



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년10월11일

(11) 등록번호 10-2587454

(24) 등록일자 2023년10월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)

(52) CPC특허분류
C07K 14/705 (2013.01)
C07K 16/2833 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0133466

(22) 출원일자 2021년10월07일

심사청구일자 2021년10월07일

(65) 공개번호 10-2022-0046506

(43) 공개일자 2022년04월14일

(30) 우선권주장
1020200129446 2020년10월07일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

CN110128528 B

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 24 항

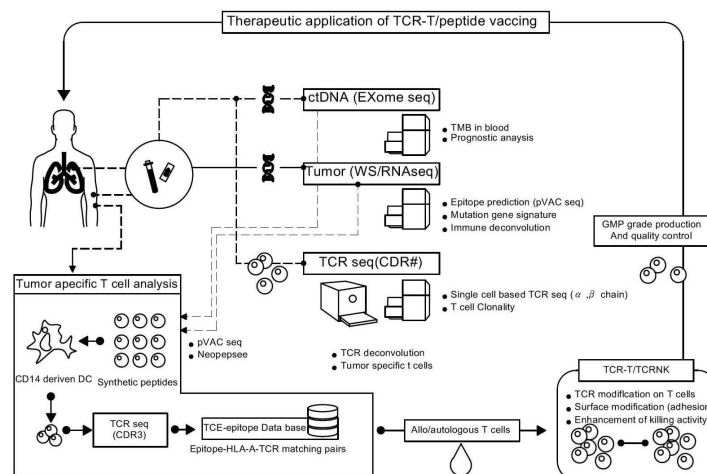
심사관 : 곽희찬

(54) 발명의 명칭 T 세포 수용체, T 세포 수용체를 포함하는 면역 세포 및 이를 이용하는 방법

(57) 요약

본 명세서에서는 항원 특이적 T-세포 수용체뿐만 아니라 핵산, 벡터 및 이를 포함하는 면역 세포 및 이를 이용하는 방법이 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12N 5/0646 (2023.05)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

C12N 2510/00 (2013.01)

(72) 발명자

김재환

서울특별시 동작구 동작대로29길 110, 405동 402호(사당동, 신동아아파트)

변영선

서울특별시 은평구 백련산로 161, 202호(응암동, 에스클래스)

김영섭

경기도 화성시 동탄하나3길 3-2, 301호(능동)

신춘봉

서울특별시 광진구 자양번영로11길 35-8, 201호(자양동)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020190019092 A

US20200237820 A1

KR1020180118783 A

WO2018234319 A1

KR100304042 B1

명세서

청구범위

청구항 1

T 세포 수용체(T cell receptor)로서,

(i) 아미노산 서열 CAFIGHGGSQGNLIF (서열번호 1)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSMQGAMSEQFF(서열번호 13)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(ii) 아미노산 서열 CAATGTYKYIF (서열번호 2)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSPEFARALDNQPQHF (서열번호 14)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(iii) 아미노산 서열 CAYGGGSEKLVF (서열번호 3)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSSATGTQGYTF (서열번호 15)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(iv) 아미노산 서열 CALINARLMF (서열번호 4)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSFTNTGELFF (서열번호 16)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(v) 아미노산 서열 CAVNGGSQGNLIF (서열번호 5)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSMWQGNQEYF (서열번호 17)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(vi) 아미노산 서열 CAMREGYGGATNKLIF (서열번호 6)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSVPGTTSYNEQFF (서열번호 18)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(vii) 아미노산 서열 CAYNNGDGGGSQGNLIF (서열번호 7)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CATSRDRSTDYQYF (서열번호 19)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(viii) 아미노산 서열 CATDGGGARQLTF (서열번호 8)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSLGLSGYTF (서열번호 20)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(ix) 아미노산 서열 CATLYNTDKLIF (서열번호 9)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSQSMNTEAFF (서열번호 21)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정

영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(x) 아미노산 서열 CAMRGPWRGSSGSARQLTF (서열번호 10)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASRTGLSYEQYF (서열번호 22)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(xi) 아미노산 서열 CALSVRGFKTSYDKVIF (서열번호 11)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSFGSAYNEQFF (서열번호 23)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

(xii) 아미노산 서열 CAVNMDSSYKLIF (서열번호 12)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및

아미노산 서열 CASSFPTARSNTEAFF (서열번호 24)로 이루어진 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하는, T 세포 수용체.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 T 세포 수용체는,

HVKITDFGR (서열번호 49)의 아미노산 서열 또는 이의 MHC-결합 형태 내에 포함된 에피토프에 결합할 수 있는, T 세포 수용체.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 에피토프는,

HLA-A*33:03 및 HLA-A*31:01 중 적어도 하나와 결합 친화도(binding affinity)를 가지는, T 세포 수용체.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 T 세포 수용체는,

EGFR L858R 돌연변이를 표적으로 하는, T 세포 수용체.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 TCR 알파 사슬 가변 영역은,

서열번호 55의 아미노산 서열로 이루어지고,

상기 서열번호 55는

서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는, T 세포 수용체.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 TCR 알파 사슬 가변 영역은,

서열번호 57의 아미노산 서열로 이루어지고,

상기 서열번호 57은

서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는, T 세포 수용체.

청구항 7

제 1항에 있어서,
상기 TCR 베타 사슬 가변 영역은,
서열번호 56의 아미노산 서열로 이루어지고,
상기 서열번호 56은
서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는, T 세포 수용체.

청구항 8

제 1항에 있어서,
상기 TCR 베타 사슬 가변 영역은,
서열번호 58의 아미노산 서열로 이루어지고,
상기 서열번호 58은
서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는, T 세포 수용체.

청구항 9

제 1항에 있어서,
상기 T 세포 수용체는,
단일 사슬 유형(single chain type)인, T 세포 수용체.

청구항 10

제 2항에 있어서,
상기 TCR 알파 사슬 가변 영역 및 상기 TCR 베타 사슬 가변 영역은,
링커 서열에 의해 연결되는, T 세포 수용체.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10항 중 어느 한 항에 기재된 T 세포 수용체를 인코딩하는, 핵산.

