEVYSDLNTRQYYR	93
인간 CD3z	MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLDDGI LFIYGVILTALFLRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELN LGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKQRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQLPPR	94
인간 CD3z	ATGAAGTGGAAAGCGCTTTTCACCGCGCCATCCTG CAGGCACAGTTGCCGATTACAGAGGCACAGAGCTTT GGCTGTGCTGGATCCCAAACCTGTACTCTGGATG GAATCCTTTCATCTATGGTGTCTTCTACTGCCTT GTTCTGAGAGTGAAGTTACAGCAGGAGCGCAGAGCC CCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAA CGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGT TTTGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCAGAGATGGG GGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCC TGTACAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGG CCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGCGAGCGCCGGA GGGCAAGGGCAGGATGGCCTTACCAGGGTCTCA GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTCACA TGCAGGCCCTGCCCTCGCTAA	95
쥐과 CD3z	MKWKVSVLACILHVRFPAGEAQSFGLLDPKLCYLDDGI LFIYGVILTALYLRAKFSRSAAETANLQDPNQLYNELN GRRREYDVLKRRARDPEMGGKQRRRNPEGVYNA LQKDKMAEAYSEIGTKGERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQLAPR	96
쥐과 CD3z	ATGAAGTGGAAAGTGTCTGTTCTCGCCTGCATCCTCC ACGTGCGGTTCCCAGGAGCAGAGGCACAGAGCTTTG GTCGTGCTGGATCCCAAACCTGTACTTGTAGATGG AATCCTTTCATCTACGGAGTCATCATCACAGCCCTG TACCTGAGAGCAAAATTCAGCAGGAGTGCAGAGACT GCTGCCAACCTGCAGGACCCCAACCAGCTCTACAAT GAGCTCAATCTAGGGCGAAGAGAGGAATATGACGTC TTGAGAAGAAGCGGGCTCGGGATCCAGAGATGGG AGGCAACAGCAGAGGAGGAGGAACCCCAAGGAAG GCGTATACAATGCACTGCAGAAAGACAAGATGGCAG AAGCCTACAGTGAGATCGGCACAAAAGCGAGAGG CGGAGAGGCAAGGGCAGGATGGCCTTACCAGGGT CTCAGCACTGCCACCAAGGACACCTATGATGCCCTG CATATGCAGACCTGGCCCTCGCTAA	97
인간 FCGR3A	MWQLLLPTALLLVSAAGMRTEDELPKAVVFLPQWYRV LEKDSVTLKCGGAYSPEDNSTQWFHNESSQASSYFI DAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLQAP RWVFKKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYF HHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLFGSKNVSETVNITI TQGLAVSTISSFFPPGYQVSFCLVMVLLFAVDGTGLYFSV KTNIRSSSTRDWKDHKFKWRKDPQDK	98
인간 FCGR3A	ATGTGGCAGCTGCTGCTGCCGACCGCGCTGCTGCTGC TGGTGAGCGCGGGCATGCGCACCGAAGATCTGCCGA AAGCGGTGGTGTCTTGGAAACCGCAGTGGTATCGCG TGCTGGAAAAGATAGCGTGACCCTGAAATGCCAGG GCGCGTATAGCCCGGAAGATAACAGCACCCAGTGGT	99

[0760]

	TTCATAACGAAAGCCTGATTAGCAGCCAGGCGAGCA GCTATTTTATTGATGCGGCGACCGTGGATGATAGCG GCGAATATCGCTGCCAGACCAACCTGAGCACCTGA GCGATCCGGTGCAGCTGGAAGTGCATATTGGCTGGC TGCTGCTGCAGGCGCCGCGCTGGGTGTTAAAGAA AAGATCCGATTTCATCTGCGCTGCCATAGCTGGA ACACCGCGCTGCATAAAGTGACCTATCTGCAGAACG GCAAAGGCCGCAAATATTTTCATCATAACAGCGATT TTTATATCCGAAAAGCGACCTGAAAGATAGCGGCA GCTATTTTGGCCGCGCCTGTTTGGCAGCAAAAACGT GAGCAGCGAAAACCGTGAACATTACCATACCCAGGG CCTGGCGGTGAGCACCATTAGCAGCTTTTTCCGCCG GGCTATCAGGTGAGCTTTTGCCTGGTGTGGTGTCTG TGTTTGGCGTGGATACCGCCTGTATTTAGCGTGAA AACCAACATTTCGAGCAGCACCCGCGATTGGAAGA TCATAAAATTTAAATGGCGCAAAGATCCCGAGGATA A	
쥐 과 FCGR3A	MFQNAHSGSQWLLPPLTILLFADFDRQSAALPKAVVK LDPPWIQVLKEDMVTLMCEGTHNPGNSSTQWFHNGRS IRSQVQASYTFKATVNDSEYRCQMEQRLSDPVDLG VISDWLLQTPQRVLEGETITLRCHSWRNKLLNRISFF HNEKSVRYHHYKSNFSIPKANHSKSHGDIYCKGSLGSTQ HQSKPVTITVQDPATSSISLVWYHTAFSLVMCLLFAV DTGLYFYVRRNLQTPREYWRKSLSRKHQAPQDK	100
쥐 과 FCGR3A	ATGTTTCAGAAATGCACACTCTGGAAGCCAATGGCTA CTTCCACCACTGACAATCTGCTGCTGTTTGGCTTTTGC AGACAGGCAGAGTGCAGCTTCCGAAGGCTGTGGT GAAACTGGACCCCATGGATCCAGGTGCTCAAGGA AGACATGGTGACACTGATGTGCGAAGGGACCCACAA CCCTGGGAACTCTTCTACCCAGTGGTTCCACAACGGG AGGTCCATCCGGAGCCAGGTCCAAGCCAGTTACAG TTTAAAGGCCACAGTCAATGACAGTGGAGAATATCGG TGTCAAATGGAGCAGACCCGCCTCAGCGACCCTGTA GATCTGGGAGTGATTCTGACTGGCTGCTGCTCCAGA CCCCCTCAGCGGGTGTCTTGGAAAGGGGAAACCATCA CGCTAAGGTGCCATAGCTGGAGGAACAACTACTGA ACAGGATCTCATTCTTCCATAATGAAAAATCCGTGA GGTATCATCACTACAAAAGTAATTTCTCTATCCCAA AGCCAACCACAGTCACAGTGGGGACTACTACTGCAA AGGAAAGTCTAGGAAAGTACACAGCACCAAGTCCAAGCC TGTCACCATCACTGTCCAAGATCCAGCAACTACATCC TCCATCTCTCTAGTCTGGTACCACACTGCTTTTCCCT AGTGATGTGCCTCCTGTTTGCAGTGGACACGGGCCTT TATTCTACGTACGGAGAAATCTTCAAACCCCGAGG GAGTACTGGAGGAAGTCCCTGTCAATCAGAAAGCAC CAGGCTCCTCAAGACAAGTGA	101
인간 NKG2D	MGWIRRRSRHSWEMSEFHNYNLDLKKSDFSTRWQK QRCPVVKSRENASPPFFCFIIVAMGIRFIIMVAIWS AVFLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCPNWICYKNNCYQF FDESKNWWYESQASCMQNASLLKVYSKEDQDLLKLVK SYHWMGLVHIPTNGSWQWEDGSILSPNLLTIEMQKGD CALYASSFKGYIENCSTPNTYICMQRTV	102
인간 NKG2D	ATGGGCTGGATTGCGGCGCCGCGCAGCCGCATAGC TGGGAAATGAGCGAATTCATAACTATAACCTGGAT CTGAAAAAAGCGATTTAGCACCCGCTGGCAGAAA CAGCGCTGCCGCTGGTGAAGCAAAATGCCGCGAA AACGCGAGCCGTTTTTTTTTGTGCTTTATTGCGGT GGCGATGGGCATTGCTTTATTATTATGGTGGCGATT TGGAGCGCGGTGTTTCTGAACAGCCTGTTAACAG GAAGTGCAGATTCCGCTGACCGAAAGCTATTGCGGC CCGTGCCGAAAAAAGTGGATTGCTATAAAAACAAC	103

[0761]

	TGCTATCAGTTTTTTGATGAAAGCAAAAAGCTGGTATG AAAAGCCAGGCGAGCTGCATGAGCCAGAACGCGAGC CTGCTGAAAGTGTATAGCAAAGAAGATCAGGATCTG CTGAAACTGGTGAAAAGCTATCATTGGATGGGCTG GTGCATATTCGACCAACGCGCAGCTGGCAGTGGGAA GATGGCAGCATTCTGAGCCCGAACCTGCTGACCATT ATTGAAATGCAGAAAGGCGATTGCGCGCTGTATGCG AGCAGCTTTAAAGGCTATATTGAAAAGCTGAGCACC CCGAACACCTATATTTGCATGCGAGCGCACCGTG	
취과 NKG2D	MALIRDRKSHHSEMSKCHNYDLKPAKWDTSQEQKQ RLALTTSPGENGIIRGRYPKIEKLIKSPMFVVRVLAIALA IRFTLNTLMWLAIFKETFPVLCNKEVPVSSREGYCGPC PNNWICHRNNCYQFFNEEKTWNQSQASCLSQNSSLLKI YSKEEQDFLKLKSYHWMGLVQIPANGSWQWEDGSS LSYNQLTLVEIPKGSACAVYGSSFKAYTEDCANLNTYIC MKRAV	104
취과 NKG2D	ATGGCGCTGATTCGCGATCGCAAAAAGCCATCATAGC GAAATGAGCAAATGCCATAACTATGATCTGAAACCG GCGAAATGGGATACCAAGCCAGAACAGCAGAAACA GCGCCTGGCGCTGACCACCAGCCAGCCGGGGGAAAA CGGCATTATTCGCGCGCGCTATCCGATTGAAAAACT GAAAATTAGCCCGATGTTTGTGGTGGCGCTGCTGGC GATTGGCGTGGCGATTTCGCTTTACCCTGAACACCCTG ATGTGGCTGGCGATTTTTAAAGAAACCTTTCAGCCGG TGCTGTGCAACAAAGAAGTGCCGGTGAGCAGCCGCG AAGGCTATTGCGGCCCGTGCCCGAACAACTGGATTT GCCATCGCAACAACCTGCTATCAGTTTTTAAACGAAGA AAAAACCTGGAACCAGAGCCAGCCGAGCTGCTGAG CCAGAACAGCAGCCTGCTGAAAATTTATAGCAAAGA AGAACAGGATTTTCTGAAAAGTGGTAAAAGCTATCA TTGGATGGGCTGGTGCAGATTCCGGCGAACGGCAG CTGGCAGTGGGAAGATGGCAGCAGCCTGAGCTATAA CCAGCTGACCCTGGTGGAAATTCGAAAGGCAGCTG CGCGGTGTATGGCAGCAGCTTTAAAGCGTATACCGA AGATTGCGCGAACCTGAACACCTATATTTGCATGAA ACGGCGGGTG	105
CD28 YMNM	YMNM	106
CD28 PYAP	PYAP	107
CD28 FMNM	FMNM	108
CD28 AYAA	AYAA	109
신호 펩티드	ATMGWSCIIFLVATATGVHS	110
신호 펩티드 DNA 서열	ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAA CAGTACCGGTGTGCACTCC	111
항-CD20 (GA101) 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYAFSYSWINWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDIDYNGKFKGRVITADK STSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARNVFDGYWLVYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKT HTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIV DKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	112
항-CD20 (GA101) 경쇄	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHNSGITYLYW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLSVGPDRFSGSGSDFTL KISRVEAEDVGVVYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYE	113

[0762]

	KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
항-FAP(4B9) PGLALA 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKGFVGGFNYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT PCPAPAEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLS SPGK	114
항-FAP(4B9) 경쇄	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQ KPGQAPRLLINVGSRRTATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	115
항-CEA (A5B7) PGLALA 중쇄	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRLSCAASGFTVSSYWMH WVRQAPGKGLEWVGFIRNKANGGTTTEYAASVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARDRLR FYFDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLGTQTYICNVNHHK PSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPAEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLS LSLSPGK	116
항-CEA (A5B7) 경쇄	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRGINVGAYSII WYQQKPGSPQYLLRYKSDSDKQQGSGVSSRFSA SKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHS GASAVFGGGTKLTVLRVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC	117
항-CEA (T84.66LCHA) PGLALA 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDY MHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVPKFQ GRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC APFGYVSDYAMAYWGQGTTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKEPKSC DKTHTCPPCPAPAEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQ KLSLSLSPGK	118
항-CEA (T84.66LCHA) 경쇄	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAGESVDIFG VGLHWYQKPGQAPRLLIYRASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTNE DPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	119
항-CEA (CH1A1A98/992F1) PGLALA 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTE FGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYV EEFKGRVFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG	120

[0763]

	CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPEAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA PIEKTKAKAQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK	
항-CEA (CH1A1A98/992F1) 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASAAVGTYYVAWYQ QKPGKAPKLLIYSASYSRKRGVPSRFSGSGSDTFTLTISS LQPEDFATYYCHQYYTYPLFTFGQGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	121
항-CEA (hMN14) PGLALA 중쇄	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCASAGFDFTYWMSWV RQAPGKGLEWIGIEIHPDSSSTINYAPSLKDRFTISRDN NTLFLQMDSLRPEDTGVYFCASLYFGFPWFAYWGQGT PVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	122
항-CEA (hMN14) 경쇄	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTSVAWYQQ KPGKAPKLLIYWTSRHTGVPSRFSGSGSDTFTFTISSL QPEDIATYYCQYSLYRSFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	123
항-TNC (2B10) PGLALA 중쇄	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIFGTANYAQKFGQGRVITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLYGYAAYGAFDYW GQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLS VTVVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPEAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEK TISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	124
항-TNC (2B10) 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQ KPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYYCLQNGLQPAFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	125
항-HER2 (PER) PG LALA 중쇄 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDV RQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDR SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSTFYFDYWG QGTLYTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSV VTVVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPEAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCV VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEK ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY	126

[0764]

	SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
항-HER2 (PER) 경쇄 1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQ KPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFLTISL QPEDFATYYCQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	127
항-HER2 (PER) PG LALA 중쇄 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTDTYMDWV RQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYRFRKGRFTLSVDR SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	128
항-HER2 (PER) 경쇄 2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQQ KPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFLTISL QPEDFATYYCQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	129
인간 IgG1 Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	130

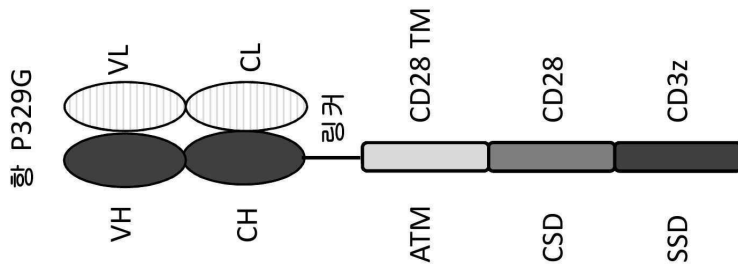
[0765]

[0766]