청구항 12

제 11항에 있어서,
상기 핵산은,
서열번호 51 내지 54 중 적어도 하나의 핵산 서열; 또는
상기 서열번호 51 내지 54 중 적어도 하나의 핵산 서열과 적어도 80 % 이상의 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는, 핵산

청구항 13

제 12항에 있어서,
상기 서열번호 51 및 53은,
TCR 알파 사슬 가변 영역을 인코딩하는 핵산 서열인, 핵산.

청구항 14

제 12항에 있어서,
상기 서열번호 52 및 54은,
TCR 베타 사슬 가변 영역을 인코딩하는 핵산 서열인, 핵산.

청구항 15

제 11항에 있어서,
상기 핵산은,
Furin, 2A 및 IRES 서열을 더 포함하는, 핵산.

청구항 16

제 11 항에 기재된 핵산을 포함하는, 벡터.

청구항 17

제 16항에 있어서,
상기 벡터는,
발현 벡터인, 벡터.

청구항 18

제 17항에 있어서,
상기 발현 벡터는,
렌티 바이러스 벡터인, 벡터.

청구항 19

제 16항에 있어서,
상기 벡터는,
서열번호 50의 핵산 서열; 또는
상기 서열번호 50의 핵산 서열과 적어도 80 % 이상의 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는, 벡터

청구항 20

제 1 항 내지 제 10항 중 어느 한 항에 기재된 T 세포 수용체를 포함하는, 분리된 면역 세포.

청구항 21

제 20 항에 있어서,
상기 면역 세포는,
NK-92 세포주인, 분리된 면역 세포.

청구항 22

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 기재된 T 세포 수용체를 포함하는 면역세포를 포함하는, 고형암 예방 또는 치료용 세포 치료제.

청구항 23

제 22항에 있어서,
효과 T 세포(effector T cell)를 더 포함하는, 고형암 예방 또는 치료용 세포 치료제.

청구항 24

제 22항에 있어서,
상기 고형암은,
폐암인, 고형암 예방 또는 치료용 세포 치료제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 T 세포 수용체, T 세포 수용체를 포함하는 NK 세포 및 이를 이용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 2018년 기준 암치료를 위한 세포치료제는 길리어드, 노바티스와, MOLMED에서 개발된 혈액암 치료제인 Axicabtagene ciloleucel, Tisagenlecleucel, Immuncell-LC 등이 이미 시장에서 암치료를 활용되고 있고, phase 2/3에 진입한 세포치료제들도 임상시험을 진행중에 있다. 전체 세포치료제 개발의 50 % 이상이 북미(USA)에서 진행되고 있으며(2018년 기준 344건), 중국에서도 상당한 부분 연구가 진행되고 있다(203건).

[0003] 암세포의 표면을 인식하고 활성화되는데 적합한 CAR-T, TCR을 변형시킨 TCR-T, 종양의 항원을 인식하는 자가 T 세포, TIL, 등 다양한 형태의 세포치료제가 개발되어 전임상 및 임상연구에 진행중이다. 특히, CD19를 타겟하는 세포치료제가 가장 많이 개발되고 있으며, TAA/TSA, BCMA, GD2, HER2 등이 뒤를 잇고 있다. 마켓까지 진출한 세포치료제로서는 CD19가 거의 유일하며, 현재 IND 프로세스가 대부분의 임상과 전임상 연구와 연계되어 진행중이다.

[0004] 세포치료제를 현재 사용중인 면역관문억제제(Immune check point inhibitor)와 비교하였을 때, 종양 내 T세포의 결여에 의하여 면역관문억제제에 대한 효능이 충분하지 않다는 점과, 종양 내 T세포 중 종양의 항원을 타겟하는 T세포는 5% 내외로 적다는 점에서 면역치료제에 대한 한계점이 존재한다. 따라서, 종양을 타겟하는 면역세포만 증식하여 활용한다는 점에서 종양을 집중적으로 공격할 수 있는 세포치료제가 이점이 있다.

[0005] 폐암의 경우 전 세계적으로 높은 사망률을 가지고 있으며, 특히 아시아 폐암환자가운데 EGFR 돌연변이 종양은 50%로 상당히 높은 편이며, 이 가운데 27%가 L858R에 대한 돌연변이를 가지고 있다. EGFR 돌연변이의 특징은 EGFR 표적치료제에 대한 효과가 초반에 잘 보이지만 8개월 내지 10개월 뒤에 대부분의 환자가 획득내성을 가지며, 획득내성 이후에 대한 치료제가 전무한 상태이다. 특히 면역관문억제제와의 병용치료에 대한 효과가 없음이 알려지면서, 새로운 치료제의 개발이 필요한 상태이다.

[0006] 이에, 이러한 종양의 성장을 지시하는 결정적인 유전적 손상을 특이적으로 표적하는 치료제가 필요한 실정이다.

[0007] 발명의 배경이 되는 기술은 본 발명에 대한 이해를 보다 용이하게 하기 위해 작성되었다. 발명의 배경이 되는 기술에 기재된 사항들이 선행기술로 존재한다고 인정하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 한편, 자연 살해 세포(Natural Killer Cell, NK cell)는 선천성 면역계의 주요 성분을 구성하는 세포독성 림프구이다. 일반적으로 순환 림프구 중 약 10-15%를 나타내는 NK 세포는, 항원에 대해 비-특이적이며, 선행 면역 감각 없이 바이러스가 감염된 세포를 포함하는 많은 악성 세포들을 표적화하여 결합할 수 있으며, 나아가, 이들을 사멸시킬 수 있다. 이때, 표적화 세포의 사멸은 세포 용해를 유도함으로써 발생시킬 수 있다.

[0009] 따라서, NK 세포는 치료 목적으로, 대상체의 말초 혈액 림프구로부터 분리되고, 분리된 NK 세포는 다시 세포 배양을 통하여 많은 수를 확보한 뒤, 대상체 내에 재주입되는 방식으로 사용되고 있다. 이러한, NK 세포의 치료 즉, 생체 외 및 생체 내 주입 요법은 감염 또는 종양 세포에 있어 매우 효과적인 세포 사멸을 유도할 수 있음에 따라, 각광을 받고 있다. 그러나, NK 세포 주입 요법은 표적에 제한적이라는 한계점을 가지고 있다.

[0010] 이에, 본 발명의 발명자들은 이를 극복하기 위하여, 유전자 변형을 통한 NK 세포를 주목하였다. 보다 구체적으로, 종래의 NK 세포 기반의 세포 치료제는 Fc 수용체의 발현을 통하여 항체 의존 세포 독성 반응을 유도하거나,

키메라 항원 수용체의 발현을 통한 암 표적화 등의 전략을 세우고 있다. 그러나, 이러한 전략은 고형암의 치료에 있어 큰 효과를 얻지 못하고 있는 실정이다.

- [0011] 이에, 본 발명의 발명자들은 전술한 고형암 치료의 한계를 극복하기 위하여, 특정 항원에 특이적인 T 세포의 수용체를 주목하였고, 이를 통하여 NK 세포의 고형암에 대한 표적화를 증진시키고자 하였다.
- [0012] 결국, 본 발명의 발명자들은 고형암에 대한 특정 분자 변이를 인식할 수 있는 T 세포 수용체를 확인하였고, 이를 NK 세포(NK-92) 및 세포주에서 발현되도록 유전자를 변형시켜, 고형암에 대한 NK 세포의 표적화를 향상시킬 수 있었다.
- [0013] 나아가, 본 발명의 발명자들은 전술한 NK 세포에 Fc 수용체를 더 포함할 경우, 표적화된 고형암에 대한 면역 반응이 더욱 향상시킬 수 있다는 것을 인지하였으며, 이에 따라, 본 발명의 발명자들은 T 세포 수용체 및 Fc 수용체를 모두 포함하여, 고형암에 대한 표적화 및 이의 항암 효과가 더욱 향상된 NK 세포를 개발하였다.
- [0014] 보다 구체적으로, 본 발명의 발명자들은 암환자의 WES과 RNA seq 결과를 토대로 항원 예측율 90% 이상을 보여주는 분석 플랫폼을 확인하였다. 이때, 분석에 적용된 알고리즘은 Net-MHC 알고리즘을 기반으로 한 NeoPepsee를 통해 항원 후보군을 확인하였다. 그 다음, 예측된 항원을 합성하여, DC 및 CD8 T세포에 처리하여 항원을 검증하는 과정을 수행하였다.
- [0015] 이에, L858R에 대한 항원을 인식할 수 있는 주요 HLA-A 대립 유전자(alleles)를 발견하였다. 그 결과, A*33:03에 대한 HVKITDFGR항원이 결합 친화도(binding affinity)가 높을 뿐만 아니라, neoPepsee에서 제공하는 10가지 이상의 파라미터의 기준에서 항원으로서 충분히 작용할 수 있음을 예측할 수 있었다.
- [0016] 이를 기반으로 종양 특이 항원을 예측할 수 있는 검증 플랫폼을 구축하여 항원에 대한 반응을 확인하였다. 검증 플랫폼은 HLA-A가 매칭되는 정상인의 말초 혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)에서 수지상 세포(dendritic cell, DC)를 분화시켜 항원을 인식하고, 이를 기반으로 L858R에 대한 항원 반응도를 측정하였다.
- [0017] 그 결과, 예측된 바와 같이 L858R을 인식하는 HLA-A를 가진 환자에서 종양에 특이적으로 반응하는 T세포가 생성되어, 항원에 대한 반응(IFN-gamma ELISPOT)을 확인하였다.
- [0018] 또한, 전술한 과정에 의하여 확인된 T세포의 TCR이 면역 세포 내에서 발현할 수 있음을 확인하였다.
- [0019] 이에, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 암세포의 표면에 증가하는 MHC-1-L858R 신항원 복합체(neoantigen complex)를 타겟하는 TCR을 가진 T 세포 혹은 NK-92세포를 제공하여, 암세포를 직접적으로 사멸시킬 수 있는 EGFR- 돌연변이 타겟 세포치료제를 제공하는 것이다.
- [0020] 나아가, 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 전술한 TCR을 가진 T 세포 혹은 NK-92세포에 Fc 수용체를 더 포함함으로써, 이에 대한 면역 반응을 더 향상시켜, 암세포에 대한 사멸기능이 더욱 향상된 세포치료제를 제공하는 것이다.
- [0021] 나아가, 전술한 HLA-A의 아시아인 비중은 20 % 이상으로서, EGFR의 돌연변이를 가지고 있는 상당한 환자들이 본 발명에 대한 혜택을 볼 수 있을 것으로 기대하고 있다.
- [0022] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0023] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명은 T 세포 수용체(T cell receptor)로서,
- [0024] (i) 아미노산 서열 CAFIGHGGSQGNLIF (서열번호 1) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0025] 아미노산 서열 CASSMQGAMSEQFF(서열번호 13) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0026] (ii) 아미노산 서열 CAATGTYKYIF (서열번호 2) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0027] 아미노산 서열 CASSPEFARALDNQPQHF (서열번호 14) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬

가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,

- [0028] (iii) 아미노산 서열 CAYGGGSEKLVF (서열번호 3) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0029] 아미노산 서열 CASSATGTQGYTF (서열번호 15) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0030] (iv) 아미노산 서열 CALINARLMF (서열번호 4) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0031] 아미노산 서열 CASSFTNTGELFF (서열번호 16) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0032] (v) 아미노산 서열 CAVNGGSQGNLIF (서열번호 5) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0033] 아미노산 서열 CASSMWQNGEQYF (서열번호 17) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0034] (vi) 아미노산 서열 CAMREGYGGATNKLIF (서열번호 6) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0035] 아미노산 서열 CASSVPGTTSYNEQFF (서열번호 18) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0036] (vii) 아미노산 서열 CAYNNGDGSQGNLIF (서열번호 7) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0037] 아미노산 서열 CATSRDRSTDYQYF (서열번호 19) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0038] (viii) 아미노산 서열 CATDGSARQLTF (서열번호 8) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0039] 아미노산 서열 CASSLGLSGYTF (서열번호 20) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0040] (ix) 아미노산 서열 CATLYNTDKLIF (서열번호 9) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0041] 아미노산 서열 CASSQMNTAEFF (서열번호 21) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0042] (x) 아미노산 서열 CAMRGPWRGSSGSARQLTF (서열번호 10) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0043] 아미노산 서열 CASRTGLSYEQYF (서열번호 22) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0044] (xi) 아미노산 서열 CALSVRGFKTSYDKVIF (서열번호 11) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0045] 아미노산 서열 CASSFGSAYNEQFF (서열번호 23) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하거나,
- [0046] (xii) 아미노산 서열 CAVNMDSSYKLIF (서열번호 12) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 알파 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3, 및
- [0047] 아미노산 서열 CASSFPTARSNTAEFF (서열번호 24) 또는 이의 변이체를 포함하는 T 세포 수용체 (TCR) 베타 사슬 가변 영역의 상보 결정 영역 (CDR) 3을 포함하는, T 세포 수용체를 제공한다.
- [0048] 본 발명의 특징에 따르면, T 세포 수용체는, HVKITDFGR (서열번호 49)의 아미노산 서열 또는 이의 MHC-결합 형태

내에 포함된 에피토프에 결합할 수 있으며, 에피토프는, HLA-A*33:03 및 HLA-A*31:01 중 적어도 하나와 결합 친화도(binding affinity)를 가질 수 있다.