* * *

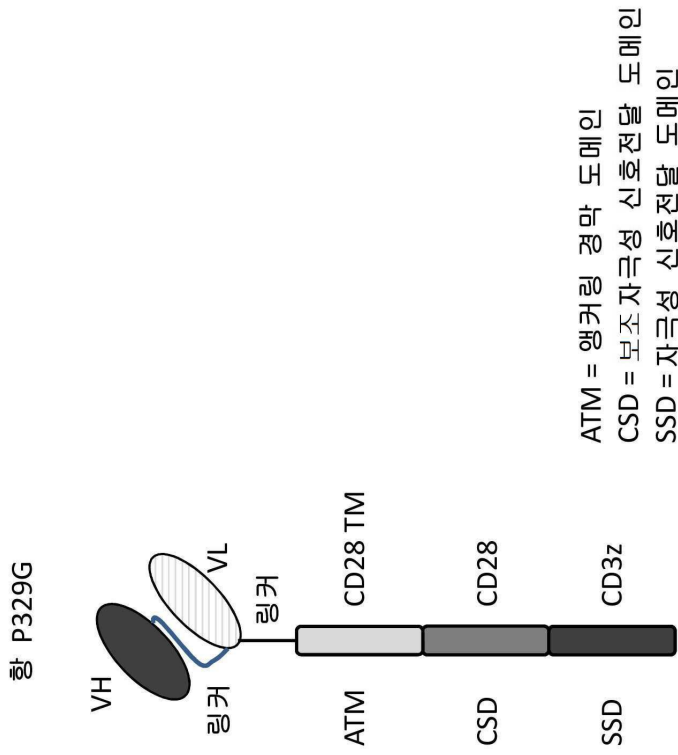
도면
도면1

도 1B



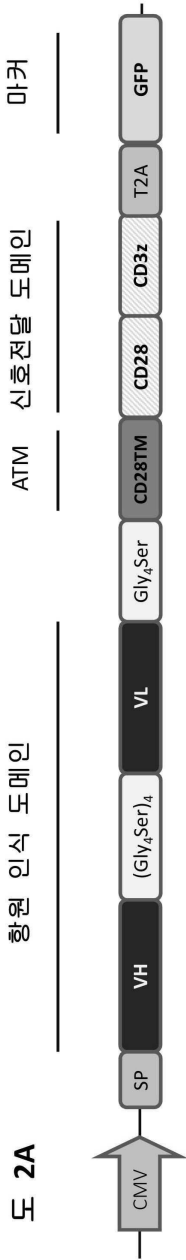
Fab 포맷

도 1A



scFv 포맷

도면2



CMV = 사이토메갈로바이러스 프로모터

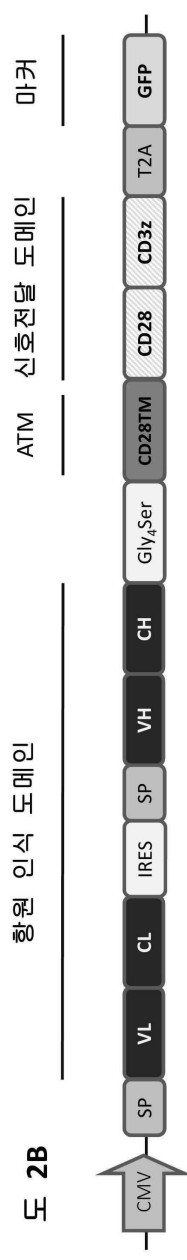
SP= 신호 펩티드

VH = 가변 중쇄

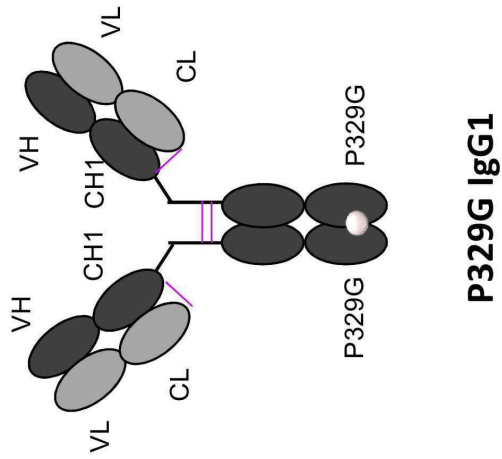
VL = 가변 경쇄

TM = 경막 도메인

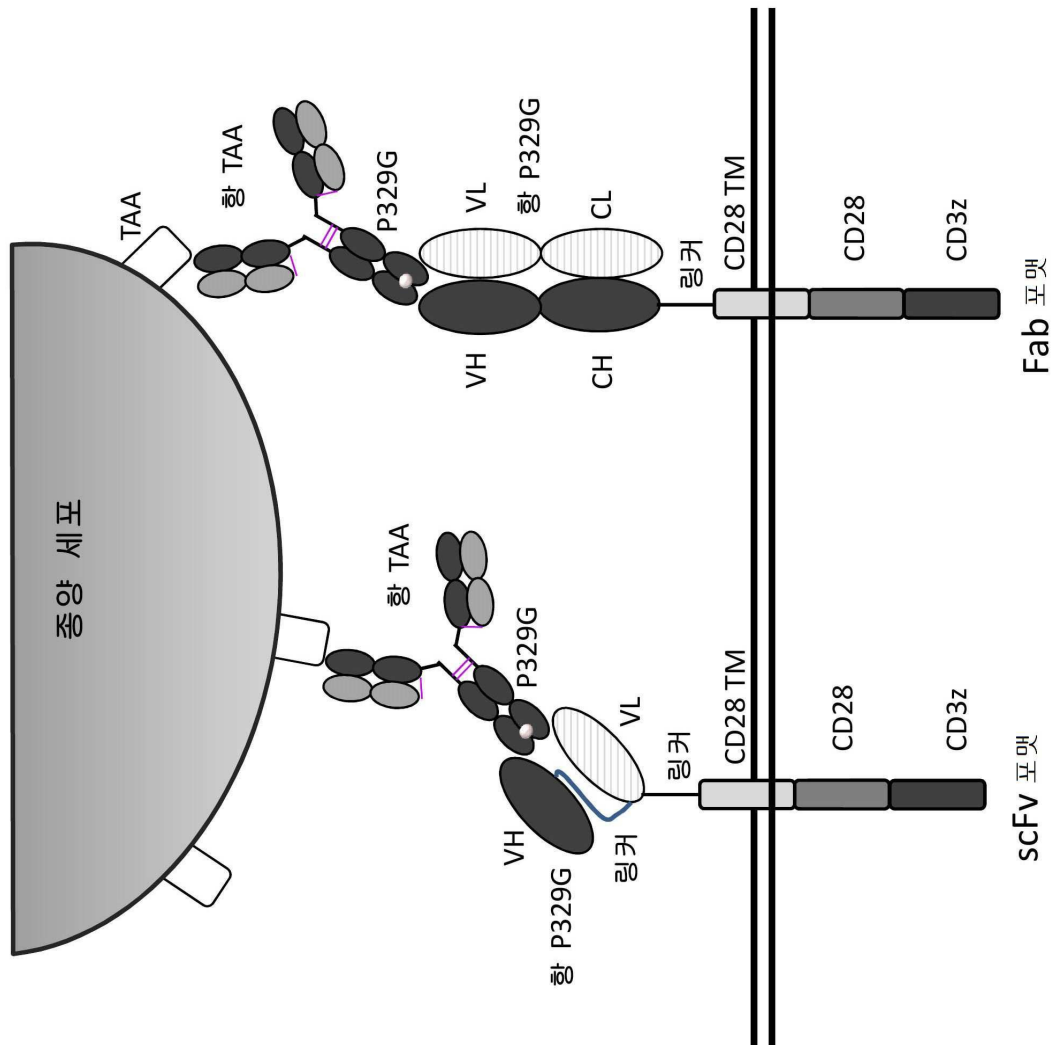
IRES= 내부 리보솜 진입 부위



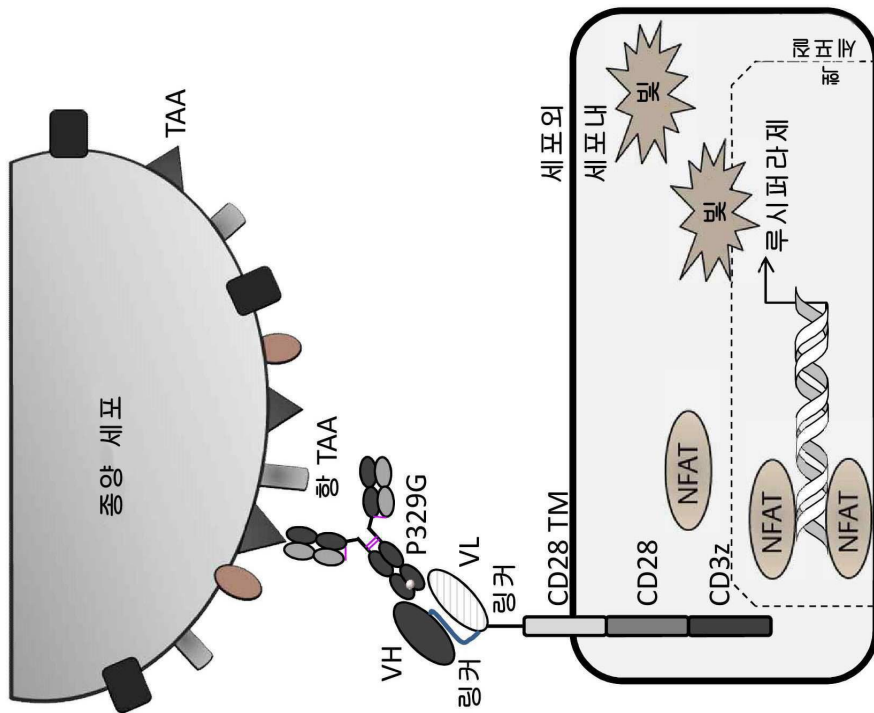
도면3



도면4



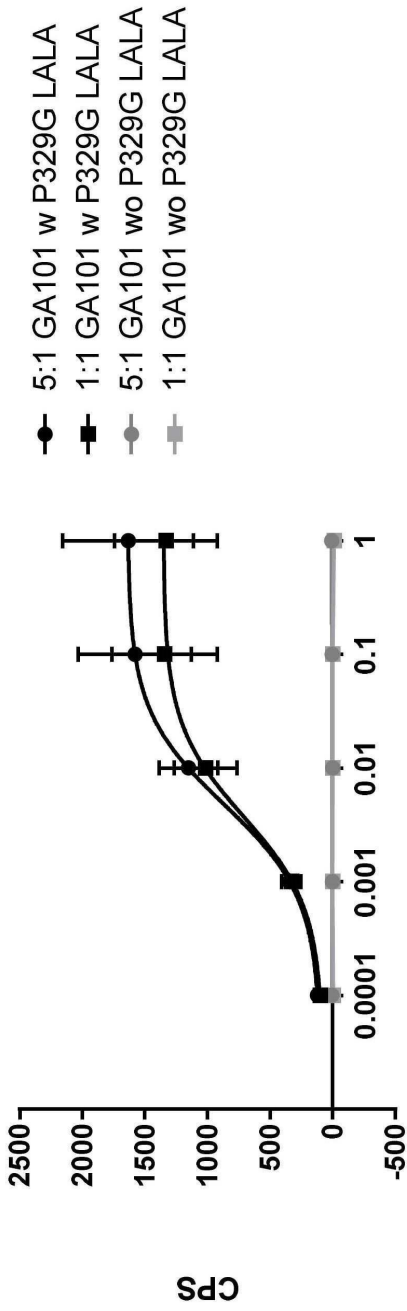
도면5



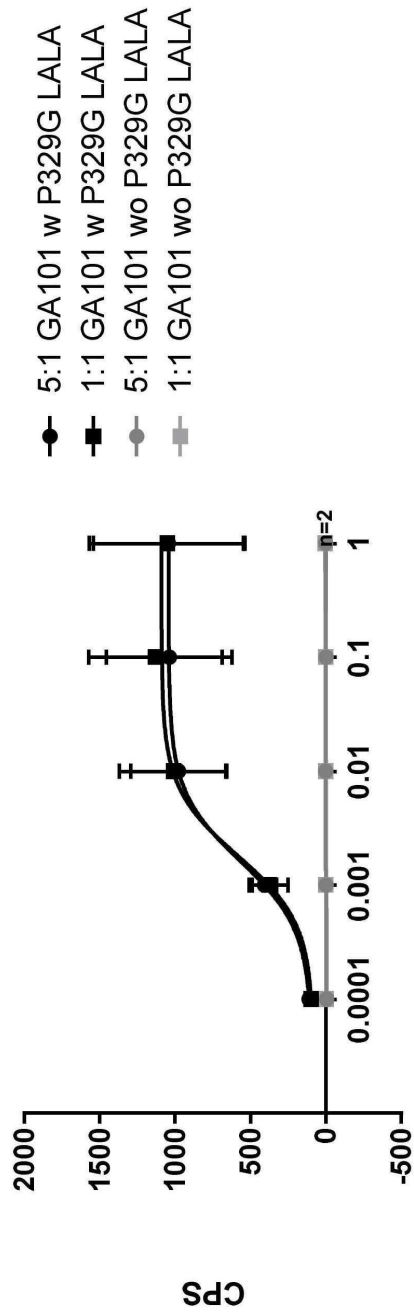
저카트 NFAT T 세포

도면6

도 6A 항 P329G ds Fab 저카트 NFAT T 세포 풀 (기준선 보정됨)



도 6B 항 P329G ds scFv 저카트 NFAT T 세포 풀 (기준선 보정됨)

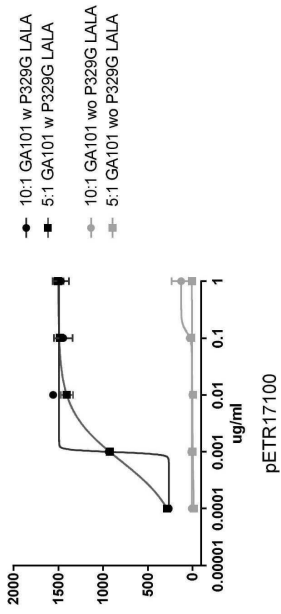


도면7

도 7C

항 P329G ds Fab 지카트 NFAT T 세포 클론 5

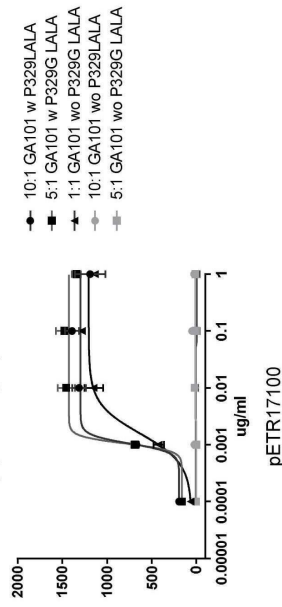
SUDHL4
(기준선 보정됨)



도 7D

항 P329G ds Fab 지카트 NFAT T 세포 클론 2

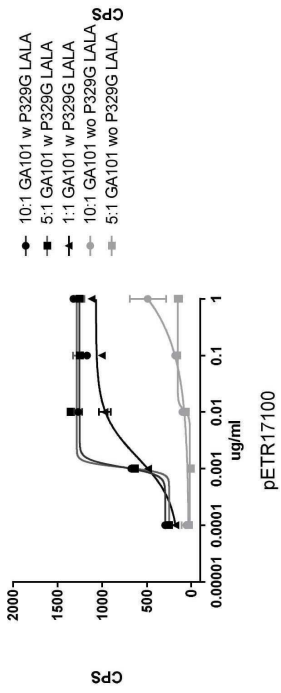
SUDHL4
(기준선 보정됨)



도 7A

항 P329G ds Fab 지카트 NFAT T 세포 클론 5

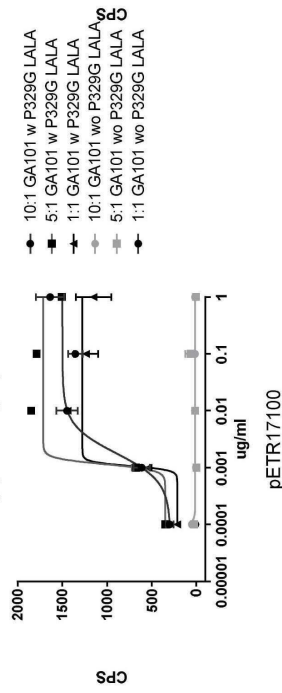
WSUDLCL2
(기준선 보정됨)



도 7B

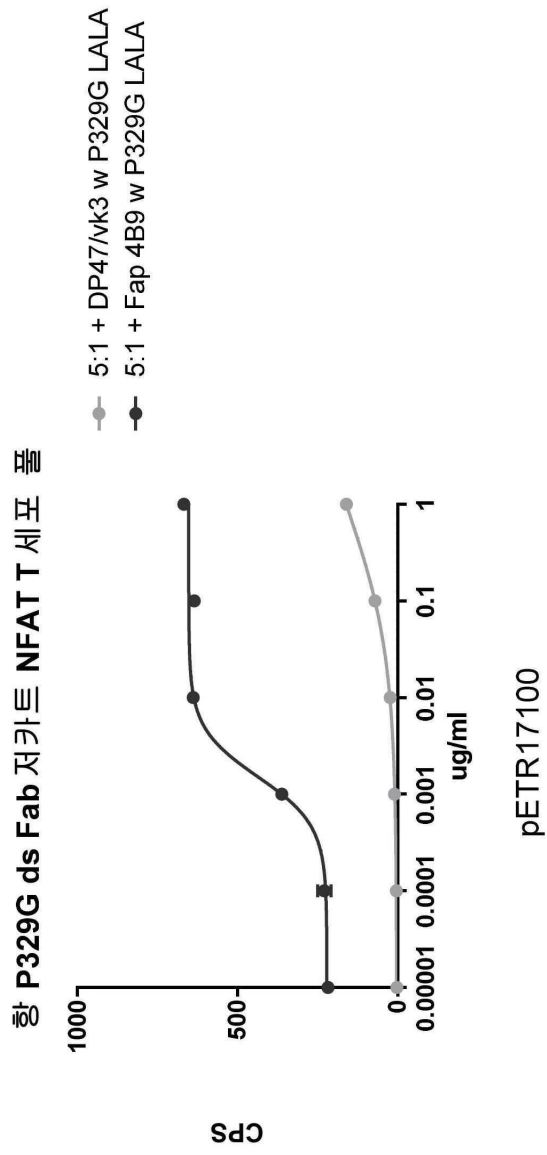
항 P329G ds Fab 지카트 NFAT T 세포 클론 2

WSUDLCL2
(기준선 보정됨)



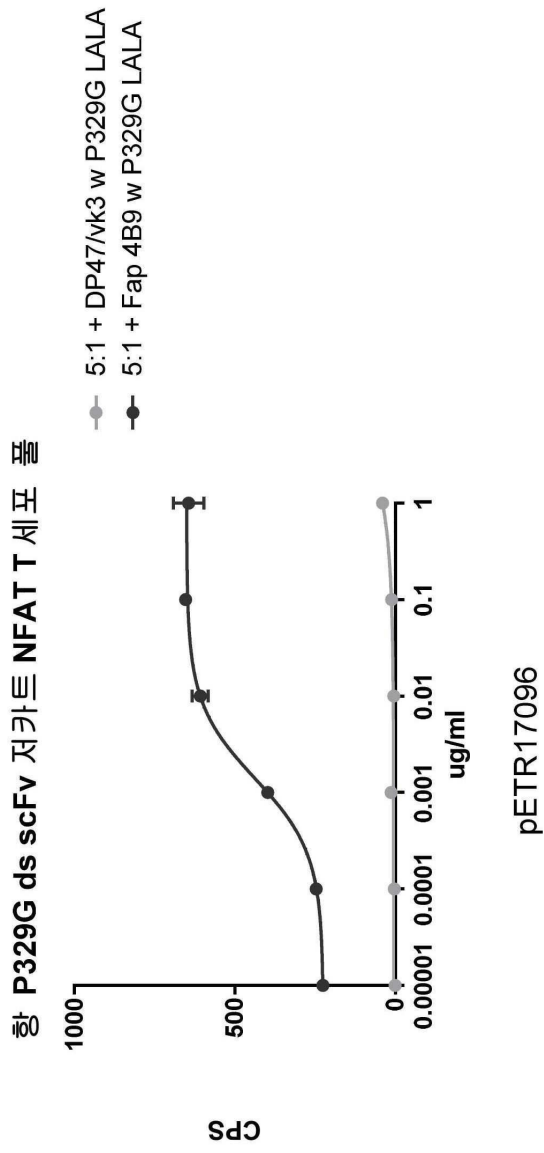
도면8a

도 8A



도면 8b

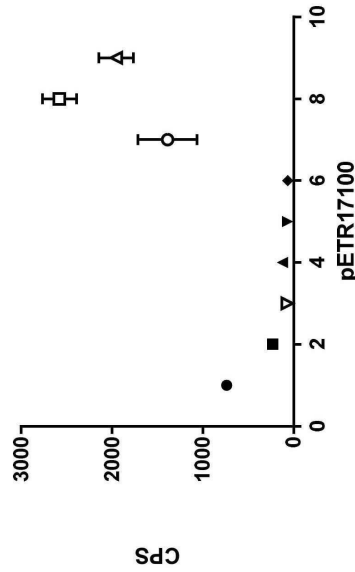
도 8B



도면8c

도 8C

항 P329G ds Fab 지카트 NFAT T 세포 풀 대조군

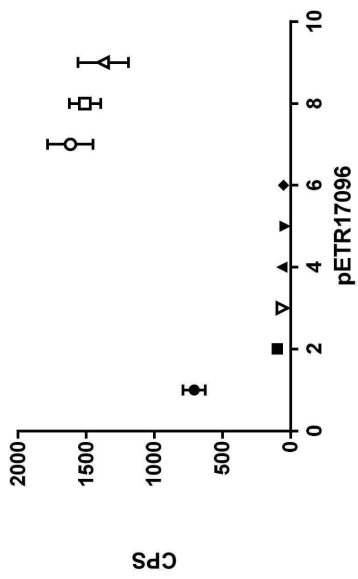


- CAR+ 표적 + Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml
- CAR+ 표적 + DP47/Mk3 w P329G LALA 1ug/ml
- ▲ CAR+ Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml wo 표적 세포
- ▼ 표적 +Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml
- ◆ 지카트 + Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml + 표적 세포
- CD3+ 지카트 + Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml+ 표적 세포
- CD3+CAR+ Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml + 표적 세포
- △ CD3+CAR+ DP47 w P329G LALA 1ug/ml + 표적 세포
- ▽ CAR + 표적 wo P329G LALA

도면8d

도 8D

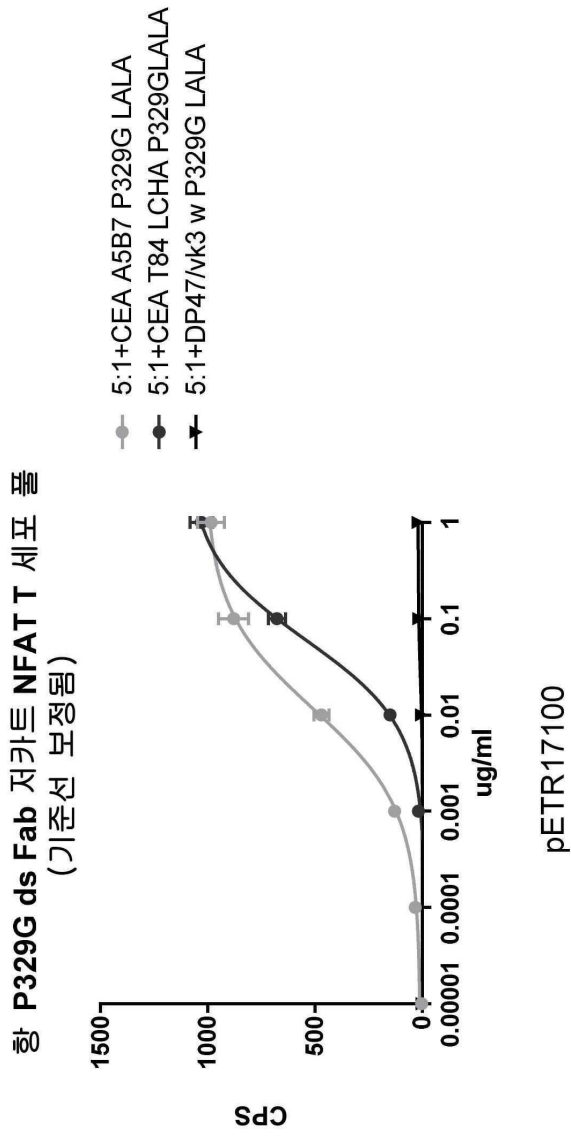
항 P329G ds scFv 지카트 NFAT T 세포 풀 대조군



- CAR + 표적 + Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml
- CAR+ 표적 + DP47/Mk3 w P329G LALA 1ug/ml
- ▲ CAR+ Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml wo 표적 세포
- ▼ 표적+Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml
- ◆ 지카트 + Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml + 표적
- CD3+지카트+ Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml+ 표적 세포
- CD3+CAR+ Fap 4B9 w P329G LALA 1ug/ml + 표적 세포
- △ CD3+CAR+ DP47 w P329G LALA 1ug/ml + 표적 세포
- ▽ CAR + 표적 wo P329G LALA

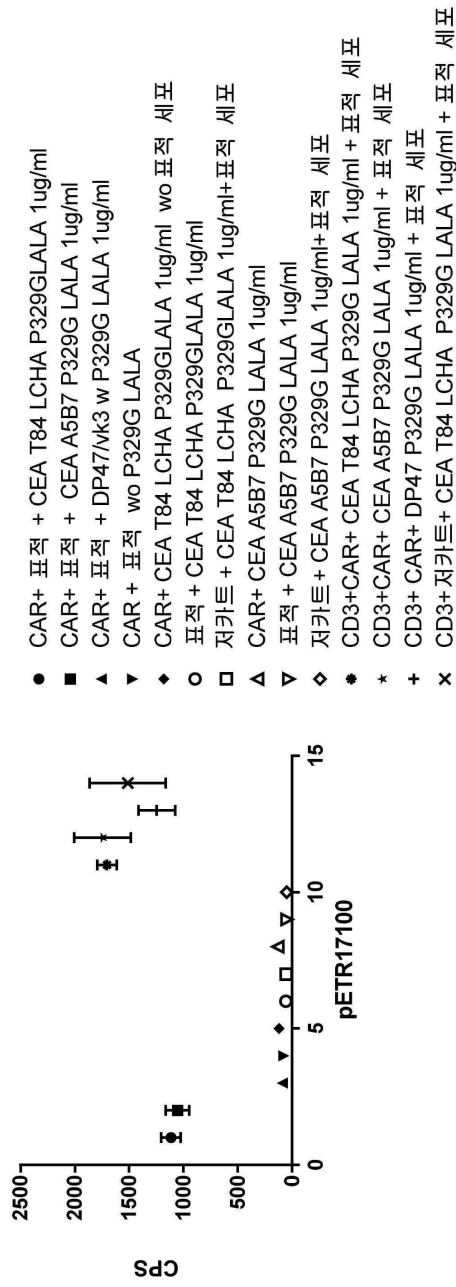
도면9a

도 9A



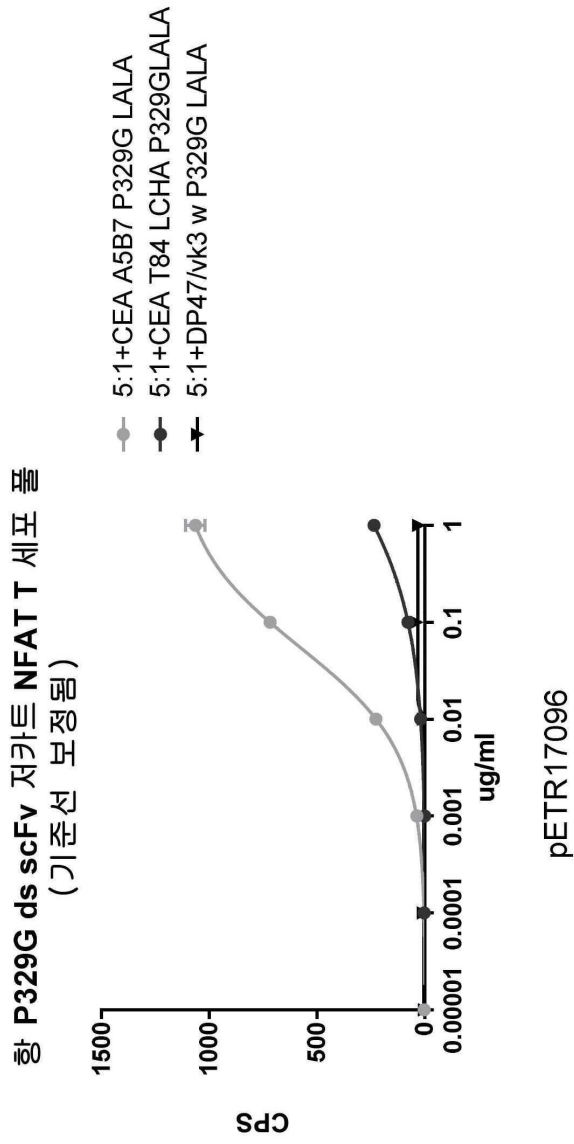
도 9B

항 P329G ds Fab 지카트 NFAT T 세포 풀 대조군



도면9c

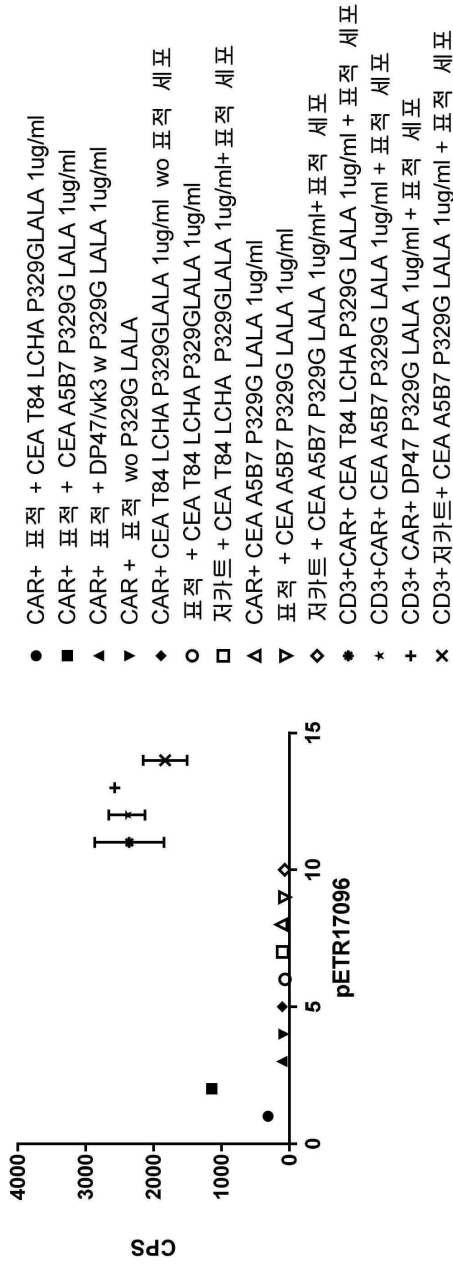
도 9C



도 9D

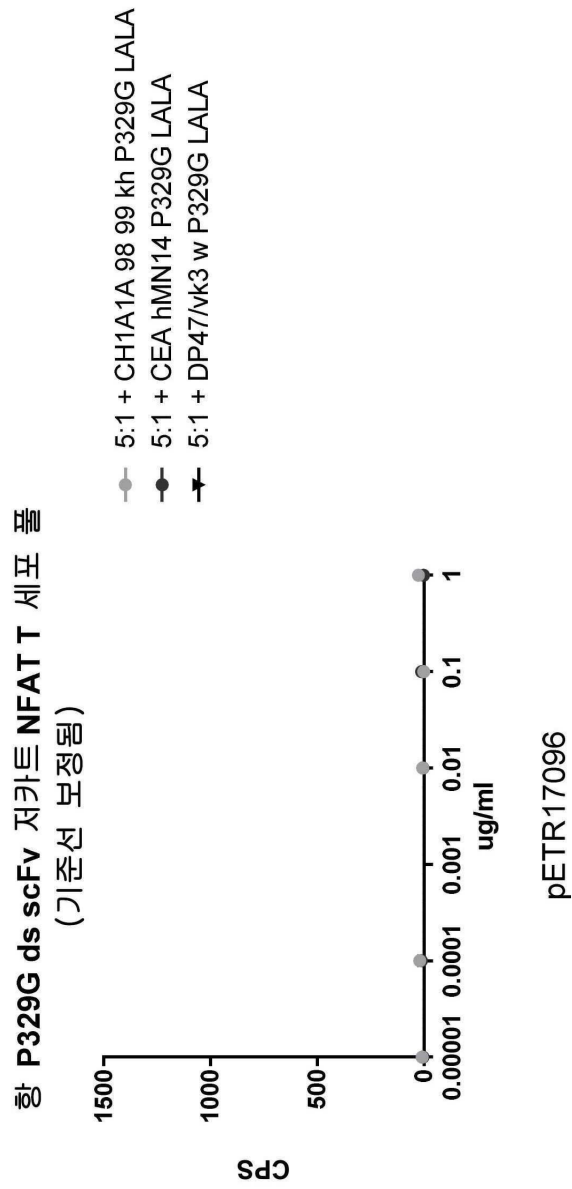
도면9d

항 P329G ds scFv 지카트 NFATT 세포 폴 대조군



도면10a

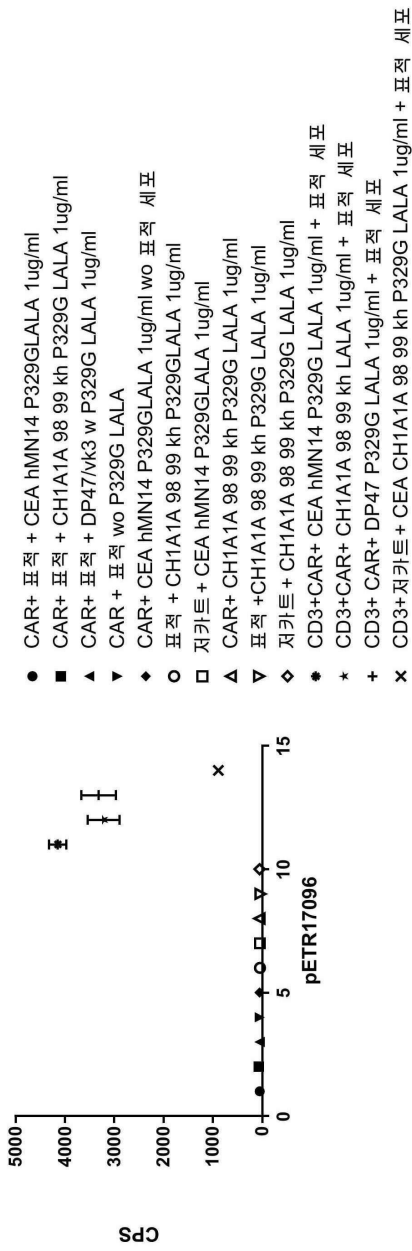
도 10A



도면10b

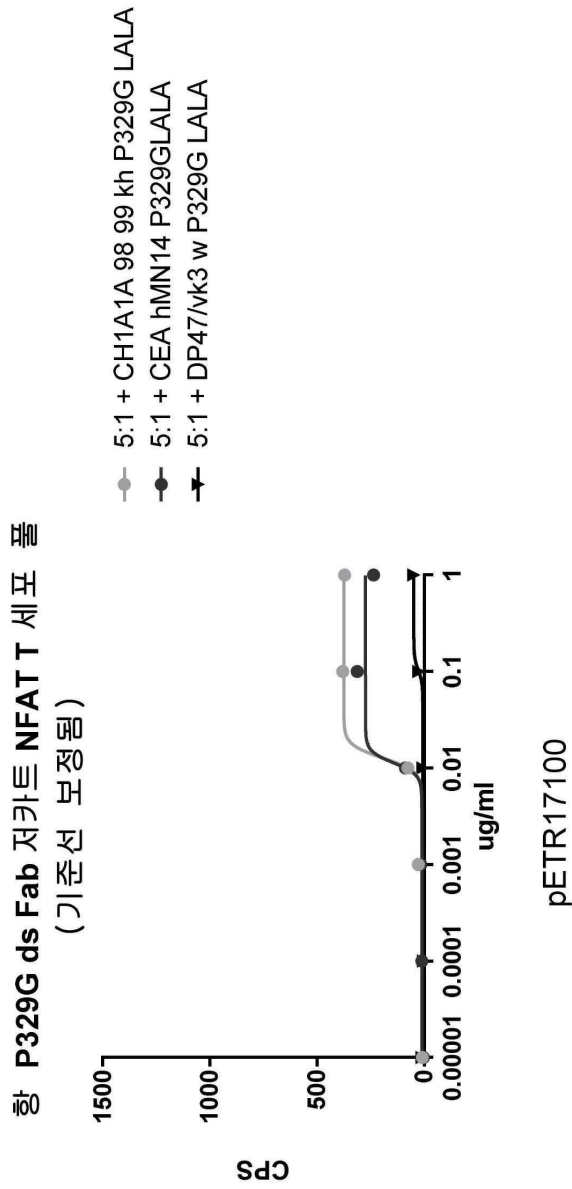
도 10B

항 P329G ds scFv 지카트 NFAT T 세포 플 대조군



도면10c

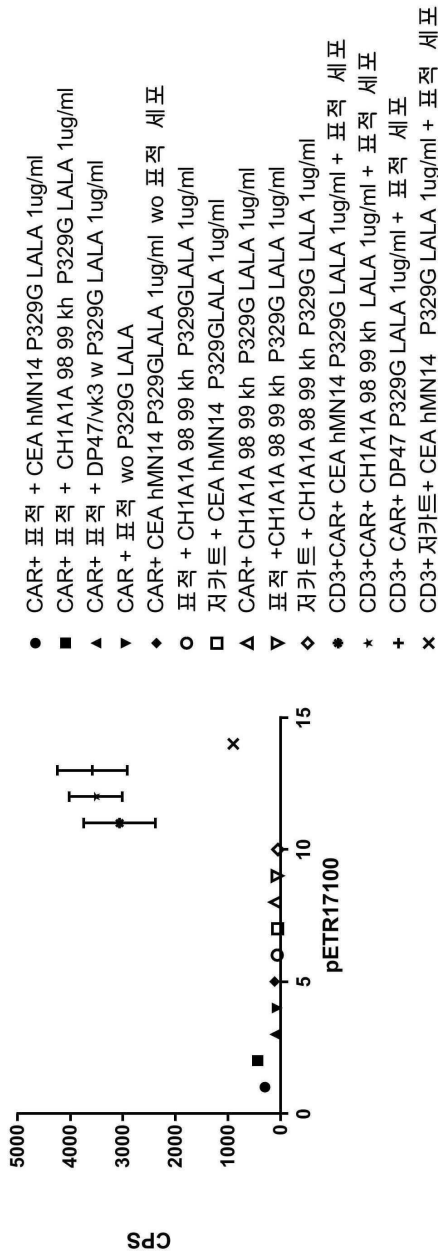
도 10C



도면10d

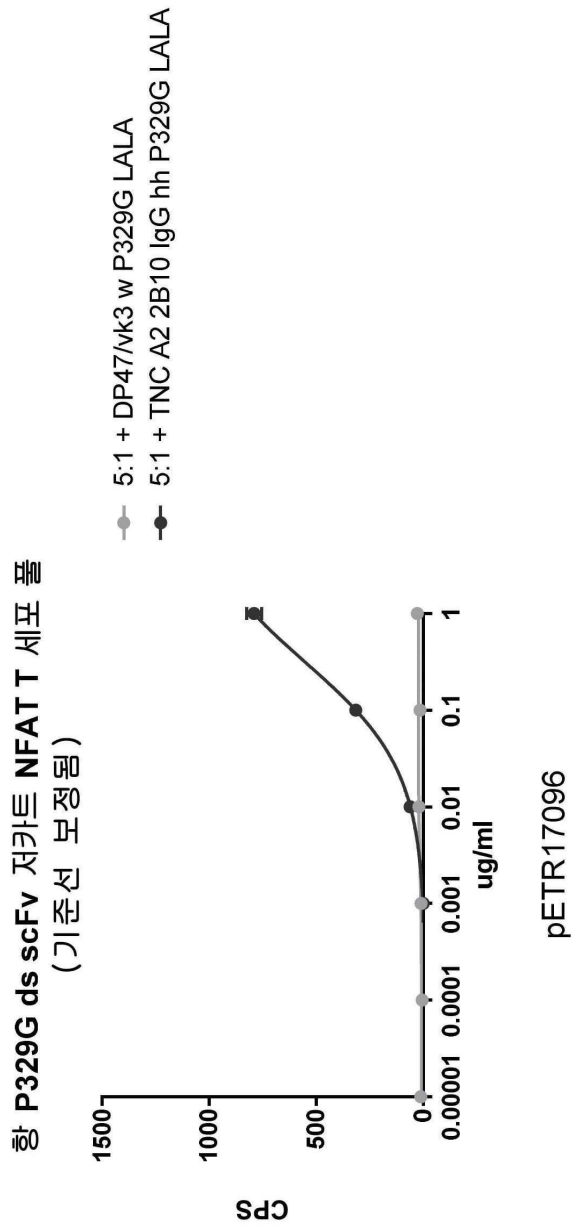
도 10D

항 P329G ds Fab 지카트 NFATT 세포 폴 대조군



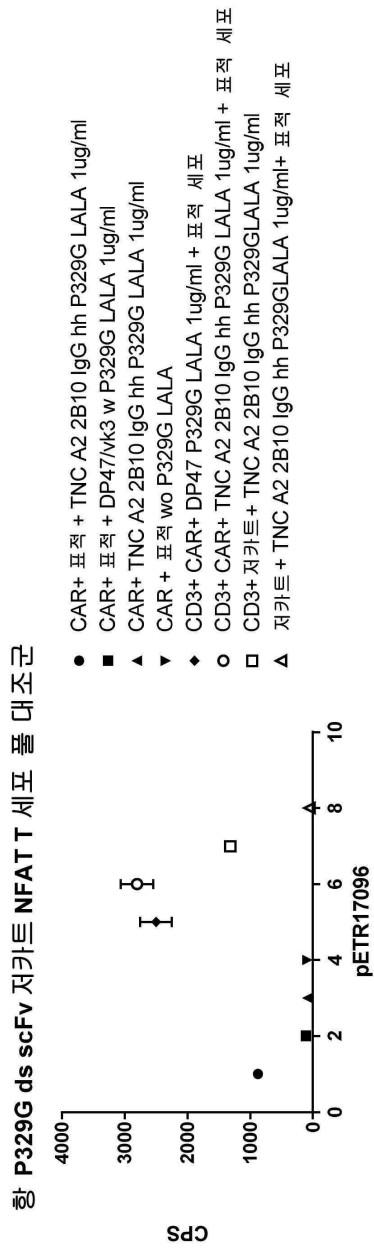
도면11a

도 11A



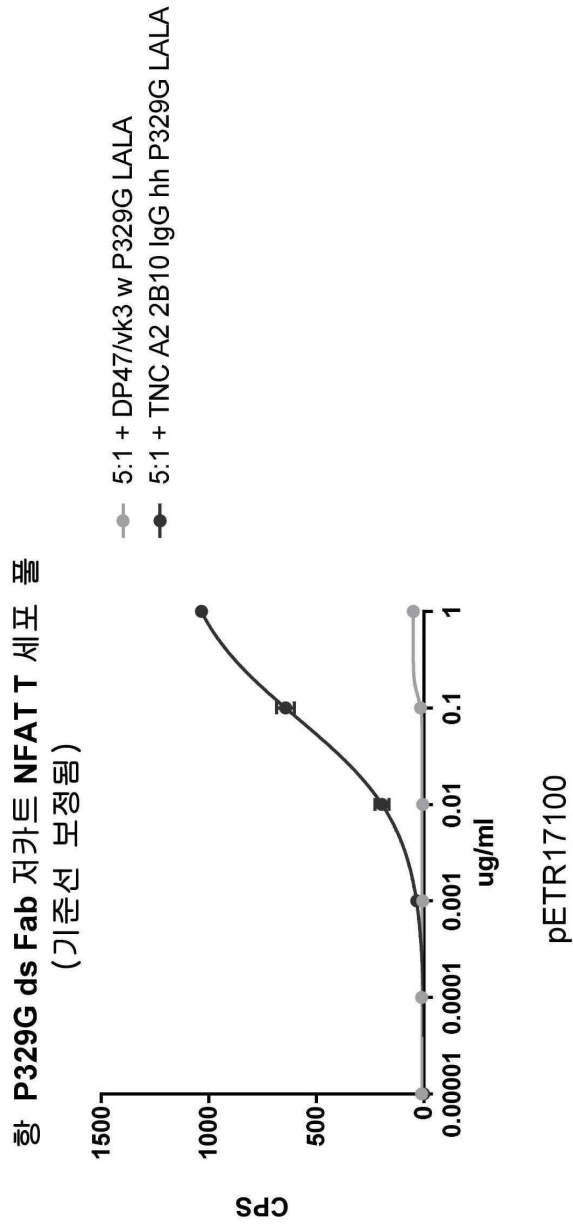
도면11b

도 11B



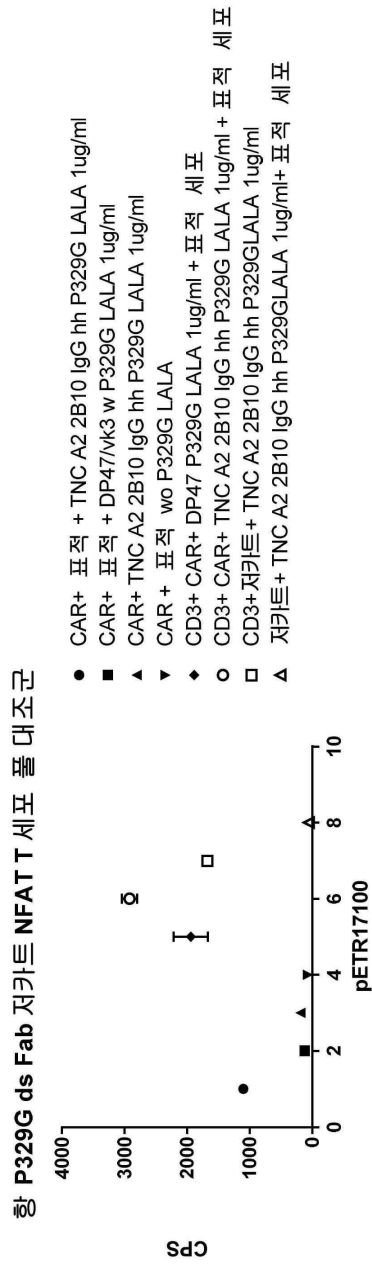
도면11c

도 11C



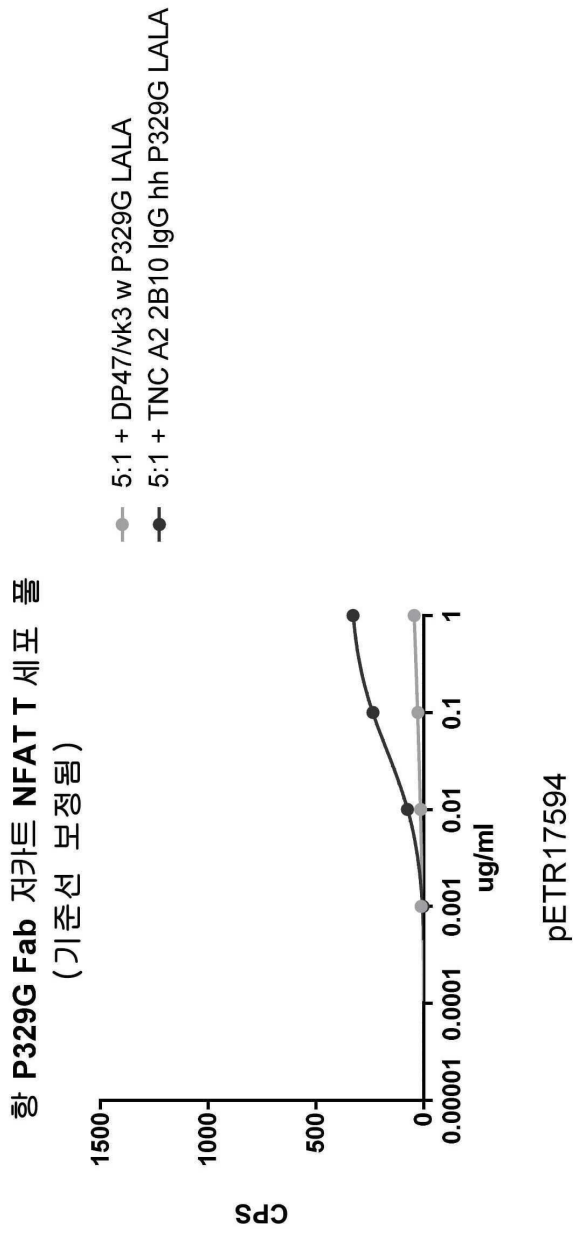
도면11d

도 11D



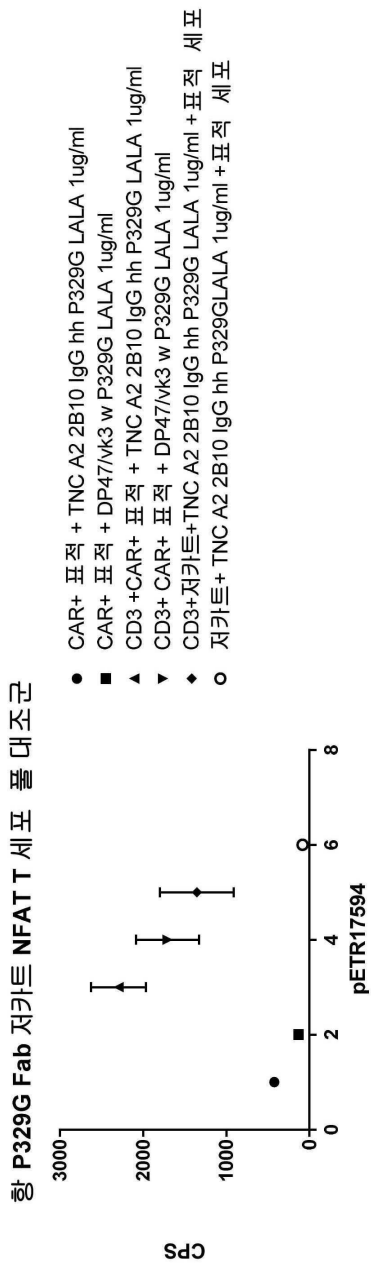
도면12a

도 12A



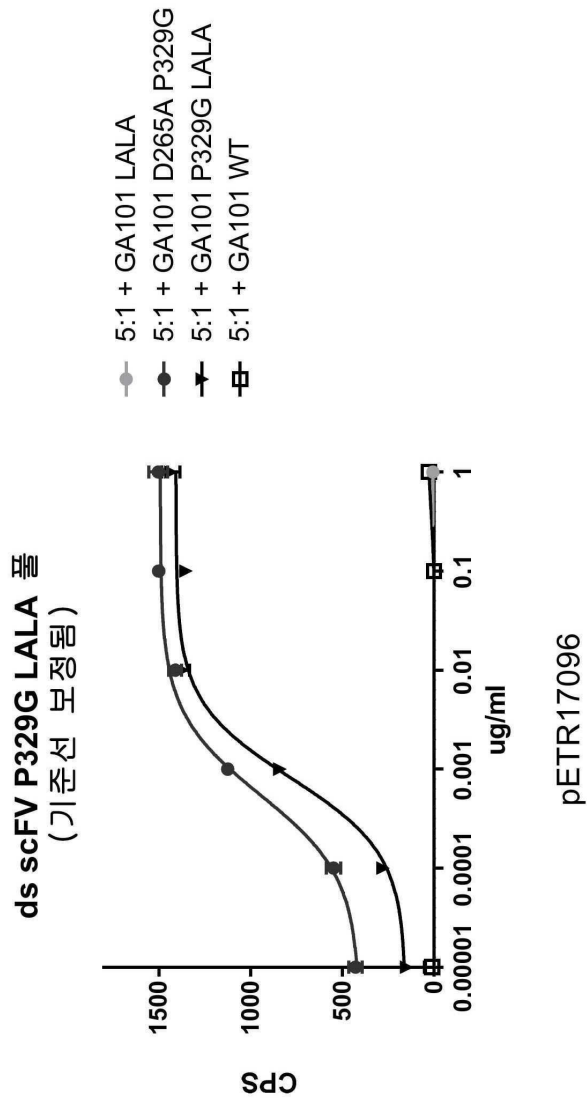
도면 12b

도 12B



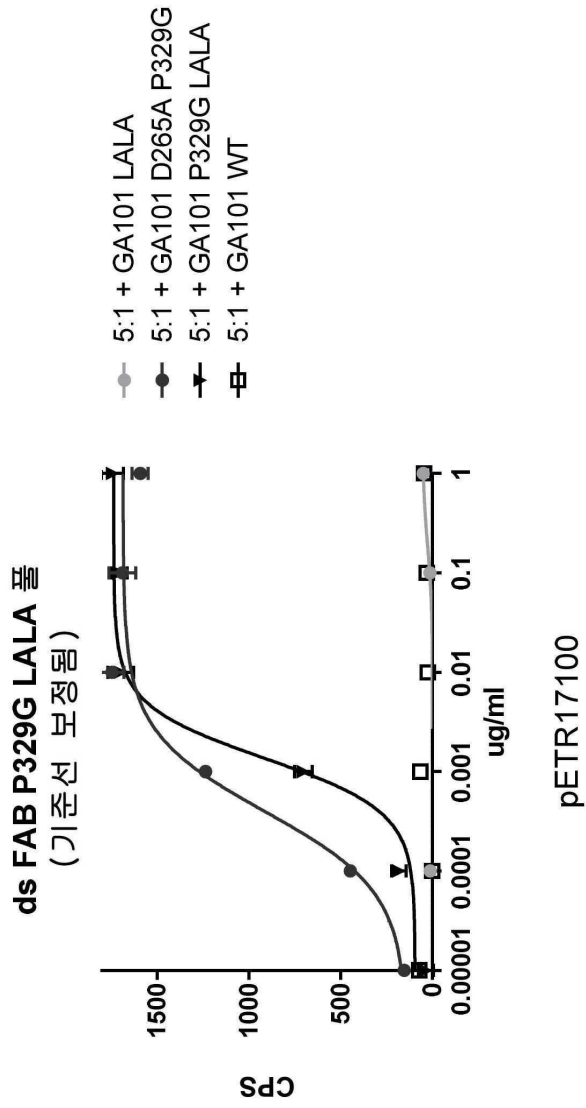
도면13a

도 13A

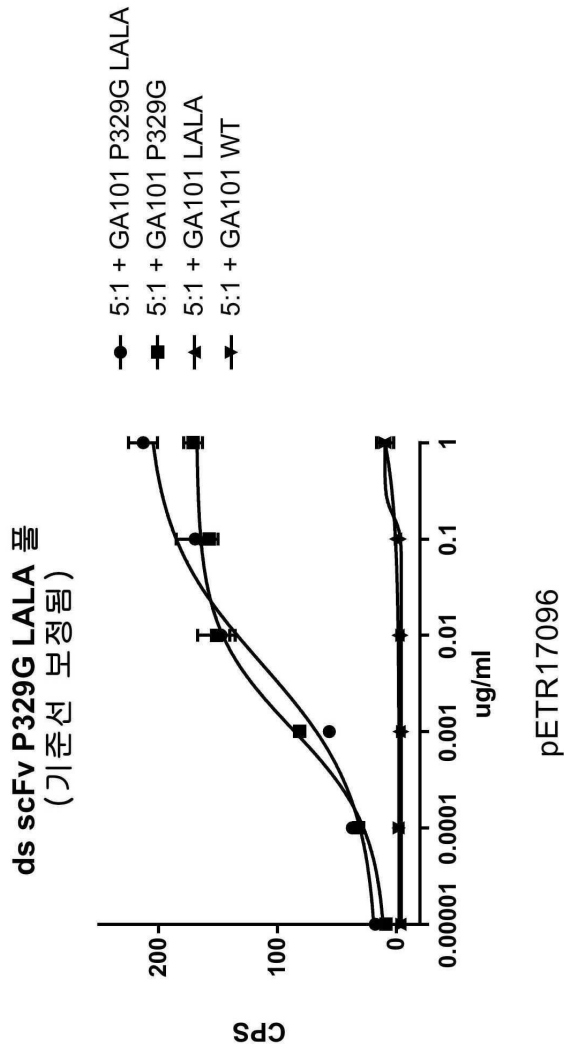


도면13b

도 13B

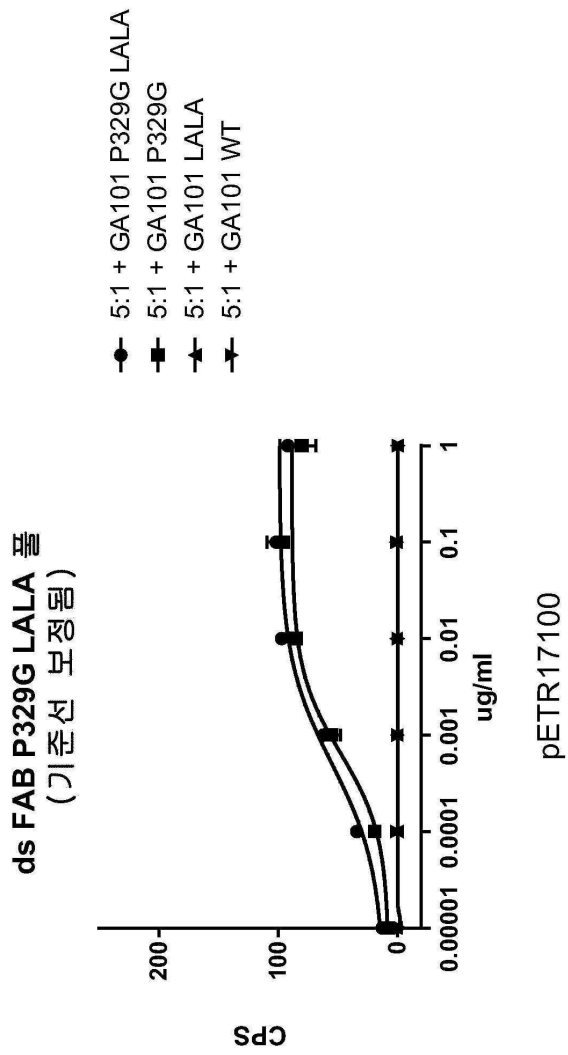


도면14a



도 14A

도면14b



도 14B

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> F. Hoffmann-La Roche Ltd

<120> Improved antigen binding receptors

<130> P34178

<160> 130

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G CDR H1 Kabat

<400> 1

Arg Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G CDR H2 Kabat

<400> 2

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

1 5 10 15

Asp

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G CDR H3 Kabat

<400> 3

Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Ser

1 5 10

<210> 4

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G CDR L1 Kabat

<400> 4

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><

223> Anti-P329G CDR L2 Kabat

<400> 5

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G CDR L3 Kabat

<400> 6

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val

1 5

<210> 7

<211> 433

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds-scFv-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion pETR17096

<400> 7

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Thr Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Ile Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Ser 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 Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr
 130 135 140

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

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

 Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu
 275 280 285
 His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
 290 295 300
 Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
 305 310 315 320
 Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
 325 330 335

 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 340 345 350
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly

355 360 365
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln

370 375 380
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 385 390 395 400

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 405 410 415
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 420 425 430

Arg

<210> 8

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds VH

<400> 8