- [0049] 본 발명의 다른 특징에 따르면, T 세포 수용체는, EGFR L858R 돌연변이를 표적으로 할 수 있다.
- [0050] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, TCR 알파 사슬 가변 영역은, 서열번호 55의 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 서열번호 55는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0051] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, TCR 알파 사슬 가변 영역은, 서열번호 57의 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 서열번호 57는 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0052] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, TCR 베타 사슬 가변 영역은, 서열번호 56의 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 서열번호 56는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0053] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, TCR 베타 사슬 가변 영역은, 서열번호 58의 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 서열번호 58는 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0054] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, T 세포 수용체는, 단일 사슬 유형(single chain type)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0055] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 상기 TCR 알파 사슬 가변 영역 및 상기 TCR 베타 사슬 가변 영역은, 링커 서열에 의해 연결될 수 있다.
- [0056] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명은, 전술한 내용에 따른 TCR을 인코딩하는 핵산이 제공된다.
- [0057] 본 발명의 특징에 따르면, 핵산은, 서열번호 51 내지 54 중 적어도 하나의 핵산 서열; 또는 상기 서열번호 51 내지 54 중 적어도 하나의 핵산 서열과 적어도 80 % 이상의 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함할 수 있다.
- [0058] 이때, 서열번호 51 및 53은, TCR 알파 사슬 가변 영역을 인코딩하는 핵산 서열을 의미할 수 있으며, 서열번호 52 및 54은, TCR 베타 사슬 가변 영역을 인코딩하는 핵산 서열을 의미할 수 있다.
- [0059] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 핵산은, Furin, 2A 및 IRES 서열을 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0060] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명은, 전술한 내용에 따른 핵산을 포함하는 벡터가 제공된다.
- [0061] 이때, 벡터는 발현 벡터로서, 렌티 바이러스 벡터일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 당업계에서 사용될 수 있는 발현 벡터를 모두 포함할 수 있다.
- [0062] 본 발명의 특징에 따르면, 벡터는, 서열번호 50의 핵산 서열; 또는 상기 서열번호 50의 핵산 서열과 적어도 80 % 이상의 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명은, 전술한 내용에 따른 T 세포 수용체를 포함하는면역 세포가 제공된다.
- [0064] 이때, 면역 세포는 전술한 내용에 따른 TCR, 핵산 및 벡터를 포함할 수 있으며, NK-92 세포일 수 있다. 즉, 면역 세포는 전술한 내용에 따른 TCR, 핵산 및 벡터를 포함함에 따라, TCR이 발현된 NK-92일 수 있다.
- [0065] 나아가, 면역 세포는, NK-92 세포일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, TCR이 삽입되어 변형될 수 있는 다양한 면역세포를 모두 포함할 수 있다.
- [0066] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명은 전술한 T 세포 수용체를 포함하는 면역세포를 포함하는 세포 치료제가 제공된다.
- [0067] 본 발명의 특징에 따르면, 세포 치료제는 효과 T 세포(effector T cell)를 더 포함할 수 있다.
- [0068] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 세포 치료제는, 고형암(solid tumor) 치료제일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 본 발명의 일 실시예에 따른 서열번호 49의 HVKITDFGR 항원을 포함하는 모든 암종에 대한 치료제일 수 있다.
- [0069] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 다만, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것에 불과하므로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.

발명의 효과

- [0070] 본 발명은, 획득 내성이 생긴 종양에 대한 새로운 치료제로 제안될 수 있다. 보다 구체적으로, 종래의 폐암 치료제는 초반에는 효과가 잘 보이지만 8 내지 10 개월 뒤 대부분의 환자에서 획득 내성이 발생한다. 그러나, 이에 대한 대체 치료제가 전무한 상태이다.
- [0071] 이에, 본 발명은 이러한 한계점을 극복할 수 있는 새로운 치료제로 제안될 수 있다. 또한, 본 발명은 획득 내성뿐만 아니라 돌연변이가 발생하여 잠복한(harboring) EGFR을 표적하여 치료할 수 있는 효과가 있다.
- [0072] 나아가, 본 발명은, 반감기가 존재하는 약제들과는 달리 T 세포에 대한 초기 활성화(activation)에 의하여 다른 면역 반응까지 함께 증가시킴으로서, 종양에 대한 살해 효과(killing effect)를 상승시킬 수 있는 효과가 있다.
- [0073] 보다 구체적으로, 본 발명은 메모리 T 세포의 분화 및 증식을 유도하여, 암 세포의 방어 기작을 피해 암 또는 종양성 상태를 치료, 재발, 진행, 및 전이를 예방할 수 있는 효과가 있다.
- [0074] 또한, 본 발명은 종래의 TKI 및 PD-1/PD-L1과 같은 치료제와 병행하여 각각 약제의 효과를 상승시키고, 이에, 환자의 생존율을 증가시킬 수 있는 효과가 있다.
- [0075] 본 발명에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용에 의해 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