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Ile Thr Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Ile Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Arg Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 9

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds VL

<400> 9

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala

65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

 85 90 95

His Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

 100 105

<210> 10

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds-scFv

<400> 10

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr

 20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile

<400> 11

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> 12

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CD28CSD

<400> 12

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> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CD3zSSD

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

180 185 190

Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu Ser
 195 200 205

Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe Val
 210 215 220

Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
 225 230 235

<210> 16
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> (G4S)4 linker
 <400> 16

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> 17
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> G4S linker
 <400> 17

Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

<210> 18
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> T2A linker
 <400> 18

Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn
 1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 19

<211> 1356

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds-scFv-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion pETR17096

<400> 19

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag      60
gtgaagctgc tggagagcgg cggcggcctg gtgcagcccg gcggcagcct gaagctgagc     120
tgcgccgcca gcggcttcga cttcagcagg tactggatga actgggtgag gcaggecccc     180
ggcaagtgtc tggagtggat cggcgagatc acccccgaca gcagcaccat caactacacc     240
cccagcctga aggacaagtt catcatcagc agggacaacg ccaagaacac cctgtacctg     300

cagatgatca aggtgaggag cgaggacacc gcctgtact actgcgtgag gcctacgac      360
tacggcgctt ggttcgccag ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgag cgccggaggg     420
ggcgggaagtg gtggcggggg aagcggcggg ggtggcagcg gagggggcgg atctcaggcc     480
gtggtgacce aggagagcgc cctgaccacc agccccggcg agaccgtgac cctgacctgc     540
aggagcagca ccggcgccgt gaccaccagc aactacgcca actgggtgca ggagaagccc     600
gaccacctgt tcaccggcct gatcggcggc accaacaaga gggcccccg cgtgcccgcc     660
aggttcagcg gcagcctgat cggcgacaag gccgcctga ccatcaccgg cgcccagacc     720

gaggacgagg ccatctactt ctgcgccctg tggtagca accactgggt gttcggtgt      780
ggcaccaage tgaccgtgct gggagggggc ggatccttct ggggtctggt ggtggtgggc     840
ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtg accgtggcct tcatcatctt ctgggtgagg     900
agcaagagga gcaggctgct gcacagcgac tacatgaaca tgacccccag gaggcccggc     960
cccaccagga agcactacca gccctacgcc cccccaggg acttcgccgc ctacaggagc    1020
agggatgaagt tcagcaggag cgccgacgcc cccgcctacc agcagggccca gaaccagctg    1080
tataacgagc tgaacctggg caggagggag gactacgacg tgctggacaa gaggaggggc    1140