- [0076] 도 1은 암환자의 항원을 예측하는 시스템 및 이를 근거로 TCR-T 또는 TCR-NK 세포 제조 방법을 예시적으로 도시한 것이다.
- 도 2는 Neopepsee로 예측된 항원 검증 과정을 예시적으로 도시한 것이다.
- 도 3은 검증 플랫폼으로 분석된 항원 특이적인 T 세포를 검증 결과를 도시한 것이다.
- 도 4a 내지 4b는 L858R를 타겟하는 HLA-A와 항원 서열 (sequences) 결과를 도시한 것이다.
- 도 5a 내지 5d는 EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착하는 종양 특이적 T 세포에 대한 결과이다.
- 도 6은 항원(EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer)에 특이적으로 활성이 유도된 T 세포의 세포 살상 인자에 대한 결과이다.
- 도 7은 항원(EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer)에 특이적으로 활성이 유도된 T 세포의 수용체에 대한 분포도이다.
- 도 8은 T 플라스크 배양 시 NK-92 세포 주에 대한 결과이다.
- 도 9는 FBS 및 IL-2의 농도에 따른 NK-92의 증식 효율에 대한 결과이다.
- 도 10은 배양 방법에 따른 NK-92 세포 주의 세포 증식 효율에 대한 결과이다.
- 도 11a 및 도 11b는 배양 조건에 따른 NK-92 세포 주 및 Fc 수용체를 발현하는 NK-92 세포 주의 활성 인자 및 독성 인자에 대한 결과이다.
- 도 12는 단백질 발현 promoter에 따른 NK-92 세포의 GFP 발현 효율에 대한 결과이다.
- 도 13 및 13b는 NK-92 세포에서 케모카인 수용체의 발현에 대한 결과이다.
- 도 14a 및 14b는 NK-92 세포에서의 CD3 분자 및 T 세포 수용체 분자의 발현에 대한 결과이다.
- 도 15a는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR 서열을 발현시키기 위한 렌티바이러스 벡터맵이다.
- 도 15b는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR 서열을 발현시키기 위한 CD3 분자 및 T 세포 수용체의 핵산 서열에 대한 모식도이다.
- 도 16a 및 16b는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 세포 활성을 확인한 결과이다.

도 17a 및 17b는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포에 대한 세포 살상 효과를 확인한 결과이다.

도 18은 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포의 종양 억제 효과를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0077] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "T 세포 수용체 (T-cell receptor, TCR)"는, 천연 (natural) TCR 뿐만 아니라 TCR 변이체, 단편, 및 구조물을 포함한다. 따라서, TCR은 선택적으로 추가의 도메인 및/또는 모이어티를 포함하여, TCR 알파 및 베타 사슬을 포함하는 헤테로다имер 뿐만 아니라 다량체 및 단일 사슬 구조물을 포함한다.
- [0078] 본 명세서에서 사용되는 용어 "에피토프 (epitope)"는, 일반적으로 결합 도메인이 인식하는 항원, 전형적으로 (폴리-) 펩타이드 상의 부위를 의미한다. 이때, 결합 도메인은 항원 결합 부위를 의미한다. 즉, 항원 표적의 특정 에피토프와 결합 및 상호작용하는 분자의 도메인을 의미한다.
- [0079] 본 명세서에서 사용되는 용어 "자연 살해 세포 (Natural killer cell, NK cell)"는, 특정한 항원 자극의 부재 하에, 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 클래스에 따른 제한 없이 표적 세포를 사멸시키는 면역계의 세포이다. 표적 세포는 암 또는 종양 세포일 수 있다. NK 세포는 CD56의 존재 및 CD3 표면 마커의 부재를 특징으로 한다. 따라서 인위적으로 CD3-gamma, delta, zeta 등을 삽입하여 연구를 진행할 예정이다.
- [0080] 본 명세서에서 사용되는 용어 "벡터 (vector)"는, 형질전환 과정에 의해 허용 세포 내에 위치되는 경우, 벡터가 복제될 수 있도록 무손상 레플리콘을 포함하는 비 염색체 핵산을 지칭한다. 벡터는 박테리아에서 복제될 수 있으나, 포유류 세포에서는 제한된 복제 능력을 갖으며, 바이러스성 또는 비-바이러스성일 수 있다. 핵산을 전달하기 위한 비-바이러스 벡터는 네이키드 DNA, 단독 또는 양이온성 중합체와 조합하여 양이온성 지질과 복합체화된 DNA, 음이온성 및 양이온성 리포솜, 리포솜에 함유된 양이온성 중합체, 이중 폴리리신, 규정된 길이의 올리고 펩티드, 폴리에틸렌아민과 축합된 DNA를 포함하는 DNA 단백질 복합체 및 입자, 바이러스 및 폴리리신 DNA를 포함하는 3원 복합체를 포함한다.
- [0081] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역 세포"는, T 세포, 자연 살해 T (natural killer T cell, NKT), 자연 살해 세포 (natural killer cell, NK), 인간 배아 줄기 세포, 조혈 줄기 세포 (hematopoietic stem cell, HSC) 및 유도 다능성 줄기 세포 (induced pluripotent stem cells, iPS)를 포함할 수 있다. 이때, T 세포는 세포독성 T 세포 (CTL), 조절 T 림프구, 염증성 T 림프구, 헬퍼 T 림프구 및 감마-델타 T 세포, 선천성 림프구 (ILC1, ILC2)일 수 있으며, 나아가, 전술한 T 세포는 CD4+, CD8+ 및 이들의 혼합 집단 일 수 있다.
- [0082] 본 명세서에서 사용되는 용어 "인간 백혈구 항원 (human leukocyte antigen, HLA)"는, 면역계 조절의 원인이 되는 세포의 표면 상에서 구조적 적합성 복합체 (MHC) 단백질을 암호화하는 인간 유전자를 지칭한다.
- [0083] 본 명세서에서 사용되는 용어 "수지상 세포 (dendritic cells, DC)"는 림프성 또는 비-림프성 조직에서 발견되는 형태학적으로 유사한 세포 유형의 다양한 집단의 구성원을 의미한다. 이러한 세포는 이들의 독특한 형태, 및 항원 펩티드를 T 세포에 제시하는 단백질인 표면 MHC 클래스 I 및 II 분자의 높은 발현 수준을 특징으로 한다. DC를 포함한 APC (대식세포 등) 및 T 세포는 말초 혈액으로부터 유래된 말초 혈액 단핵 세포 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC)와 같이 편리하게 말초 혈액 및 다수의 조직으로부터 분리되거나 유래 및 분화될 수 있다.
- [0084] 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료"는 암의 증상이 호전되거나 이롭게 되는 모든 행위라면 제한없이 포함할 수 있다.
- [0085] 본 명세서에서 사용되는 용어 "특이적(으로) 결합"은, 일반적으로 TCR이 이의 항원 결합 부위를 통해 무작위의 무관한 비-표적 항원보다 이의 의도된 항원 표적에 더 쉽게 결합함을 의미한다. 나아가, "특이적으로 결합한다"는 이의 항원 표적에 대한 TCR의 결합 특이성이 비표적 항원에 대한 이의 결합 특이성보다 적어도 약 5배, 바람직하게는 10배, 보다 바람직하게는 25배, 보다 더 바람직하게는 50배 및 가장 바람직하게는 100배 이상 더

를 수 있음을 의미할 수 있다.