agggaccccc agatgggcgg caagcccagg aggaagaacc cccaggaggg cctgtataac    1200
gagctgcaga aggacaagat ggccgaggcc tacagcgaga tcggcatgaa gggcgagagg    1260
aggaggggca agggccacga cggcctgtac cagggcctga gcaccgccac caaggacacc    1320
tacgacgcc tgcacatgca ggccctgccc cccagg

```

<210> 20
 <211> 357
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-P329G-ds VH
 <400> 20
 gaggtgaagc tgctggagag cggcggcggc ctggtgcagc cggcggcag cctgaagctg 60
 agctgcgcc ccagcggctt cgacttcagc aggtactgga tgaactgggt gaggcaggcc 120

 cccggcaagt gtctggagtg gatcggcag atcacccccg acagcagcac catcaactac 180
 acccccagcc tgaaggacaa gttcatcatc agcagggaca acgccaagaa caccctgtac 240
 ctgcagatga tcaaggtgag gagcaggac accgccctgt actactgctg gaggcctac 300
 gactacggcg cctggttcgc cagctggggc cagggcacc tggtgaccgt gagcgcc 357
 <210> 21
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-P329G-ds VL
 <400> 21
 caggccctgg tgaccagga gagcgcctg accaccagcc cggcgagac cgtgaccctg 60
 acctgagga gcagcaccgg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggag 120

 aagcccgacc acctgttac cggcctgatc ggccggacca acaagaggc ccccggcgtg 180
 cccgccaggt tcagcggcag cctgatcggc gacaaggccg ccctgacat caccggcgcc 240
 cagaccgagg acgaggccat ctacttctgc gcctgtggt acagcaacca ctgggtgttc 300
 ggctgtggca ccaagctgac cgtgctg 327
 <210> 22
 <211> 799
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-P329G-ds-scFv
 <400> 22
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag 60
 gtgaagctgc tggagagcgg cggcggcctg gtgcagccc gcggcagcct gaagctgagc 120

tgcgcccca gcggcttcga cttcagcagg tactggatga actgggtgag gcaggccccc 180
 ggcaagtgtc tggagtggat cggcgagatc acccccgaca gcagcaccat caactacacc 240
 cccagcctga aggacaagtt catcatcagc agggacaacg ccaagaacac cctgtacctg 300
 cagatgatca aggtgaggag cgaggacacc gcctgtact actgcgtgag gcctacgac 360
 tacggcgctt ggttcgccag ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgag cggcgagggg 420
 ggcggaagtg gtggcggggg aagcggcggg ggtggcagcg gagggggcgg atctcaggcc 480
 gtggtgacct aggagagcgc cctgaccacc agccccggcg agaccgtgac cctgacctgc 540

aggagcagca ccggcgccgt gaccaccagc aactacgcca actgggtgca ggagaagccc 600
 gaccacctgt tcaccggcct gatcggcggc accaacaaga gggccccggg cgtgcccgcc 660
 aggttcagcg gcagcctgat cggcgacaag gccgccctga ccatcaccgg cgcccagacc 720
 gaggacgagg ccatctactt ctgcgccctg tggtagcagca accactgggt gttcggtgtg 780
 ggcaccaagc tgaccgtgc 799

<210> 23

<211> 647

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> IRES EV71, internal ribosomal entry side

<400> 23

cccgaagtaa cttagaagct gtaaatcaac gatcaatagc aggtgtggca caccagtcat 60
 accttgatca agcacttctg tttccccgga ctgagtatca ataggctgct cgcgcggctg 120
 aaggagaaaa cgttcgttac ccgaccaact acttcgagaa gcttagtacc accatgaacg 180
 aggcagggtg tttcgctcag cacaaccca gtgtagatca ggctgatgag tcaactgcaac 240
 ccccatgggc gaccatggca gtggctgcgt tggcggcctg cccatggaga aatccatggg 300
 acgctctaat tctgacatgg tgtgaagtgc ctattgagct aactggtagt cctccggccc 360
 ctgattgcgg ctaatcctaa ctgcggagca catgctcaca aaccagtggg tgggtgtgctg 420

taacgggcaa ctctgcagcg gaaccgacta ctttgggtgt ccgtgtttcc ttttattcct 480
 atattggctg cttatggta caatcaaaaa gttgttacca tatagctatt ggattggcca 540
 tccggtgtgc aacagggcaa ctgtttacct atttattggt tttgtacat tatcaactgaa 600
 gtctgtgatc actctcaat tcattttgac cctcaacaca atcaaac 647

<210> 24

<211> 81

<212> DNA

<213> Artificial sequence
 <220><223> CD28ATM
 <400> 24
 ttttgggtgc tgggtggtgt tgggtggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60
 gcctttatta ttttctgggt g 81

<210> 25
 <211> 123
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> CD28CSD
 <400> 25
 aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc cgcgccccc 60
 gggcccacc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
 tcc 123

<210> 26
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> CD3z SSD
 <400> 26
 agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttgacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
 gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
 cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
 tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 27
 <211> 540
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> CD28ATM-CD28-CD3z
 <400> 27
 ttctgggtgc tgggtggtgt gggcggcgtg ctggcctgct acagcctgct ggtgaccgtg 60

gccttcatca tcttctgggt gaggagcaag aggagcaggc tgctgcacag cgactacatg 120

aacatgacce ccaggaggcc cggccccacc aggaagcact accagcccta cgccccccc 180

agggacttcg ccgcctacag gaggcagggtg aagttcagca ggagcgcga cgccccgcc 240

taccagcagg gccagaacca gctgtataac gagctgaacc tgggcaggag ggaggagtac 300

gacgtgctgg acaagaggag gggcagggac cccgagatgg gcgcaagcc caggaggaag 360

aacccccagg agggcctgta taacgagctg cagaaggaca agatggccga ggcctacagc 420

gagatcggca tgaagggcga gaggaggagg ggcaagggcc acgacggcct gtaccagggc 480

ctgagcaccg ccaccaagga cacctacgac gcctgcaca tgcaggccct gccccccagg 540

<210> 28

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> T2A element

<400> 28

tccggagagg gcagaggaag tcttctaaca tgcggtgacg tggaggagaa tcccggcct 60

agg 63

<210> 29

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> eGFP

<400> 29

gtgagcaagg gcgaggagct gttcaccggg gtggtgccca tcctggtcga gctggacggc 60

gacgtaaacg gccacaagtt cagcgtgtcc ggcgagggcg agggcgatgc cacctacggc 120

aagctgacce tgaagttcat ctgcaccacc ggcaagctgc ccgtgccctg gcccaccctc 180

gtgaccacce tgacctacgg cgtgcagtgc ttcagccgct accccgacca catgaagcag 240

cagacttct tcaagtccgc catgccgaa ggctacgtcc aggagcgac catctttctc 300

aaggacgacg gcaactacaa gaccgcgcc gaggtgaagt tgcagggcga caccctggtg 360

aaccgcatcg agctgaaggg catcgacttc aaggaggacg gcaacatcct ggggcacaag 420

ctggagtaca actacaacg ccacaacgtc tatatcatgg ccgacaagca gaagaacggc 480

atcaaggtga acttcaagat ccgccacaac atcgaggacg gcagcgtgca gctcgccgac 540

cactaccagc agaacacccc catcggcgac ggccccgtgc tgctgccga caaccactac 600

ctgagcacc agtccgcct gagcaaagac cccaacgaga agcgcgatca catggtcctg 660

ctggagtctg tgaccgccc cgggatcact ctccgcatgg acgagctgta caagtga 717

<210> 30

<211> 2136

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds-scFv-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD-eGFP fusion pETR17096

<400> 30

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtgcaacag ctaccggtgt gcattccgag 60

gtgaagtgc tggagagcgg cggcggcctg gtgcagccc ggcgcagcct gaagctgagc 120

tgcgcccca gcggcttcga cttcagcagg tactggatga actgggtgag gcaggcccc 180

ggcaagtgtc tggagtggat cggcgagatc acccccgaca gcagcaccat caactacacc 240

cccagcctga aggacaagt catcatcagc agggacaacg ccaagaacac cctgtacctg 300

cagatgatca aggtgaggag cgaggacacc gcctgtact actgcgtgag gcctacgac 360

tacggcgcct ggttcgccag ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgag cgcggagggg 420

ggcggaaagt gtggcggggg aagcggcggg ggtggcagcg gagggggcgg atctcaggcc 480

gtggtgacc aggagagcgc cctgaccacc agccccggcg agaccgtgac cctgacctgc 540

aggagcagca ccggcgcctg gaccaccagc aactaccca actgggtgca ggagaagccc 600

gaccacctgt tcaccggcct gatcggcggc accaacaaga gggccccgg cgtgcccgcc 660

aggttcagc gcagcctgat cggcgacaag gccgcctga ccatcaccgg cgeccagacc 720

gaggacgagg ccatctact ctgcgccctg tggtagca accactgggt gttcggctgt 780

ggcaccaagc tgaccgtgct gggagggggc ggatcctct gggtgctggt ggtggtgggc 840

ggcgtgctgg cctgctacag cctgtggtg accgtggcct tcatcatctt ctgggtgagg 900

agcaagagga gcaggctgct gcacagcgac tacatgaaca tgaccccag gaggeccggc 960

cccaccagga agcactacca gccctacgc cccccaggg acttcgccgc ctacaggagc 1020

agggtgaagt tcagcaggag gcgccagcc cccgcctacc agcagggcca gaaccagctg 1080

tataacgagc tgaacctggg caggagggag gactacgac tgctggaaa gaggaggggc 1140

agggacccc agatgggcgg caagcccagg aggaagaacc cccaggagg cctgtataac 1200

gagctgcaga aggacaagt ggccgaggcc tacagcgaga tcggcatgaa gggcgagagg 1260

aggaggggca agggccacga cggcctgtac cagggcctga gcaccgccac caaggacacc 1320

tacgacgcc tgcacatgca ggccctgccc cccaggtccg gagagggcag aggaagtctt 1380
 ctaacatgcg gtgacgtgga ggagaatccc ggccttaggg tgagcaaggg cgaggagctg 1440

ttcaccgggg tgggtgccc cctggtcgag ctggacggcg acgtaaacgg ccacaagttc 1500
 agcgtgtccg gcgagggcga gggcgatgcc acctacggca agctgaccct gaagttcatc 1560
 tgcaccaccg gcaagctgcc cgtgacctgg cccacctcg tgaccacct gacctacggc 1620
 gtgcagtgtc teagccgcta ccccgaccac atgaagcagc acgacttctt caagtccgcc 1680
 atgcccgaag gctacgtcca ggagcgcacc atcttcttca aggacgacgg caactacaag 1740
 accgcgccg aggtgaagtt cgagggcgac accctggtga accgcatcga gctgaagggc 1800
 atcgacttca agggagcagg caacatcctg gggcacaagc tggagtacaa ctacaacagc 1860

cacaactgtc atatcatggc cgacaagcag aagaacggca tcaagtgaa cttcaagatc 1920
 cgccacaaca teggagcagg cagcgtgcag ctgcgacc actaccagca gaacaccccc 1980
 atcggcgacg gccccgtgct gctgcccgac aaccactacc tgagcaccca gtccgcctg 2040
 agcaaagacc ccaacgagaa gcgcatcac atggtcctgc tggagtctgt gaccgcccgc 2100
 gggatcactc tggcatgga cgagctgtac aagtga 2136

- <210> 31
- <211> 433
- <212> PRT
- <213> Artificial sequence
- <220><223> Anti-P329G-scFv- CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion

<400> 31

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30

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

Gly Glu Ile Thr Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Ile Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

	85	90	95
Val Arg Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Ser 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 Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr			
	130	135	140
Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu Thr			
145	150	155	160
Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp			
	165	170	175
Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr			
	180	185	190
Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile			
	195	200	205
Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu			
	210	215	220
Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly			
225	230	235	240
Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Phe Trp Val			
	245	250	255
Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr			
	260	265	270
Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu			
	275	280	285
His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg			
	290	295	300
Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg			
305	310	315	320
Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln			
	325	330	335

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 340 345 350
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
 355 360 365
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 370 375 380

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 385 390 395 400
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 405 410 415
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 420 425 430

Arg

- <210> 32
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> Artificial sequence
- <220><223> Anti-P329G VH
- <400> 32

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

Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Ile Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Arg Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 33

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G VL

<400> 33

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

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

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 34

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-scFv

<400> 34

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

1 5 10 15

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

<210> 35

<211> 1356

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-scFv-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion

<400> 35

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag      60
gtgaagctgc tggagagcgg cggcggcctg gtgcagcccg gcggcagcct gaagctgagc     120
tgcgcccca gcggcttcga cttcagcagg tactggatga actgggtgag gcaggcccc      180
ggcaagggtc tggagtggat cggcgagatc acccccgaca gcagcaccat caactacacc     240
cccagcctga aggacaagtt catcatcagc agggacaacg ccaagaacac cctgtacctg     300
cagatgatca aggtgaggag cgaggacacc gcctgtact actgcgtgag gcctacgac      360
tacggcgctt ggttcgccag ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgag cgccggaggg     420

ggcggaaagt gtggcggggg aagcggcggg ggtggcagcg gagggggcgg atctcaggcc     480
gtggtgacct aggagagcgc cctgaccacc agccccggcg agaccgtgac cctgacctgc     540
aggagcagca ccggcgccgt gaccaccagc aactacgcca actgggtgca ggagaagccc     600
gaccacctgt tcaccggcct gatcggcggc accaacaaga gggccccggg cgtgcccgcc     660
aggttcagcg gcagcctgat cggcgacaag gccgcctga ccatcaccgg cgcccagacc     720
gaggacgagg ceatctactt ctgcgccctg tggtagcaga accactgggt gttcggcggg     780
ggcaccaagc tgaccgtgct gggagggggc ggatccttct ggggtgctggt ggtggtgggc     840

ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtg accgtggcct tcatcatctt ctgggtgagg     900
agcaagagga gcaggctgct gcacagcgac tacatgaaca tgacccccag gaggcccggc     960
cccaccagga agcaactacca gccctacgcc cccccaggg acttcgccgc ctacaggagc    1020
agggtgaagt tcagcaggag cgccgacgcc cccgcctacc agcagggccca gaaccagctg    1080
tataacgagc tgaacctggg caggagggag gactacgacg tgctggacaa gaggaggggc    1140
agggaccccc agatgggcgg caagcccagg aggaagaacc cccaggaggg cctgtataac    1200
gagctgcaga aggacaagat ggccgaggcc tacagcgaga tcggcatgaa gggcgagagg    1260

aggaggggca agggccacga cggcctgtac cagggcctga gcaccgccac caaggacacc    1320
tacgacgccc tgcacatgca ggccctgccc cccagg      1356

```

<210> 36

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G VH
 <400> 36
 gaggtgaagc tgctggagag cggcggcggc ctggtgcagc cggcggcag cctgaagctg 60
 agctgcgccg ccagcggctt cgacttcagc aggtactgga tgaactgggt gaggcaggcc 120
 cccggcaagg gtctggagtg gatcggcgag atcaccctcg acagcagcac catcaactac 180
 acccccagcc tgaaggacaa gttcatcatc agcagggaca acgccaagaa caccctgtac 240

 ctgcagatga tcaaggtgag gagcaggac accgccctgt actactgcgt gaggccctac 300
 gactacggcg cctggttcgc cagctggggc cagggcaccc tggtagacct gagcggc 357
 <210> 37
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-P329G VL
 <400> 37
 caggccctgg tgaccagga gagcgccttg accaccagcc cggcggagac cgtgacctg 60
 acctgcagga gcagcaccgg cgccgtgacc accagcaact acgccaactg ggtgcaggag 120
 aagcccgacc acctgttcac cggcctgatc ggcggcacca acaagagggc ccccggcgtg 180
 cccgccaggt tcagcggcag cctgatcggc gacaaggccg ccctgacct caccggcgcc 240

 cagaccgagg acgaggccat ctacttctgc gccctgtggt acagcaacca ctgggtgttc 300
 ggcggtggca ccaagctgac cgtgctg 327
 <210> 38
 <211> 2136
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-P329G-scFv-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD-eGFP fusion
 <400> 38
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgag 60
 gtgaagctgc tggagagcgg cggcggcctg gtgcagcccg gcggcagcct gaagctgagc 120
 tgcgcccca gcggcttcga cttcagcagg tactggatga actgggtgag gcaggcccc 180

 ggcaagggtc tggagtggat cggcggatc acccccgaca gcagcaccat caactacacc 240
 cccagcctga aggacaagtt catcatcagc agggacaacg ccaagaacac cctgtacctg 300
 catgatgatca aggtgaggag cgaggacacc gcctgtact actgcgtgag gcctacgac 360

tacggcgctt gggtcgccag ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgag cgccggaggg 420
 ggcggaagtg gtggcggggg aagcgccggg ggtggcagcg gagggggcgg atctcaggcc 480
 gtggtgacct aggagagcgc cctgaccacc agccccggcg agaccgtgac cctgacctgc 540
 aggagcagca ccggcgccgt gaccaccagc aactacgcca actgggtgca ggagaagccc 600

gaccacctgt tcaccggcct gatcgccggc accaacaaga gggcccccg cgtgcccgcc 660
 aggttcagcg gcagcctgat cggcgacaag gccgccctga ccatcaccgg cgcccagacc 720
 gaggacgagg ccatctactt ctgccccttg tggtagca accactgggt gttcgccggt 780
 ggcaccaagc tgaccgtgct gggagggggc ggatccttct ggggtgctggt ggtggtgggc 840
 ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtg accgtggcct tcatcatctt ctgggtgagg 900
 agcaagagga gcaggctgct gcacagcgac tacatgaaca tgacccccag gaggccccgc 960
 cccaccagga agcactacca gccctacgcc cccccaggg acttcgccgc ctacaggagc 1020

agggtgaagt tcagcaggag cgccgacgcc cccgcctacc agcagggcca gaaccagctg 1080
 tataacgagc tgaacctggg caggagggag gtagcagc tgctggacaa gaggaggggc 1140
 agggaccccc agatggcgcg caagcccagg aggaagaacc cccaggaggg cctgtataac 1200
 gagctgcaga aggacaagat ggccgaggcc tacagcgaga tcggcatgaa gggcgagagg 1260
 aggaggggca agggccacga cggcctgtac cagggcctga gcaccgccac caaggacacc 1320
 tacgacgccc tgacatgca ggccctgccc cccaggtccg gagagggcag aggaagtctt 1380
 ctaacatgcg gtgacgtgga ggagaatccc ggccctaggg tgagcaaggg cgaggagctg 1440

ttcaccgggg tggtgcccct cctggtcgag ctggacggcg acgtaaacgg ccacaagttc 1500
 agcgtgtccg gcgagggcga gggcgatgcc acctacggca agctgaccct gaagtccatc 1560
 tgcaccaccg gcaagctgcc cgtgcccctg cccaccctcg tgaccacct gacctacgce 1620
 gtgacgtgct tcagccgcta ccccgaccac atgaagcagc acgacttctt caagtccgcc 1680
 atgcccgaag gctacgtcca ggagcgcacc atcttcttca aggacgacgg caactacaag 1740
 acccgcccc aggtgaagtt cgagggcgac accctggtga accgcatcga gctgaagggc 1800
 atcgacttca aggaggacgg caacatcctg gggcacaagc tggagtacaa ctacaacagc 1860

cacaactctt atatcatggc cgacaagcag aagaacggca tcaagtgaa cttcaagatc 1920
 cgccacaaca tcgaggacgg cagcgtgcag ctgcgccacc actaccagca gaacaccccc 1980
 atcggcgacg gccccgtgct gctgcccgac aaccactacc tgagcaccca gtccgcctg 2040
 agcaaagacc ccaacgagaa gcgcgatcac atggtcctgc tggagtctgt gaccgccgcc 2100
 gggatcactc tcggcatgga cgagctgtac aagtga 2136

<210> 39

<211> 407

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds-Fab- heavy chain-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion

pETR17100

<400> 39

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Thr Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Ile Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

<400> 40

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

<210> 41

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti P329G-ds-Fab light chain

<400> 41

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

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CL

<400> 42

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

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

65 70 75 80
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 43

<211> 103

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CH1

<400> 43

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

1 5 10 15

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

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

<210> 44

<211> 2645

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds-Fab-heavy chain-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion
 pETR17100

<400> 44

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacgggtgt gcattcccag 60
 gccgtggtga cccaggagag cgccctgacc accagccccg gcgagaccgt gaccctgacc 120

 tgcaggagca gcaccggcgc cgtgaccacc agcaactacg ccaactgggt gcaggagaag 180
 cccgaccacc tgttaccgg cctgatcggc ggcaccaaca agagggcccc cggcgtgcc 240
 gccaggttca gcggcagcct gatcggcgac aaggccgcc tgaccatcac cggcgcccag 300
 accgaggacg aggccatcta cttctcgcc ctgtgttaca gcaaccactg ggtgttcggc 360
 tgtggacca agctgaccgt gctgctgacg gtggctgac catctgtctt catcttcccg 420
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgctgct gaataacttc 480
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc ggtaactcc 540