[0086] **항원 예측 및 검증 과정**

[0087] 이하에서는, 도 1 내지 3b를 참조하여, Neopepsee를 통한 항원 예측 및 검증 과정을 설명한다.

[0088] 도 1은 암환자의 항원을 예측하는 시스템 및 이를 근거로 TCR-T 또는 TCR-NK 세포 제조 방법을 예시적으로 도시한 것이다. 예를 들어, 환자의 종양으로부터 RNA sequencing, whole exome sequencing이 그리고 normal blood에서의 reference WES을 통해 환자종양에서 나타나는 체성돌연변이를 확보한 후, 환자로 부터 유래된 단핵구를 수지상세포로 분화하여, 앞서 확인된 돌연변이 유전자로 부터 확인되는 에피토프를 노출하여 항원제시를 통해 T 세포를 증식시키고, 증식된 T세포의 반응도를 확인하고, 확인된 반응을 기반으로 T세포의 TCR sequencing을 통해 TCR의 CDR3서열을 확보한 뒤, 본 서열이 들어가 있는 유전자 전달체를 통해 T세포를 종양 특이적인 세포로 변형시킨다. 이에, 자가 T세포 혹은 NK-92 세포를 토대로 하여 세포치료제를 생성하고 검증할 수 있다.

[0089] 보다 구체적으로, 먼저, 항원 예측은 종양에 대한 백신이나, 세포치료제를 개발하기에 앞서서 가장 앞서 선행되어야 한다. 항원 예측은 종양에 대한 돌연변이 분석(WES: whole exome sequencing)에 의하여 확보된 비정상적인 돌연변이 단백질을 RNA seq을 통해서 돌연변이 항원의 발현되는 것을 근거로 증명된다. 종양의 항원과 MHC-1과의 affinity가 높아지는 경우 면역세포에서 인식할 수 있는 항원으로서 가능성이 있는 것을 의미할 수 있다. 본 연구에서는 항원 분석을 위한 분석 파이프라인으로 Neopepsee를 사용하였다.

[0090] 그 다음, 예측된 항원에 대한 peptide는 95%이상 고순도로 9개의 아미노산으로 합성/정제되어 항원을 녹이는데 가장 많이 사용하는 DMSO를 용매로 하여 수지상 세포에 LPS와 함께 노출 mature DC로 분화된 이후, T 세포의 education을 진행한다.

[0091] 그 다음, IFN-gamma의 발현 정도에 따른 검증이 수행된다.

[0092] 기존에 항원을 분석할 수 있는 검증 플랫폼으로 pVAC seq이 가장 보편적으로 사용이 되며, 이는 리눅스와 파이썬 프로그램을 기반으로 한 open 분석 플랫폼이다. 이 프로그램의 중심 알고리즘으로서는 NetMHC-pan이라고 하는 HLA-A의 binding affinity를 수치화 시킬 수 있으며, pVAC seq에서는 추가적으로 RNA seq을 통해 종양항원의 발현 정도 포함한다. Neopepsee도 동일한 알고리즘을 포함하고 있고, 12가지 추가적인 파라미터가 포함되어 있어 보다 향상된 분석 플랫폼을 보여준다. 기존에 보고되어 있는 항원 검색프로그램간의 벤치마킹분석에서도 우월한 결과를 확보한 분석 플랫폼이다. Neopepsee는 open 소스 프로그램으로 최근 학술발표가 된 분석기술이다.

[0093] 따라서 본 연구진은 EGFR에 대한 돌연변이를 가지고 있는 환자를 토대로 하여, L858R 및 E19De1에 대한 돌연변이 여부를 판단하여 실험을 진행하였다.

[0094] 도 1을 참조하면, 먼저, 환자의 종양에 대한 WES, WES에서의 germline mutation 혹은 SNV를 위하여 matched normal blood를 이용하여 reference삼아 분석을 진행하였다. WES에서 돌연변이 여부를 판단하기 위하여 사용된 tool은 GATK2 파이프라인이며, hg38에 대한 mapping 데이터를 근거로 하여 분석을 진행하였다.

[0095] 환자 혈액 50ml을 확보하고, IFNg ELISPOT 데이터를 근거로 혈액내에 존재하는 DC에 T세포를 통해 항원에 대한 인식을 검증할 수 있었다.

[0096] 그 다음, 컴퓨터에 제시된 후보 항원에 대한 검증이 완료되면, T 세포의 TCR seq를 분석하여 종양의 항원을 가장 잘 인식할 수 있는 주요 TCR을 검증한다.

[0097] 그 다음, 검증된 T 세포의 TCR seq를 통해 CDR3에 대한 재조합 TCR을 제작하여 자가/동종 T 세포 및 NK-92 세포에서 항원을 특이적으로 인식할 수 있는 세포 치료제를 생산하고 이를 검증한다.

[0098] 도 2는 Neopepsee로 예측된 항원 검증 과정을 예시적으로 도시한 것이다. 이때, 전체적인 항원검증 과정은 약 21일 정도가 소요되며, 이는 상당히 짧은 기간내에 환자의 PBMC로부터 종양 특이적으로 반응하는 항원을 검증할 수 있는 플랫폼이다. Neopepsee로 예측된 항원은 CD14로부터 분화된 iDC에서 합성된 9 mer 펩타이드 항원과 함께 mDC로 분화, 분화된 DC는 T세포와 함께 co-culture 후 항원 특이적인 T세포로 증식, IFN-gamma의 발현도를 근거로 검증한다. 각 단계에서 세포치료제 개발에 있어 중요한 단계 10가지에 대한 부분을 표기, QC 포인트를 지정하였다.