 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 660
 ggctgagct cgcctgac caagagcttc aacaggggag agtgttagga attccccgaa 720
 gtaacttaga agctgtaaat caacgatcaa tagcaggtgt ggcacaccag tcatacttg 780
 atcaagcact tctgtttccc cggactgagt atcaataggc tgctcgcgcg gctgaaggag 840
 aaaacgttcg ttaccggacc aactacttcg agaagcttag taccaccatg aacgaggcag 900
 ggtgtttcgc tcagcacaac cccagtgtag atcaggctga tgagtcactg caacccccat 960

gggcgaccat ggcagtggct gcgttggcgg cctgcccatg gagaaatcca tgggacgctc 1020
 taattctgac atggtgtgaa gtgcctattg agctaactgg tagtcctccg gccctgatt 1080
 gcggctaate ctaactgagg agcacatgct cacaaaccag tgggtgggtg gtcgtaacgg 1140
 gcaactctgc agcggaaacc actactttgg gtgtccgtgt ttccttttat tcctatattg 1200
 gctgcttatg gtgacaatca aaaagtgtt accatatagc tattggattg gccatccggt 1260
 gtgcaacagg gcaactgttt acctatttat tggttttgta ccattatcac tgaagtctgt 1320
 gatcactctc aaattcattt tgaccctcaa cacaatcaaa cgccaccatg ggatggagct 1380

glatcatcct ctctttggta gcaacagcta ccggtgtgca ctccgagtg aagctgctgg 1440
 agagcggcgg cggcctgggt cagcccggcg gcagcctgaa gctgagctgc gccgccagcg 1500
 gcttcgactt cagcaggtag tggatgaact gggtaggca ggccccggc aagtgtctgg 1560
 agtggatcgg cgagatcacc cccgacagca gcacatcaa ctacacccc agcctgaagg 1620
 acaagttcat catcagcagg gacaacgcca agaacaccc tgaactgcag atgatcaagg 1680
 tgaggagcga ggacaccgcc ctgtactact gcgtgaggcc ctacgactac ggcgcctggt 1740
 tcgccagctg gggccagggc acctgggtga ccgtgagcgc cgctagcacc aagggcccct 1800

ccgtgttccc ctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc gctctgggct 1860
 gcctgtgcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc ggagccctga 1920
 cctccggcgt geacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat agcctgagca 1980
 gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcaccagac ctacatctgc aacgtgaacc 2040
 acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc ggagggggcg 2100
 gatccttctg ggtgctggtg gtggggggcg gcgtgctggc ctgctacagc ctgctggtga 2160
 ccgtggcctt catcatcttc tgggtgagga gcaagaggag caggctgctg cacagcgact 2220

acatgaacat gacccccagg aggccccggc ccaccaggaa gcaactaccg cctacgccc 2280
 ccccaggga ctctgccgcc tacaggagca ggtgaagtt cagcaggagc gccgacgccc 2340
 ccgctacca gcagggccag aaccagctgt ataacgagct gaacctgggc aggagggagg 2400
 agtacgacgt gctggacaag aggaggggca gggaccccga gatgggcggc aagcccagga 2460
 ggaagaacct ccaggagggc ctgtataacg agctgcagaa ggacaagatg gccgaggcct 2520
 acagcgagat cggcatgaag ggcgagagga ggaggggcaa gggccacgac gccctgtacc 2580
 agggcctgag caccgccacc aaggacacct acgacgcct gcacatgcag gcctgcccc 2640

ccagg 2645

<210> 45

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> CL

<400> 45

cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
 ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
 tggaaagtgg ataacgcctt ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
 agcaaggaca gcacctacg cctcagcagc acctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
 aaacacaaag tctacgctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagtg ttag 324

<210> 46

<211> 309

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> CH1

<400> 46

gctagacca agggcccctc cgtgttcccc ctggcccaca gcagcaagag caccagcggc 60
 ggcacagccg ctctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc 120
 tggaaacagc gagccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ccgccgtgct gcagagttct 180
 ggctgtata gctgagcag cgtggtaacc gtgccttcta gcagcctggg cacccagacc 240
 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagccc 300

aagagctgc 309

<210> 47

<211> 3425

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-ds-Fab-heavy chain-CD28TM-CD28CSD-CD3ZSSD-eGFP fusion
 pETR17100

<400> 47

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacgggtgt gcattcccag 60
 gccgtggatga cccaggagag cgccctgacc accagcccgc gcgagaccgt gaccctgacc 120
 tgcaaggaca gcaccggcgc cgtgaccacc agcaactacg ccaactgggt gcaggagaag 180

cccgaccacc tgttcaccgg cctgatcggc ggcaccaaca agagggcccc cggcgtgccc 240

 gccaggttca gggcagcct gatcggcgac aaggcccgcc tgaccatcac cggcggcccag 300
 accgaggacg aggccatcta cttctgcgcc ctgtggtaca gcaaccactg ggtgttcggc 360
 tgtggacca agctgaccgt gctgcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc ggtaactec 540
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600
 acgtgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 660

 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgtagga attccccgaa 720
 gtaacttaga agctgtaaat caacgatcaa tagcaggtgt ggcacaccag tcataccttg 780
 atcaagcact tctgtttccc cggactgagt atcaatagcg tgctcgcgcg gctgaaggag 840
 aaaacgttcg ttaccggacc aactacttcg agaagcttag taccacatg aacgaggcag 900
 ggtgtttcgc tcagcacaac cccagtgtag atcaggctga tgagtcactg caacccccat 960
 gggcgaccat ggcagtggct gcgttggcgg cctgccccatg gagaaatcca tgggacgctc 1020
 taattctgac atggtgtgaa gtgcctattg agctaactgg tagtcctccg gccctgatt 1080

 gcggctaate ctaactgcgg agcacatgct cacaaccag tgggtggtgt gtcgtaacgg 1140
 gcaactctgc agcggaaaccg actactttgg gtgtccgtgt ttccttttat tcctatattg 1200
 gctgcttatg gtgacaatca aaaagtgtt accatatagc tattggattg gccatccggt 1260
 gtgcaacagg gcaactgttt acctatttat tggttttgta ccattatcac tgaagtctgt 1320
 gatcactctc aaattcattt tgaccctcaa cacaatcaaa cgccaccatg ggatggagct 1380
 gtatcatcct ctctttgta gcaacagcta ccggtgtgca ctccgaggtg aagctgctgg 1440
 agagcggcgg cggcctggtg cagcccggcg gcagcctgaa gctgagctgc gccgccagcg 1500

 gcttcgactt cagcaggtac tggatgaact gggtgaggca ggccccggc aagtgtctgg 1560
 agtggatcgg cgagatcacc cccgacagca gcaccatcaa ctacacccc agcctgaagg 1620
 acaagttcat catcagcagg gacaacgcca agaacacct gtacctgcag atgatcaagg 1680
 tgaggagcga ggacaccgcc ctgtactact gcgtgaggcc ctacgactac ggcgcctggt 1740
 tcgccagctg gggccagggc acctggtga ccgtgagcgc cgctagcacc aagggccctc 1800
 ccgtgttccc cctggcccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc gctctgggct 1860
 gcctgtgcaa ggactacttc cccgagcccc tgaccgtgtc ctggaacagc ggagccctga 1920

cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat agcctgagca 1980
 gcgtggctcac cgtgcccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc aacgtgaacc 2040
 acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc ggagggggcg 2100
 gatccttctg ggtgctgggt gtggggggcg gcgtgctggc ctgctacagc ctgctgggtga 2160
 ccgtggcctt catcatcttc tgggtgagga gcaagaggag caggctgctg cacagcgact 2220
 acatgaacat gacccccagg agggccggcc ccaccaggaa gcactaccag ccctacgccc 2280
 cccccaggga cttcgccgcc tacaggagca gggatgaagt cagcaggagc gccgacgccc 2340

 ccgcctacca gcagggccag aaccagctgt ataacgagct gaacctgggc aggagggagg 2400
 agtacgacgt gctggacaag aggaggggca gggaccccgat gatggcgccg aagcccagga 2460
 ggaagaacct ccaggagggc ctgtataacg agctgcagaa ggacaagatg gccgaggcct 2520
 acagcgagat cggcatgaag ggcgagagga ggaggggcaa gggccacgac ggcctgtacc 2580
 agggcctgag caccgccacc aaggacacct acgacgcctt gcacatgcag gcctgcccc 2640
 ccaggtccgg agagggcaga ggaagtcttc taacatgcgg tgactggag gagaatcccg 2700
 gccttagggt gagcaagggc gaggagctgt tcaccggggt ggtgcccac ctggtcgagc 2760

 tggacggcga cglaaacggc cacaagttca gcgtgtccgg cgagggcgag ggcgatgcca 2820
 cctacggcaa gctgaccctg aagttcatct gcaccaccgg caagctgccc gtgccctggc 2880
 ccaccctcgt gaccacctg acctacggcg tgcagtctt cagccgtac cccgaccaca 2940
 tgaagcagca cgacttcttc aagtcgcca tgcccgaagg ctactccag gagcgcacca 3000
 tcttcttcaa ggacgacggc aactacaaga cccgcgccga ggtgaagttc gagggcgaca 3060
 ccctggtgaa ccgcatcgag ctgaagggca tcgacttcaa ggaggacggc aacatcctgg 3120
 ggcacaagct ggagtacaac tacaacagcc acaacgtcta tatcatggcc gacaagcaga 3180

 agaacggcat caaggtgaac ttcaagatcc gccacaacat cgaggacggc agcgtgcagc 3240
 tcgccgacca ctaccagcag aacaccccca tcggcgacgg ccccgctgctg ctgcccgaca 3300
 accactacct gagcaccagc tccgcctga gcaaagacc caacgagaag cgcgatcaca 3360
 tggctctgct ggagttcgtg accgccgccg ggatcaactc cggcatggac gagctgtaca 3420
 agtga 3425

 <210> 48
 <211> 407
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-P329G-Fab-heavy chain-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion

pETR17594

<400> 48

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

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

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

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

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
 245 250 255

Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 260 265 270

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 275 280 285

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 290 295 300

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 305 310 315 320

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 325 330 335

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 340 345 350

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 355 360 365

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 370 375 380

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 385 390 395 400

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 405

<210> 49

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-Fab heavy chain

<400> 49

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr

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

<210> 50

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-Fab light chain

<400> 50

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

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

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

 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
 180 185 190
 Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 195 200 205
 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 51

<211> 2645

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-P329G-Fab-heavy chain-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion
pETR17594

<400> 51

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacgggtgt gcattcccag 60

gccgtggtga cccaggagag cgccctgacc accagccccg gcgagaccgt gaccctgacc 120

tgcaggagca gcaccggcgc cgtgaccacc agcaactacg ccaactgggt gcaggagaag 180

cccgaccacc tgttcaccgg cctgatcggc ggcaccaaca agaggcccc cggcgtgccc 240

gccaggttca gcggcagcct gatcggcgac aaggcccc tgaccatcac cggcggcccag 300

accgaggacg aggccatcta cttctgcgcc ctgtggtaca gcaaccactg ggtgttcggc 360

ggtggcacca agctgaccgt gctgcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc ggtaactcc 540

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 660

ggcctgagct cgcccgctac aaagagcttc aacaggggag agtgttagga attccccgaa 720

gtaacttaga agctgtaaat caacgatcaa tagcaggtgt ggcacaccag tcataccttg 780

atcaagcact tcgtttccc cggactgagt atcaatagge tgctcgcgcg gctgaaggag 840

aaaacgttcg ttaccggacc aactacttcg agaagcttag taccacatg aacgaggcag 900

ggtgtttcgc tcagcacaac cccagtgtag atcaggetga tgagtcactg caacccccat 960

ggcgacccat ggcatggct gcgttggcgg cctgccccatg gagaaatcca tgggacgctc 1020

taattctgac atggtgtgaa gtgcctattg agctaactgg tagtcctccg gccctgatt 1080

gcggctaate ctaactgcgg agcacatgct cacaaccag tgggtggtgt gtcgtaacgg 1140

gcaactctgc agcgaaccg actactttgg gtgtccgtgt ttccttttat tcctatattg 1200

gctgcttatg gtgacaatca aaaagtgtt accatatagc tattggattg gccatccggt 1260

gtgcaacagg gcaactgttt acctatttat tggttttgta ccattatcac tgaagtctgt 1320

gatcactctc aaattcattt tgaccctcaa cacaatcaaa cgccaccatg ggatggagct 1380

gtatcatcct cttcttggtg gcaacagcta ccggtgtgca ctccgaggtg aagctgctgg 1440

agagcggcgg cggcctggtg cagcccggcg gcagcctgaa gctgagctgc gccgccagcg 1500

gcttcgactt cagcaggtac tggatgaact gggtaggca ggccccggc aagggtctgg 1560

agtggatcgg cgagatcacc cccgacagca gcaccatcaa ctacacccc agcctgaagg 1620

acaagttcat catcagcagg gacaacgcca agaaccct gtacctgcag atgatcaagg 1680

tgaggagcga ggacaccgcc ctgtactact gcgtgaggcc ctacgactac ggcgctggt 1740

 tcgccagctg gggccagggc accctggtga ccgtgagcgc cgctagcacc aagggccctt 1800
 ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc getctggget 1860
 gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccc tgaccgtgtc ctggaacagc ggagccctga 1920
 cctccggcgt gcacacctic cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat agcctgagca 1980
 gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcaccagac ctacatctgc aacgtgaacc 2040
 acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc ggagggggcg 2100
 gatccttctg ggtgctggtg gtggtgggcg gcgtgctggc ctgctacagc ctgctggtga 2160

 ccgtggcctt catcatcttc tgggtgagga gcaagaggag caggctgctg cacagcgact 2220
 acatgaacat gacccccagg aggcccggcc ccaccaggaa gcactaccag ccctacgcc 2280
 cccccagga cttcgcccc tacaggagca ggtgaagtt cagcaggagc gccgacgcc 2340
 ccgcctacca gcagggccag aaccagctgt ataacgagct gaacctgggc aggagggagg 2400
 agtacgacgt gctggacaag aggaggggca gggaccccga gatgggcggc aagcccagga 2460
 ggaagaacce ccaggagggc ctgtataacg agctgcagaa ggacaagatg gccgaggcct 2520
 acagcgagat cggcatgaag ggcgagagga ggaggggcaa gggccacgac gcctgtacc 2580

 agggcctgag caccgccacc aaggacacct acgacgccct gcacatgcag gcctgcccc 2640
 ccagg 2645
 <210> 52
 <211> 3425
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-P329G-Fab-heavy chain-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD-eGFP fusion
 pETR17594
 <400> 52
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacgggtgt gcattcccag 60
 gccgtggtga ccaggagag cgcctgacc accagccccg gcgagaccgt gaccctgacc 120
 tgcaggagca gcaccggcgc cgtgaccacc agcaactacg ccaactgggt gcaggagaag 180

 cccgaccacc tgttcaccgg cctgatcggc ggcaccaaca agagggcccc cggcgtgccc 240
 gccaggttca gcggcagcct gatcggcgac aaggccgcc tgaccatcac cggcgcccag 300
 accgaggacg aggccatcta cttctcgcc ctgtggtaca gcaaccactg ggtgttcggc 360
 ggtggcacca agctgaccgt gctgcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtactcc 540
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600

 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 660
 ggctgagct cggccgtac aaagagcttc aacaggggag agtgttagga attccccgaa 720
 gtaacttaga agctgtaaat caacgatcaa tagcaggtgt ggcacaccag tcataccttg 780
 atcaagcact tcigtttccc cggactgagt atcaataggc tgctcgcgcg gctgaaggag 840
 aaaacgttcg ttaccgacc aactacttcg agaagcttag taccacatg aacgaggcag 900
 ggtgtttcgc tcagcacaac cccagtgtag atcaggctga tgagtactg caaccccat 960
 gggcgacat ggcagtggct gcgttggcgg cctgcccctg gagaaatcca tgggacgctc 1020

 taattctgac atggtgtgaa gtgcctattg agctaactgg tagtcctccg gccctgatt 1080
 gcggctaate ctaactgcgg agcacatgct cacaaccag tgggtgggtg gtcgtaacgg 1140
 gcaactctgc agcggaaacc actactttgg gtgtccgtgt ttccttttat tcctatattg 1200
 gctgcttatg gtgacaatca aaaagtgtt accatatagc tattggattg gccatccggt 1260
 gtgcaacagg gcaactgttt acctatttat tggttttgta ccattatcac tgaagtctgt 1320
 gatcactctc aaattcattt tgacctcaa cacaatcaaa cgccaccatg ggatggagct 1380
 gtatcactct ctctttgta gcaacagctc ccggtgtgca ctccgaggtg aagctgctgg 1440

 agagcggcgg cggcctggtg cagcccggcg gcagcctgaa gctgagctgc gccgccagcg 1500
 gcttcgactt cagcaggtae tggatgaact ggtgaggca ggccccggc aagggtctgg 1560
 agtggatcgg cgagatcacc cccgacagca gcaccatcaa ctacacccc agcctgaagg 1620
 acaagtcat catcagcagg gacaacgcca agaacacct gtacctgcag atgatcaagg 1680
 tgaggagcga ggacaccgcc ctgtactact gcgtgaggcc ctacgactac ggcgctggt 1740
 tcgccagctg gggccagggc accctggtga ccgtgagcgc cgctagcacc aagggccct 1800
 ccgtgttccc cctggcccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc gctctgggct 1860

 gcctgtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc ggagccctga 1920
 cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tcagagttc tggcctgtat agcctgagca 1980
 gcgtggtcag cgtgccttct agcagcctgg gcaccagac ctacatctgc aacgtgaacc 2040
 acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc ggagggggcg 2100
 gatccttctg ggtgctggtg gtggtggcg gcgtgctggc ctgctacagc ctgctggtga 2160
 ccgtggcctt catcatcttc tgggtgagga gcaagaggag caggtgctg cacagcgact 2220

acatgaacat gacccccagg aggccccggc ccaccaggaa gcactaccag ccctacgccc 2280

 cccccaggga cttcgccgcc tacaggagca ggtgaagtt cagcaggagc gccgacgccc 2340
 ccgcctacca gcagggccag aaccagctgt ataacgagct gaacctgggc aggagggagg 2400
 agtacgacgt gctggacaag aggaggggca gggaccccga gatgggcggc aagcccagga 2460
 ggaagaacce ccaggagggc ctgtataacg agctgcagaa ggacaagatg gccgaggcct 2520
 acagcgagat cggcatgaag ggcgagagga ggaggggcaa gggccacgac ggcctgtacc 2580
 agggcctgag caccgccacc aaggacacct acgacgcct gcacatgcag gcctgcccc 2640
 ccaggtccgg agagggcaga ggaagtcttc taacatgcgg tgacgtggag gagaatcccg 2700

 gccctagggt gagcaagggc gaggagctgt tcaccggggt ggtgccatc ctggtcgagc 2760
 tggacggcga cgtaaaccgc cacaagtcca gcgtgtccgg cgagggcgag ggcgatgcca 2820
 cctacggcaa gctgacctg aagttcatct gcaccaccgg caagctgccc gtgccctggc 2880
 ccaccctcgt gaccacctg acctacggcg tcagtgctt cagccgtac cccgaccaca 2940
 tgaagcagca cgacttcttc aagtccgcca tccccgaagg ctacgtccag gagcgcacca 3000
 tcttcttcaa ggacgacggc aactacaaga cccgcgccga ggtgaagttc gagggcgaca 3060
 ccctggtgaa ccgcatcgag ctgaagggca tcgacttcaa ggaggacggc aacatcctgg 3120

 ggcaacaagt ggagtacaac tacaacagcc acaacgtcta tatcatggcc gacaagcaga 3180
 agaacggcat caaggtgaac ttcaagatcc gccacaacat cgaggacggc agcgtgcagc 3240
 tcgccgacca ctaccagcag aacaccccca tcggcgacgg ccccgtgctg ctgcccgaca 3300
 accactacct gagcaccag tccgccctga gcaaagaccc caacgagaag cgcgatcaca 3360
 tggctctgct ggagtctgtg accgccgccg ggatcactct cggcatggac gagctgtaca 3420
 agtga 3425

 <210> 53
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

 <220><223> Anti-AAA CDR H1 Kabat
 <400> 53
 Ser Tyr Gly Met Ser
 1 5
 <210> 54
 <211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA CDR H2 Kabat

<400> 54

Ser Ser Gly Gly Ser Tyr

1 5

<210> 55

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA CDR H3 Kabat

<400> 55

Leu Gly Met Ile Thr Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 56

<211> 16

<212> PRT

<213

> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA CDR L1 Kabat

<400> 56

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

1 5 10 15

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA CDR L2 Kabat

<400> 57

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA CDR L3 Kabat

<400> 58

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 59

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA-scFv-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion

<400> 59

Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Val Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu

50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Pro

65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn

85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Gly Met Ile Thr Thr Gly Tyr Ala Met Asp

115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 420 425 430

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 435 440 445

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 450 455

<210> 60

<211> 272

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA-scFv

<400> 60

Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Val Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn

85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Gly Met Ile Thr Thr Gly Tyr Ala Met Asp
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140

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

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

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

<210> 61
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA VH

<400> 61
 Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Val Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu
 50 55 60

 Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn

85 90 95
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Gly Met Ile Thr Thr Gly Tyr Ala Met Asp
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 62

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA VL

<400> 62

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 Thr Ile Val His Ser
 20 25 30

Thr Gly His Thr Tyr Leu Glu Trp Phe 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 Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 63

<211> 428

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA-Fab-heavy chain-CD28ATM-CD28CSD-CD3zSSD fusion

<400> 63

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

Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly
 245 250 255
 Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile
 260 265 270
 Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met
 275 280 285
 Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro
 290 295 300
 Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe
 305 310 315 320
 Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 325 330 335
 Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 340 345 350
 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 355 360 365
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 370 375 380
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 385 390 395 400
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 405 410 415
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 420 425
 <210> 64
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-AAA-Fab heavy chain
 <400> 64
 Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Val Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

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

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

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

 Lys Ser Cys

<210> 65

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-AAA-Fab light chain

<400> 65

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 Thr Ile Val His Ser

 20 25 30

Thr Gly His Thr Tyr Leu Glu Trp Phe 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 Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105 110

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

 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

 180 185 190

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

 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 66

<211> 780

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 66

atggcgcgcc cgcatccgtg gtggctgtgc gtgctgggca ccctgggtggg cctgagcgcg 60

acccgggcgc cgaaaagctg cccggaacgc cattattggg cgcagggcaa actgtgctgc 120

cagatgtgcg aaccgggcac ctttctgggtg aaagattgcg atcagcatcg caaageggcg 180

cagtgcgac cgtagcattcc gggcgtgagc tttagcccgg atcatcatac ccgcccgcg 240

tgcgaaagct gccgccattg caacagcggc ctgctgggtgc gcaactgcac cattaccgcg 300

aacgcggaat gcgctgccc caacggctgg cagtgccgcg ataaagaatg caccgaatgc 360

gatccgctgc cgaacccgag cctgaccgcg cgcagcagcc aggcgctgag cccgcatccg 420

cagccgacce atctgccgta tgtgagcga atgctggaag cgcgcaccgc gggccatag 480

cagaccctgg cggattttcg ccagctgccg gcgcgcaccc tgagcaccca ttggccgccg 540

cagcgcagcc tgtgcagcag cgattttatt cgcattctgg tgatttttag cggcatgttt 600

ctggtgttta cctggcggg cgcgctgttt ctgcatcagc gccgcaaata tcgcagcaac 660

aaagcgaaa gcccggtgga accggcggaa ccgtgccatt atagctgcc gcgcgaagaa 720

gaagcagca ccattccgat tcaggaagat tatcgcaaac cggaaccggc gtgcagcccc 780

<210> 67

<211> 260

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Met Ala Arg Pro His Pro Trp Trp Leu Cys Val Leu Gly Thr Leu Val

1 5 10 15

Gly Leu Ser Ala Thr Pro Ala Pro Lys Ser Cys Pro Glu Arg His Tyr

20 25 30

Trp Ala Gln Gly Lys Leu Cys Cys Gln Met Cys Glu Pro Gly Thr Phe

35 40 45

Leu Val Lys Asp Cys Asp Gln His Arg Lys Ala Ala Gln Cys Asp Pro

50 55 60

Cys Ile Pro Gly Val Ser Phe Ser Pro Asp His His Thr Arg Pro His
 65 70 75 80

Cys Glu Ser Cys Arg His Cys Asn Ser Gly Leu Leu Val Arg Asn Cys
 85 90 95

Thr Ile Thr Ala Asn Ala Glu Cys Ala Cys Arg Asn Gly Trp Gln Cys
 100 105 110

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

Thr Ala Arg Ser Ser Gln Ala Leu Ser Pro His Pro Gln Pro Thr His
 130 135 140

Leu Pro Tyr Val Ser Glu Met Leu Glu Ala Arg Thr Ala Gly His Met
 145 150 155 160

Gln Thr Leu Ala Asp Phe Arg Gln Leu Pro Ala Arg Thr Leu Ser Thr
 165 170 175

His Trp Pro Pro Gln Arg Ser Leu Cys Ser Ser Asp Phe Ile Arg Ile
 180 185 190

Leu Val Ile Phe Ser Gly Met Phe Leu Val Phe Thr Leu Ala Gly Ala
 195 200 205

Leu Phe Leu His Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser
 210 215 220

Pro Val Glu Pro Ala Glu Pro Cys His Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Glu Gly Ser Thr Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro
 245 250 255

Ala Cys Ser Pro
 260

<210> 68

<211> 750

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 68

atggcgtggc cgccgccgta ttggctgtgc atgctgggca ccctggtggg cctgagcgcg 60

accctggcgc cgaacagctg cccgataaa cattattgga ccggcggcgg cctgtgctgc 120

cgcatgtgcg aaccgggcac cttttttgtg aaagattgcg aacaggatcg caccgcggcg 180

cagtgcgacg cgtgcattcc gggcaccagc tttagcccgg attatcatac ccgcccgcat 240

tgcgaaagct gccgccattg caacagcggc tttctgattc gcaactgcac cgtgaccgcg 300

aacgcggaat gcagctgcag caaaaactgg cagtgccgcg atcaggaatg caccgaatgc 360

gatccgccgc tgaaccggc gctgaccgc cagccgagcg aaaccccgag cccgcagccg 420

ccgccgacc atctgccga tggcaccgaa aaaccgagct ggccgctgca tcgccagctg 480

ccgaacagca ccgtgtatag ccagcgcagc agccatgcc cgctgtgcag cagcgattgc 540

attcgattt ttgtgacctt tagcagcatg tttctgattt ttgtgctggg cgcgattctg 600

ttttttcate agcgcgcaaa ccatggcccg aacgaagatc gccaggcggg gccggaagaa 660

ccgtgcccg atagctgcc gcgcaagaa gaaggcagcg cgattccgat tcaggaagat 720

tatcgaaaac cggaaaccggc gttttatccg 750

<210> 69

<211> 250

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 69

Met Ala Trp Pro Pro Pro Tyr Trp Leu Cys Met Leu Gly Thr Leu Val

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

100 105 110
 Arg Asp Gln Glu Cys Thr Glu Cys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Ala Leu

115 120 125
 Thr Arg Gln Pro Ser Glu Thr Pro Ser Pro Gln Pro Pro Pro Thr His

130 135 140
 Leu Pro His Gly Thr Glu Lys Pro Ser Trp Pro Leu His Arg Gln Leu

145 150 155 160
 Pro Asn Ser Thr Val Tyr Ser Gln Arg Ser Ser His Arg Pro Leu Cys

165 170 175
 Ser Ser Asp Cys Ile Arg Ile Phe Val Thr Phe Ser Ser Met Phe Leu

180 185 190
 Ile Phe Val Leu Gly Ala Ile Leu Phe Phe His Gln Arg Arg Asn His

195 200 205
 Gly Pro Asn Glu Asp Arg Gln Ala Val Pro Glu Glu Pro Cys Pro Tyr

210 215 220
 Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser Ala Ile Pro Ile Gln Glu Asp

225 230 235 240
 Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Phe Tyr Pro

245 250

<210> 70

<211> 660

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 70

atgctgcgcc tgetgctggc gctgaacctg tttccgagca ttcaggtgac cggcaacaaa 60

attctggtga aacagagccc gatgctggtg gcgtatgata acgcggtgaa cctgagctgc 120

aaatatagct ataacctgtt tagccgcgaa tttcgcgca gcctgcataa aggctggat 180

agcgcggtgg aagtgtgct ggtgtatggc aactatagcc agcagctgca ggtgtatagc 240

aaaaccggct ttaactgcga tggcaactg ggcaacgaaa gcgtgacctt ttatctgcag 300

aacctgtatg tgaaccagac cgatatttat ttttgcaaaa ttgaagtgat gtatccgccg 360

ccgtatctgg ataacgaaaa aagcaacggc accattattc atgtgaaagg caaacatctg 420

tgcccagacc cgctgtttcc gggcccagac aaaccgtttt gggtgctggt ggtggtgggc 480

 ggctgctgg cgtgctatag cctgctggcg accgtggcgt ttattatattt ttgggtgcgc 540
 agcaaacgca gccgcctgct gcatagcgat tatatgaaca tgaccccgcg ccgcccgggc 600
 ccgaccgcga aacattatca gccgtatgcg ccgccgcgcg attttgcggc gtatcgcagc 660
 <210> 71
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 71
 Met Leu Arg Leu Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val
 1 5 10 15
 Thr Gly Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr
 20 25 30

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

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

 Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile
 165 170 175

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met
 180 185 190
 Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro
 195 200 205
 Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 210 215 220

<210> 72

<211

> 654

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 72

atgaccctgc gcctgctgtt tctggcgtg aacttttta gcgtgcaggt gaccgaaaac 60
 aaaattctgg tgaacagag cccgctgctg gtggtgata gcaacgaagt gacctgagc 120
 tgccgtata gctataacct gctggcgaag gaatttcgcg cgagcctgta taaaggcgtg 180
 aacagcgtat tggaagtgtg cgtgggcaac ggcaacttta cctatcagcc gcagtttcgc 240
 agcaacgcgg aatttaactg cgatggcgat ttgataacg aaaccgtgac ctttcgctg 300
 tggaacctgc atgtgaacca taccgatatt ttttttgca aaattgaatt tatgtatcgg 360

 ccgccgtatc tggataacga acgcagcaac ggcaccatta ttcattataa agaaaaacat 420
 ctgtgccata cccagagcag cccgaaactg ttttgggcgc tgggtggtgt ggcgggcgtg 480
 ctgttttgcg atggcctgct ggtgaccgtg gcgctgtgcg tgatttgac caacagccgc 540
 cgcaaccgcc tgctgcagag cgattatatg aacatgacc cgcgccgcc ggcctgacc 600
 cgcaaaccgt atcagccgta tgcgccggcg cgcgattttg cggcgtatcg cccg 654

<210> 73

<211> 218

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 73

Met Thr Leu Arg Leu Leu Phe Leu Ala Leu Asn Phe Phe Ser Val Gln

1 5 10 15

Val Thr Glu Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Leu Leu Val Val
 20 25 30

Asp Ser Asn Glu Val Ser Leu Ser Cys Arg Tyr Ser Tyr Asn Leu Leu

acctgtgaca tatcgaggca gtgtaaaggt gttttcagga ccaggaagga gtgttcctcc 240

accagcaatg cagagtgtga ctgcactcca gggtttact gcctgggggc aggatgcagc 300

atgtgtgaac aggattgtaa acaaggtcaa gaactgacaa aaaaaggttg taaagactgt 360

tgctttggga catttaacga tcagaaacgt ggcatctgtc gacctggac aaactgttct 420

ttggatggaa agtctgtgct tgtgaatggg acgaaggaga gggacgtggt ctgtggacca 480

tctccagccg acctctctcc gggagcatcc tctgtgaccc cgectgcccc tgcgagagag 540

ccaggacact ctccgcagat catctccttc tttcttgccg tgacgtcgac tgcgttgctc 600

ttctgtgtgt tcttctcac gctccgtttc tctgttgta aacggggcag aaagaaactc 660

ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 720

tgtagctgcc gatttcaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgtga 768

<210> 75

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu

1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro

20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys

35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile

50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser

65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly

85 90 95

Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu

100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln

115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys
 130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro
 145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala

165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu
 180 185 190

Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu
 195 200 205

Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
 210 215 220

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly

225 230 235 240

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

245 250 255

<210> 76

<211> 768

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 76

atgggcaaca actgctataa cgtggtggtg attgtgctgc tgctggtggg ctgcgaaaaa 60
 gtgggcgcgg tgcagaacag ctgcgataac tgccagccgg gcaccttttg cgcgaaatat 120
 aaccgggtgt gcaaaagctg cccgccgagc accttagca gcattggcgg ccagccgaac 180
 tgcaacattt gccgcgtgtg cgcgggctat tttcgcttta aaaaattttg cagcagcacc 240

 cataacgcgg aatgcgaatg cattgaaggc tttcattgcc tgggcccgca gtgcacccgc 300
 tgcgaaaaag attgccgcc gggccaggaa ctgaccaaac agggctgcaa aacctgcagc 360
 ctgggcacct ttaacgatca gaacggcacc ggcgtgtgcc gccctggac caactgcagc 420
 ctggatggcc gcagcgtgct gaaaaccggc accaccgaaa aagatgtggt gtgcgccccg 480
 ccggtggtga gcttttagcc gagcaccacc attagcgtga ccccggaagg cggccccggc 540
 ggccatagcc tgcagggtct gacctgttt ctggcgctga ccagcgcgct gctgctggcg 600

ctgattttta ttaccctgct gtttagcgtg ctgaaatgga ttcgcaaaaa atttccgcat 660

atTTTTaaac agccgtttta aaaaaccacc ggcgcggcgc aggaagaaga tgcgtgcagc 720

tgccgctgcc cgcaggaaga agaaggcggc ggcggcggct atgaactg 768

<210> 77

<211> 256

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 77

Met Gly Asn Asn Cys Tyr Asn Val Val Val Ile Val Leu Leu Leu Val
 1 5 10 15

Gly Cys Glu Lys Val Gly Ala Val Gln Asn Ser Cys Asp Asn Cys Gln
 20 25 30

Pro Gly Thr Phe Cys Arg Lys Tyr Asn Pro Val Cys Lys Ser Cys Pro
 35 40 45

Pro Ser Thr Phe Ser Ser Ile Gly Gly Gln Pro Asn Cys Asn Ile Cys
 50 55 60

Arg Val Cys Ala Gly Tyr Phe Arg Phe Lys Lys Phe Cys Ser Ser Thr
 65 70 75 80

His Asn Ala Glu Cys Glu Cys Ile Glu Gly Phe His Cys Leu Gly Pro
 85 90 95

Gln Cys Thr Arg Cys Glu Lys Asp Cys Arg Pro Gly Gln Glu Leu Thr
 100 105 110

Lys Gln Gly Cys Lys Thr Cys Ser Leu Gly Thr Phe Asn Asp Gln Asn
 115 120 125

Gly Thr Gly Val Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Arg
 130 135 140

Ser Val Leu Lys Thr Gly Thr Thr Glu Lys Asp Val Val Cys Gly Pro
 145 150 155 160

Pro Val Val Ser Phe Ser Pro Ser Thr Thr Ile Ser Val Thr Pro Glu
 165 170 175

Gly Gly Pro Gly Gly His Ser Leu Gln Val Leu Thr Leu Phe Leu Ala

	180	185	190	
Leu Thr Ser Ala Leu Leu Leu Ala Leu Ile Phe Ile Thr Leu Leu Phe				
	195	200	205	
Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln				
	210	215	220	
Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser				
	225	230	235	240
Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu				
	245	250	255	
<210> 78				
<211> 831				
<212> DNA				
<213> Homo sapiens				
<400> 78				
atgtgcgtgg ggcgcgcg cctgggccgc ggccccgtgcg cggcgtgct gctgctgggc				60
ctgggcctga gcaccgtgac cggcctgcat tgcgtgggcg atacctatcc gagcaacgat				120
cgctgctgcc atgaatgccg cccgggcaac ggcatggtga gccgctgcag ccgcagccag				180
aacaccgtgt gccccccgtg cggccccgggc ttttataacg atgtggtgag cagcaaaccg				240
tgcaaaccgt gcacctggtg caacctgcmc agcggcagcg aacgcaaaca gctgtgcacc				300
gcgaccagg ataccgtgtg ccgctgccgc gcgggcaccc agccgctgga tagctataaa				360
ccgggcgtgg attgcgcgcc gtgcccgcg gccatttta gccgggcga taaccaggcg				420
tgcaaaccgt ggaccaactg caccctggcg ggcaaacata ccctgcagcc ggcgagcaac				480
agcagcgatg cgatttgcga agatcgcgat ccgccggcga cccagccgca ggaaaccag				540
ggccccccg cgcgcccgat taccgtgcag ccgaccgaag cgtggcccgc caccagccag				600
ggccccgagca cccgcccgtt ggaagtgccg ggccggccgc cgggtggccgc gattctgggc				660
ctgggcctgg tgctgggcct gctgggcccg ctggcgattc tgctggcgct gtatctgctg				720
cgccgcgac agcgcctgcc gccgatgcm cataaaccgc cgggcggcgg cagctttcgc				780
accccgattc aggaagaaca ggcgatgcm catagcacc tggcgaaaat t				831
<210> 79				
<211> 277				
<212> PRT				
<213> Homo sapiens				

<400> 79

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
 20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
 35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys
 50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro
 65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys
 85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly
 100 105 110

Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys
 115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp
 130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn
 145 150 155 160

Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro
 165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
 180 185 190

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
 195 200 205

Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
 210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
 225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 260 265 270
 Thr Leu Ala Lys Ile
 275

<210> 80
 <211> 816
 <212> DNA
 <213> Mus musculus
 <400> 80

atgtatgtgt gggatgcagca gccgaccgcg ctgctgctgc tggcgtgac cctgggctg 60
 accgcgcgcc gcctgaactg cgtgaaacat acctatccga gcggccataa atgctgccgc 120
 gaatgccagc cgggcatgg catggtgagc cgctgcgac ataccgcga taccctgtgc 180
 catccgtgcg aaaccggctt ttataacgaa gcggtgaact atgatacctg caaacagtgc 240
 acccagtgca accatcgag cggcagcga ctgaaacaga actgcacccc gaccaggat 300
 accgtgtgcc gctgcgccccc gggcacccag ccgcgccagg atagcggcta taaactgggc 360
 gtggattgcg tgccgtgccc gccgggcat tttagcccgg gcaacaacca ggcgtgcaaa 420

 ccgtggacca actgcaccct gagcggcaaa cagaccgcc atccggcgag cgatagcctg 480
 gatgcggtgt gcgaagatcg cagcctgctg gcgaccctgc tgtgggaaac ccagcgcgcc 540
 acctttgcc cgaccacctg gcagagcacc accgtgtggc cgcgcaccag cgaactgccg 600
 agcccgccga cctggtgac cccggaaggc ccggcgtttg cggtgctgct gggcctgggc 660
 ctgggctgct tggcgcctg gaccgtgctg ctggcgtgt atctgctgcg caaagcgtgg 720
 cgctgccga acacccgaa accgtgctgg ggcaacagct ttcgacccc gattcaggaa 780
 gaacataccg atgcgcatTT taccctggcg aaaatt 816

<210> 81
 <211> 272
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 81

Met Tyr Val Trp Val Gln Gln Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Ala Leu
 1 5 10 15

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

260 265 270

<210> 82

<211> 597

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 82

atgaaaagcg gcctgtggta ttttttctg ttttgcctgc gcattaaagt gctgaccggc 60

gaaattaacg gcagcgcgaa ctatgaaatg tttatttttc ataacggcgg cgtgcagatt 120

ctgtgcaaat atccggatat tgtgcagcag tttaaaatgc agctgctgaa aggcggccag 180

attctgtgcg atctgaccaa aaccaaaggc agcggcaaca ccgtgagcat taaaagcctg 240

aaattttgcc atagccagct gagcaacaac agcgtgagct tttttctgta taacctggat 300

catagccatg cgaactatta tttttgcaac ctgagcattt ttgatccgcc gccgtttaa 360

gtgaccctga ccggcggcta tctgcatatt tatgaaagcc agctgtgctg ccagctgaaa 420

ttttggctgc cgattggctg cgcggcgctt gtggtggtgt gcattctggg ctgcattctg 480

atattgctggc tgaccaaaaa aaaatatagc agcagcgtgc atgatccgaa cggcgaatat 540

atgtttatgc gcgcggtgaa caccgcgaaa aaaagccgcc tgaccgatgt gaccctg 597

<210> 83

<211> 199

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Met Lys Ser Gly Leu Trp Tyr Phe Phe Leu Phe Cys Leu Arg Ile Lys