[0099] 보다 구체적으로, 도 2를 참조하면, 먼저, 첫째 날 환자의 혈액으로부터 PBMC를 분리한다. 이때, PBMC를 분리하기 위하여 사용하는 protocol은 혈액내의 림프구와 단핵구를 확보할 수 있는 방법으로, CD14가 양성인 세포

즉, 단핵구를 자석과 항체-microbead 방법을 통해 확보할 수 있다.

- [0100] 그 다음, CD14+인 세포는 DC로 분화를 시키는 과정을 진행한다. 이때, GM-CSF, IL-4를 사용하여 imDC로의 분화를 유도한다.
- [0101] 그 다음, CD8+세포도 CD14-에서 동일한 방법으로 취한 뒤에 -80℃에 보관을 한 뒤 항원을 제시할 수 있는 imDC에 co-culture를 위하여 사용한다.
- [0102] 그 다음, 7-8일차에 이미 기존에 합성한 종양항원 10 ug/ml과 함께 LPS를 처리하여 16시간동안 배양하여 DC에서의 종양항원이 충분히 인식될 수 있도록 배양을 한다.
- [0103] 그 다음, washing 과정을 거치고, CD8이 양성인 세포와 함께 배양을 한다.
- [0104] 그 다음, DC-CD8+세포의 공동 배양은 약 11일간 진행되며, IL-7/IL-15가 처리된 전용 media에서 배양을 한다.
- [0105] 그 다음, 11일 이후 확보된 T세포의 cell counting을 수행하고, cell counting이 완료된 이후 항원을 재 처리하여 T세포에서 발현되는 IFN-gamma의 발현여부를 ELISPOT을 통해 분석을 진행한다.
- [0106] 도 3은 검증 플랫폼으로 분석된 항원 특이적인 T 세포를 검증 결과를 도시한 것이다. 이때, Neopepsee에 대한 항원검증능력을 확인하기 위한 것으로서, 환자 20명 (HLA-A타입이 A*:24:02환자)에 대한 대표적인 항원을 수지상세포에 인식시키고 T세포를 교육시킨 뒤, 실제로 종양항원에 대한 반응이 있는지를 확인하기 위한 ELISPOT 검증실험을 수행하였다. 그 결과 90%이상의 항원 검증 능력이 있는것을 확인하였다.
- [0107] 보다 구체적으로, 전 세계적으로 가장 많은 비중을 차지하고 있는 HLA-A 타입인 A*24.02를 가지고 실험을 진행하였다. 20명의 환자를 대상으로 한 환자 별 특이항원을 Neopepsee로 예측하였고, 총 41개의 항원을 DC에 인식을 시켜주고 T세포를 교육시킨 이후에 이 항원에 대한 반응 정도를 check를 해 본 결과, 41개의 항원중에 3개를 제외하고 각각의 종양의 항원에 반응을 보였다. 나아가, 항원에 대한 IFN-gamma의 spot의 개수 및 표면적(activity)으로 나타낼 수 있으며, IFN-gamma의 spot의 개수가 많을수록 항원에 대한 제시(presenting)가 잘된 것을 의미할 수 있으며, 표면적은 항원 대한 IFN-gamma의 양을 의미할 수 있다. 나아가, 아무것도 처리하지 않는 그룹에서의 T세포의 IFN-gamma의 발현정도를 cut-off로 하여 양성을 판단하였다.
- [0108] 이에, 도 3을 참조하면, Neopepsee에서 예측된 바와 같이 항원에 대한 IFN-gamma의 발현 예측도는 IFN-gamma의 발현을 기준으로 90 %이상의 예측률을 가지는 것으로 나타난다. 20명의 환자를 대상으로 한 환자 별 특이 항원을 Neopepsee로 예측하였고, 41가지 항원에 대한 반응도를 예측한 결과 90%이상 종양 항원에 대한 반응이 확인되었다
- [0109] 이상의 결과로, 예측력 높은 종양 특이 항원을 선별할 수 있으며, 이를 기반으로 세포 치료제의 개발 및 검증할 수 있다.
- [0110] **EGFR 돌연변이 종양에 대한 특이 항원 확보**
- [0111] 이하에서는, 도 4a 및 4b를 참조하여, EGFR 돌연변이 종양에 대한 특이 항원에 대하여 설명한다.
- [0112] 도 4a 및 4b는 L858R를 타겟하는 HLA-A와 항원 서열(sequences) 결과를 도시한 것이다.
- [0113] 도 4a를 참조하면, EGFR에 대한 L858R 돌연변이를 인식할 수 있는 항원은 Neopepsee를 통하여 선별되었으며, EGFR에 대한 L858R 돌연변이 펩타이드와 야형성(wild, WT) 타입의 펩타이드를 생산하고, EGFR에 대한 L858R 돌연변이를 인식할 수 있는 항원을 12개의 major HLA-A에 적용하여 9 내지 11 mer에 대한 항원 예측정도를 MHC 결합 친화도(binding affinity)를 통하여 검증하였다.
- [0114] 전술한 과정에 의하여, HLA-A*2402, HLA-A*0201, HLA-A*3303, HLA-A*1101, HLA-A*0206 및 HLA-A*3101를 포함하는 HLA-A가 선별되었으며, 이들은 모두 5 % 이상의 높은 빈도를 가지는 것으로 나타나며, 이 중 10 % 이상의 빈도를 가지는 HLA-A*2402, HLA-A*0201 및 HLA-A*3303을 선택하여, EGFR에 대한 L858R 돌연변이를 포함하는 총 10명의 환자의 샘플로부터 항원을 도출하고자 하였다.
- [0115] 이에, 도 4b를 참조하면, EGFR에 대한 L858R 돌연변이를 포함하는 총 10명의 환자의 샘플은 HLA-A*2402 및 HLA-A*0201와 달리 모두 공통적으로 HLA-A*3303을 포함하는 것으로 나타남에 따라, HLA-A*3303가 선택되어 이에 대한 항원을 확인하였다.
- [0116] 결국, HLA-A*3303에 기초한 환자의 샘플에서 HVKITDFGR 서열의 항원이 동일한 반응(결과)를 갖는 것으로 나타남

에 따라, EGFR에 대한 L858R 돌연변이에 대한 표적 항원을 HVKITDFGR로 선정하였다.