1 5 10 15

Val Leu Thr Gly Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile

20 25 30

Phe His Asn Gly Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val

35 40 45

Gln Gln Phe Lys Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Phe Cys His Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu

	85	90	95	
Tyr Asn Leu Asp His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser				
	100	105	110	
Ile Phe Asp Pro Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu				
	115	120	125	
His Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro				
	130	135	140	
Ile Gly Cys Ala Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu				
145	150	155	160	
Ile Cys Trp Leu Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro				
	165	170	175	
Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser				
	180	185	190	
Arg Leu Thr Asp Val Thr Leu				
	195			
<210> 84				
<211> 600				
<212> DNA				
<213> Mus musculus				
<400> 84				
atgaaaccgt attttgcgcg cgtgtttgtg ttttgctttc tgattcgctt gctgaccggc				60
gaaattaacg gcagcgcgga tcatcgcgat tttagctttc ataacggcgg cgtgcagatt				120
agctgcaaat atccggaaac cgtgcagcag ctgaaaatgc gcctgtttcg cgaacgcgaa				180
gtgctgtgcg aactgaccaa aaccaaaggc agcggcaacg cggtagcat taaaaaccg				240
atgctgtgcc tgtatcatct gagcaacaac agcgtgagct tttttctgaa caaccggat				300
agcagccagg gcagctatta ttttgcagc ctgagcattt ttgatccgcc gccgtttcag				360
gaacgcaacc tgagcggcgg ctatctgcat atttatgaaa gccagctgtg ctgccagctg				420
aaactgtggc tgcgggtggg ctgcgcggcg tttgtggtgg tgctgctgtt tggctgcatt				480
ctgattattt ggtttagcaa aaaaaatat ggcagcagcg tgcatgatcc gaacagcgaa				540
tatatgttta tggcggcggg gaacaccaac aaaaaagcc gcctggcggg cgtgaccagc				600
<210> 85				
<211> 200				

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 85

Met Lys Pro Tyr Phe Cys Arg Val Phe Val Phe Cys Phe Leu Ile Arg

1 5 10 15
 Leu Leu Thr Gly Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asp His Arg Met Phe Ser

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

 35 40 45
 Gln Gln Leu Lys Met Arg Leu Phe Arg Glu Arg Glu Val Leu Cys Glu

 50 55 60
 Leu Thr Lys Thr Lys Gly Ser Gly Asn Ala Val Ser Ile Lys Asn Pro

65 70 75 80
 Met Leu Cys Leu Tyr His Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu

 85 90 95
 Asn Asn Pro Asp Ser Ser Gln Gly Ser Tyr Tyr Phe Cys Ser Leu Ser

 100 105 110
 Ile Phe Asp Pro Pro Pro Phe Gln Glu Arg Asn Leu Ser Gly Gly Tyr

 115 120 125
 Leu His Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Leu Trp Leu

 130 135 140
 Pro Val Gly Cys Ala Ala Phe Val Val Val Leu Leu Phe Gly Cys Ile

145 150 155 160
 Leu Ile Ile Trp Phe Ser Lys Lys Lys Tyr Gly Ser Ser Val His Asp

 165 170 175
 Pro Asn Ser Glu Tyr Met Phe Met Ala Ala Val Asn Thr Asn Lys Lys

 180 185 190
 Ser Arg Leu Ala Gly Val Thr Ser

 195 200

<210> 86

<211> 279

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 86

```

atgattcatc tgggccaat tctgtttctg ctgctgctgc cggtaggcggc ggcgcagacc      60
accccgggcg aacgcagcag cctgccggcg tttatccgg gcaccagcgg cagctgcagc      120
ggctgcggca gctgagcct gccctgctg gcgggcctgg tggcggcgga tgcggtggcg      180
agcctgctga ttgtgggcgc ggtgtttctg tgcgcgcgcc cgcgccgag cccggcgcag      240
gaagatggca aagtgtatat taacatgccg ggccgcggc                                279
    
```

<210> 87

<211> 93

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

```

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

Val Gly Ala Val Phe Leu Cys Ala Arg Pro Arg Arg Ser Pro Ala Gln
65           70           75           80
Glu Asp Gly Lys Val Tyr Ile Asn Met Pro Gly Arg Gly
           85           90
    
```

<210> 88

<211> 237

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 88

```

atggatccgc cgggctatct gctgtttctg ctgctgctgc cggtaggcggc gagccagacc      60
agcgcgggca gctgcagcgg ctgccgcacc ctgagcctgc cgctgctggc gggcctggtg      120
    
```

gcggcggatg cggatgatgag cctgctgatt gtgggcgtgg tgtttgtgtg catgcgcccg 180

catggccgcc cggcgcagga agatggccgc gtgtatatta acatgccggg ccgcggc 237

<210> 89

<211> 79

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 89

Met Asp Pro Pro Gly Tyr Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Pro Val Ala
 1 5 10 15
 Ala Ser Gln Thr Ser Ala Gly Ser Cys Ser Gly Cys Gly Thr Leu Ser
 20 25 30
 Leu Pro Leu Leu Ala Gly Leu Val Ala Ala Asp Ala Val Met Ser Leu
 35 40 45

Leu Ile Val Gly Val Val Phe Val Cys Met Arg Pro His Gly Arg Pro
 50 55 60
 Ala Gln Glu Asp Gly Arg Val Tyr Ile Asn Met Pro Gly Arg Gly
 65 70 75

<210> 90

<211> 342

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 90

atggggggac ttgaacctg cagcaggctc ctgctcctgc ctctcctgct ggctgtaagt 60
 ggtctccgct ctgtccaggc ccaggcccag agcgattgca gttgctctac ggtgagcccg 120
 ggcgctgctgg cagggatcgt gatgggagac ctggtgctga cagtgctcat tgccctggcc 180

gtgtacttcc tgggccggct ggtccctcgg gggcgagggg ctgcggaggc agcgacccgg 240
 aaacagcgtg tcaactgagc cgatgcctcct tatcaggagc tccagggtca gaggtcggat 300
 gtctacagcg acctcaacac acagaggccg tattacaaat ga 342

<210> 91

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu

1 5 10 15

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

 20 25 30

Cys Ser Cys Ser Thr Val Ser Pro Gly Val Leu Ala Gly Ile Val Met

 35 40 45

Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu

 50 55 60

Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala Glu Ala Ala Thr Arg

65 70 75 80

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

 85 90 95

Gln Arg Ser Asp Val Tyr Ser Asp Leu Asn Thr Gln Arg Pro Tyr Tyr

 100 105 110

Lys

<210> 92

<211> 345

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 92

atgggggctc tggagccctc ctgggiccctt ctgttccttc ctgtcctcct gactgtggga 60

ggattaagtc ccgtacaggc ccagagtac actttcccaa gatgcgactg ttcttcctg 120

agccctggtg tactggctgg gattgttctg ggtgacttgg tgttgactct gctgattgcc 180

ctggctgtgt acictctggg ccgcctggtc tcccagggtc aaggacagc ggaaggacc 240

cggaacaac acattgctga gactgagtcg ccttatcagg agcttcaggg tcagagacca 300

gaagtataca gtgacctcaa cacacagagg caatattaca gatga 345

<210> 93

<211> 114

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 93

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

<210> 94

<211> 164

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

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

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 85 90 95

Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 100 105 110

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 115 120 125

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 130 135 140

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 145 150 155 160

Leu Pro Pro Arg

<210> 95

<211> 492

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 95

atgaagtgga aggcgctttt caccgcgcc atcctgcagg cacagttgcc gattacagag 60

gcacagagct ttggcctgct ggatccaaa ctctgctacc tgctggatgg aatcctcttc 120

atctatgggtg tcattctcac tgccttgctic ctgagagtga agttcagcag gagcgcagag 180

ccccccgct accagcagg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 240

gaggagtacg atgttttggg caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 300

agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 360

gcctacagt agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 420

taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttccat gcaggccctg 480

ccccctcgct aa 492

<210> 96

<211> 164

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 96

Met Lys Trp Lys Val Ser Val Leu Ala Cys Ile Leu His Val Arg Phe

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

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

 Ala Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Thr
 115 120 125
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 130 135 140
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Thr
 145 150 155 160
 Leu Ala Pro Arg

<210> 97

<211> 495

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 97

atgaagtgga aagtgtctgt tctgcctgc atcctccag tgcggtccc aggagcagag 60

 gcacagagct ttggtctgct ggatccaaa ctctgctact tgctagatgg aatcctcttc 120
 atctacggag tcatcatcac agccctgtac ctgagagcaa aattcagcag gtagtcagag 180
 actgtctcca acctgcagga cccaaccag ctctacaatg agctcaatct agggcgaaga 240
 gaggaatatg acgtcttggg gaagaagcgg gctcgggatc cagagatggg aggcaaacag 300
 cagaggagga ggaaccccca ggaaggcgtg tacaatgcac tgcagaaaga caagatggca 360

gaagcctaca gtgagatcgg cacaaaaggc gagaggcgga gaggcaaggg gcacgatggc 420
ctttaccagg gtctcagcac tgccaccaag gacacctatg atgcctgca tatgcagacc 480

ctggcccctc gctaa 495

<210> 98
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 98

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

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

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

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln

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

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
 245 250

<210> 99

<211> 762

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 99

atgtggcagc tgctgctgcc gaccgcgctg ctgctgctgg tgagcgcggg catgcbcacc 60
 gaagatctgc cgaagcggg ggtgtttctg gaaccgcagt ggtatcgcgt gctggaaaaa 120
 gatagcgtga cctgaaatg ccaggcgcg tatagcccgg aagataacag cacccagtgg 180
 tttcataacg aaagcctgat tagcagccag gcgagcagct atttattga tgcggcgacc 240
 gttgatgata gcggcgaata tcgctgccag accaacctga gcaccctgag cgatccggtg 300

cagctggaag tgcatattgg ctggctgctg ctgcaggcgc cgcgctgggt gtttaaagaa 360
 gaagatccga ttcatctgcg ctgccatagc tggaaaaaca ccgcgctgca taaagtgacc 420
 tatctgcaga acggcaaagg ccgcaaatat tttcatcata acagcgattt ttatattccg 480
 aaagcgaccc tgaagatag cggcagctat ttttgccgcg gcctgtttgg cagcaaaaac 540
 gtgagcagcg aaaccgtgaa cattaccatt acccagggcc tggcggtag caccattagc 600
 agcttttttc cgccgggcta tcaggtgagc ttttgccctgg tgatggtgct gctgtttgcg 660
 gtggataccg gcctgtatth tagcgtgaaa accaacattc gcagcagcac ccgcgattgg 720

aaagatcata aatttaaag ggcgcaagat ccgaggata aa 762

<210> 100

<211> 261

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 100

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

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

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

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

 Thr Pro Arg Glu Tyr Trp Arg Lys Ser Leu Ser Ile Arg Lys His Gln

245 250 255

Ala Pro Gln Asp Lys

260

<210> 101

<211> 786

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 101

atgtttcaga atgcacactc tggaagccaa tggctacttc caccactgac aattctgctg 60

ctgtttgctt ttgcagacag gcagagtgc a gctcttccga aggctgtggt gaaactggac 120

ccccatgga tccaggtgct caaggaagac atggtgacac tgatgtgcga agggaccac 180

aacctggga actctttctac ccagtgggtc cacaacggga ggtccatccg gagccaggtc 240

caagccagtt acacgtttaa ggccacagtc aatgacagtg gagaatatcg gtgtcaaatg 300

gagcagacce gcctcagcga ccctgtagat ctgggagtga tttctgactg gctgctgctc 360

cagaccctc agcgggtggt tctggaaggg gaaaccatca cgctaagggtg ccatagctgg 420

aggaacaaac tactgaacag gatctcattc ttccataatg aaaaatccgt gaggtatcat 480

cactacaaaa gtaatttctc tateccaaaa gccaaccaca gtcacagtgg ggactactac 540

tgcaaaggaa gtctaggaag tacacagcac cagtccaagc ctgtcaccat cactgtccaa 600

gatccagcaa ctacatcctc catctctcta gtctggtacc acactgcttt ctccctagtg 660

atgtgectcc tgtttgcagt ggacacgggc ctttatttct acgtacggag aaatcttcaa 720

accccaggg agtactggag gaagtccctg tcaatcagaa agcaccaggc tcctcaagac 780

aagtga 786

<210> 102

<211> 216

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Met Gly Trp Ile Arg Gly Arg Arg Ser Arg His Ser Trp Glu Met Ser

1 5 10 15

Glu Phe His Asn Tyr Asn Leu Asp Leu Lys Lys Ser Asp Phe Ser Thr

20 25 30

Arg Trp Gln Lys Gln Arg Cys Pro Val Val Lys Ser Lys Cys Arg Glu

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

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

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

<210> 103

<211> 648

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 103

atgggctgga ttgcggccg ccgcagccgc catagctggg aaatgagcga atttcataac 60
 tataacctgg atctgaaaaa aagcgatttt agcaccgct ggcagaaaca gcgctgcccg 120
 gtggtgaaaa gcaaatgccg cgaaaacgcg agcccgtttt tttttgctg ctttattgcg 180
 gtggcgatgg gcattcgctt tattattatg gtggcgattt ggagcgcggt gtttctgaac 240

agcctgttta accaggaagt gcagattccg ctgaccgaaa gctattgcgg cccgtgcccc 300
 aaaaactgga tttgctataa aaacaactgc tatcagtttt ttgatgaaag caaaaactgg 360
 tatgaaagcc aggcgagctg catgagccag aacgcgagcc tgctgaaagt gtatagcaaa 420
 gaagatcagg atctgctgaa actggtgaaa agctatcatt ggatgggcct ggtgcatatt 480
 ccgaccaacg gcagctggca gtgggaagat ggcagcattc tgagcccgaa cctgctgacc 540
 attattgaaa tgcagaaaagg cgattgcgcg ctgtatgcga gcagctttaa aggctatatt 600
 gaaaactgca gcaccccgaa cacctatatt tgcattgcagc gcaccgtg 648

<210> 104

<211> 232

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 104

Met Ala Leu Ile Arg Asp Arg Lys Ser His His Ser Glu Met Ser Lys

1 5 10 15

Cys His Asn Tyr Asp Leu Lys Pro Ala Lys Trp Asp Thr Ser Gln Glu

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Arg Gly Arg Tyr Pro Ile Glu Lys Leu Lys Ile Ser Pro

50 55 60

Met Phe Val Val Arg Val Leu Ala Ile Ala Leu Ala Ile Arg Phe Thr

65 70 75 80

Leu Asn Thr Leu Met Trp Leu Ala Ile Phe Lys Glu Thr Phe Gln Pro

85 90 95

Val Leu Cys Asn Lys Glu Val Pro Val Ser Ser Arg Glu Gly Tyr Cys

100 105 110

Gly Pro Cys Pro Asn Asn Trp Ile Cys His Arg Asn Asn Cys Tyr Gln

115 120 125

Phe Phe Asn Glu Glu Lys Thr Trp Asn Gln Ser Gln Ala Ser Cys Leu

130 135 140

Ser Gln Asn Ser Ser Leu Leu Lys Ile Tyr Ser Lys Glu Glu Gln Asp

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

Gly Ser Ser Phe Lys Ala Tyr Thr Glu Asp Cys Ala Asn Leu Asn Thr
 210 215 220
Tyr Ile Cys Met Lys Arg Ala Val

225 230

<210> 105

<211> 696

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 105

atggcgctga ttcgcatcg caaaagccat catagcgaaa tgagcaaatg ccataactat 60
gatctgaaac cggcgaaatg ggataccagc caggaacagc agaaacagcg cctggcgctg 120
accaccagcc agccgggcca aaacggcatt attcgcggcc gctatccgat tgaaaaactg 180
aaaattagcc cgatgtttgt ggtgcgctg ctggcgattg cgctggcgat tcgctttacc 240

ctgaacaccc tgatgtggct ggcgattttt aaagaaacct ttcagccggt gctgtgcaac 300
aaagaagtgc cggtgagcag ccgcaaggc tattgcggcc cgtgcccga caactggatt 360
tgccatcgca acaactgcta tcagtttttt aacgaagaaa aaacctggaa ccagagccag 420
gcgagctgcc tgagccagaa cagcagcctg ctgaaaattt atagcaaaga agaacaggat 480
tttctgaaac tggtgaaaag ctatcattgg atgggcctgg tgcagattcc ggcgaacggc 540
agctggcagt gggaagatgg cagcagcctg agctataacc agctgaccct ggtggaaatt 600
ccgaaaggca gctgcgcggt gtatggcagc agctttaaag cgtataccga agattgcgcg 660

aacctgaaca cctatatttg catgaaacgc gcggtg 696

<210> 106

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CD28 YMM

<400> 106

Tyr Met Asn Met

1

<210> 107

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CD28 PYAP

<400> 107

Pro Tyr Ala Pro

1

<210> 108

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CD28 FMNM

<400> 108

Phe Met Asn Met

1

<210> 109

<211

> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> CD28 AYAA

<400> 109

Ala Tyr Ala Ala

1

<210> 110

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Signal peptide

<400> 110

Ala Thr Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala
 1 5 10 15

Thr Gly Val His Ser
 20

<210> 111

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Signal peptide DNA sequence

<400> 111

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcactcc 57

<210> 112

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-CD20 (GA101) heavy chain

<400> 112

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 Ala Phe Ser Tyr Ser
 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110

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

115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

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

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

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

 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys
 <210> 113
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-CD20 (GA101) light chain
 <400> 113
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
 85 90 95
 Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 114

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-FAP(4B9) PGLALA heavy chain

<400> 114

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala 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 Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

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

340 345 350
 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 115

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-FAP(4B9) light chain

<400> 115

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 116
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-CEA (A5B7) PGLALA heavy chain
 <400>
 > 116
 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 Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser 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 Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Leu Arg Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

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

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

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 117
 <211> 223
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-CEA (A5B7) light chain
 <400> 117

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Arg Gly Ile Asn Val Gly Ala
 20 25 30

Tyr Ser Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr
 35 40 45

Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser Gly Val
 50 55 60

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

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

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
180 185 190
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
195 200 205
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 118
<211> 451
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Anti-CEA (T84.66LCHA) PGLALA heavy chain

<400> 118
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 Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr 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 Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 119

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-CEA (T84.66LCHA) light chain

<400> 119

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

35	40	45	
Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala			
50	55	60	
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser			
65	70	75	80
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn			
	85	90	95
Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
100	105	110	
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
115	120	125	
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
130	135	140	
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
145	150	155	160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
	165	170	175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
180	185	190	
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro			
195	200	205	
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
210	215		
<210>	120		
<211>	451		
<212>	PRT		
<213>	Artificial sequence		
<220><223>	Anti-CEA (CH1A1A98/992F1) PGLALA heavy chain		
<400>	120		
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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

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

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

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

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

 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 121
 <211> 215

 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-CEA (CH1A1A98/992F1) light chain
 <400> 121
 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 Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg 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 His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

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

 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 122
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-CEA (hMN14) PGLALA heavy chain

<400> 122

Glu 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 Ser Ala Ser Gly Phe Asp Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Ile His Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Ala Pro Ser Leu
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Ser Leu Tyr Phe Gly Phe Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 123

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-CEA (hMN14) light chain

<400> 123

Asp 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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ser

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His 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 Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Leu Tyr Arg Ser

 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

 100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr

 115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

 130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser

 165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala

 180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe

 195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys

 210

<210> 124

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-TNC (2B10) PGLALA heavy chain

<400> 124

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 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 Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

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

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

 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450

<210> 125

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-TNC (2B10) light chain

<400> 125

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 Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg 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 Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 126

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-HER2 (PER) PG LALA heavy chain 1

<400> 126

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 Thr Asp Tyr

 20 25 30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe

 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110

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

 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 127

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-HER2 (PER) light chain 1

<400> 127

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly

20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr

85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 128

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-HER2 (PER) PG LALA heavy chain 2

<400> 128

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 Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg 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 Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

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

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

 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 129

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-HER2 (PER) light chain 2

<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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 130

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

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

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

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

 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330