- [0117] 이상의 결과로, 예측력 높은 종양 특이 항원을 선별할 수 있으며, 이를 기반으로 세포 치료제의 개발 및 검증할 수 있다.
- [0118] **T 세포 수용체(T cell receptor, TCR)**
- [0119] 이하에서는, 도 5a 내지 도 7을 참조하여, EGFR 돌연변이 종양에 대한 특이 항원을 표적할 수 있는 TCR에 대하여 설명하도록 한다. 이때, EGFR 돌연변이 종양에 대한 특이 항원을 표적할 수 있는 TCR을 확인하기 위하여, EGFR-L858R에 특이적인 T세포를 생산하였고, 생산된 T세포를 Tetramer를 이용하여 분리(sorting)하였다. 나아가, 분리된 세포는 단일 세포 RNA 분석 기법을 통하여 분석되었다.
- [0120] 보다 구체적으로, 먼저, 개체의 혈액에서 CD14⁺ 양성 세포를 분리하여, EGFR-MT 항원(9mer)과 함께 배양하여 항원 제시를 유도한 뒤, 동일 개체의 CD8⁺ 양성 세포와도 14일간 공동 배양한 뒤, ELISPOT을 통하여 EGFR-L858R에 특이적인 T세포의 존재를 확인하였다. 나아가, Tetramer를 이용하여 EGFR-MT 9mer-MHC-1 complex와 결합할 수 있는 T 세포를 선별(sorting)한 뒤, scRNA seq/VDJ를 통하여, 이의 TCR에 대한 서열을 확보하였다.
- [0121] 먼저, 도 5a 내지 5d를 참조하여, EGFR L858R 돌연변이 항원에 특이적인 T 세포 선별 과정에 대하여 설명하도록 한다.
- [0122] 도 5a는 EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착하는 종양 특이적 T 세포에 대한 결과이다. 이때, 설명의 편의를 위하여, 도 5b 내지 5d를 참조하여 설명하도록 한다. 나아가, TCR의 확인을 위하여 A*33:03/A*02.06을 포함하는 개체로부터 시료가 수집되었다.
- [0123] EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 기억 T 세포(memory T cells)로서, CD44⁺CCR7⁺ 중심기억세포 (central memory T cells, Tcm) 및 CD44⁺CCR7⁻ 효과기억세포 (effector memory T cells, Tem)와 이들이 혼합된 세포(Tcm and Tem mixed, CD44⁺CCR7^{+/-})를 포함하는 것으로 나타난다.
- [0124] 보다 구체적으로, 도 5b 내지 5d를 참조하면, 1a에서 전술한 T세포에서의 세포 활성 인자에 대한 발현 결과가 도시된다.
- [0125] 먼저, 5b를 참조하면, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 CD8a, CD4, CD44 및 CD62L을 발현하는 것으로 나타나며, 이는 성숙 T 세포 인자임에 따라, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)가 성숙한 T 세포임을 의미할 수 있다.
- [0126] 그 다음, 5c를 참조하면, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 CD25 및 CD69를 발현하는 것으로 나타나며, 이는 세포 활성 인자임에 따라, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 활성화된 효과 T 세포(effector T cel)을 의미할 수 있다.
- [0127] 그 다음, 5d를 참조하면, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 CCR7, IFN-gamma 및 Granzyme-B를 발현하는 것으로 나타난다.
- [0128] 이때, CCR7는 기억 세포 인자임에 따라, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 기억 T 세포로서, 장시간 체내에서 생존하며, 2차 면역 응답을 야기할 수 있다는 것을 의미할 수 있다.
- [0129] 나아가, IFN-gamma 및 Granzyme-B는 세포 독성 인자임에 따라, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 사이토카인(cytokine)을 분비할 수 있는 T 세포임을 의미할 수 있다.
- [0130] 이에, 본 발명의 일 실시예에 따른 EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 L858R 돌연변이를 포함하는 종양에 대한 생체 내 면역 반응에 있어 활성화된 T 세포를 의미하며, 이에 따라, L858R 돌연변이를 포함하는 종양에 항암 효과를

가질 수 있다.

[0131] 이하에서는, 도 6 및 7을 참조하여, EGFR L858R 돌연변이 항원에 특이적인 T 세포에 대한 수용체(TCR)에 대하여 설명하도록 한다. 이때, EGFR L858R 돌연변이 항원에 특이적인 T 세포에 대한 수용체 서열은, 도 5a 내지 5d의 과정을 통하여, 선별된 T 세포에서 세포 살상 인자의 발현에 기초하여 도출되었다.

[0132] 보다 구체적으로, 도 6은 항원(EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer)에 특이적으로 활성이 유도된 T 세포의 세포 살상 인자에 대한 결과이다.

[0133] 먼저, 도 6의 (a)를 참조하면, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells) 중 세포 살상 인자를 발현하는 세포는 약 800 개의 전체 세포 중 10 내지 15 % 정도를 차지하는 것으로 나타나며, 전체 활성화된 세포 중에서는 약 27 % 정도의 비율을 차지하는 것으로 나타난다. 즉, EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer에 특이적으로 부착되는 종양 특이적 T 세포(EGFR-L858R-A*33:03 tetramer positive T cells)는 활성화될 경우, 높은 비율로 세포 독성(살상) 인자를 발현할 수 있다는 것을 의미할 수 있으며, 이에 따라, 종양에 있어 효과적으로 세포 독성(살상) 효과를 가질 수 있다.

[0134] 따라서, 도 6의 (b)를 참조하면, 전술한 세포 살상 인자를 발현하는 T 세포 중 세포 살상 인자를 가장 높게 발현하는 세포들만을 선별한 뒤, 이들의 상관 관계를 분석하였다.

[0135] 이에, 도 7을 참조하면, 항원(EGFR-MT-L858R-HVKITDFGR-A*33:03 tetramer)에 특이적으로 활성이 유도된 T 세포의 수용체에 대한 분포도가 도시된다. 이때, T 세포의 수용체에 대한 분석은 도 2에서 선별된 세포에 기초하여 수행되었으며, 단일 세포 분석을 통하여 T 세포 수용체의 사슬에 대한 V, D, J 및 C 구성 서열을 분석하였으며, 이에 기초하여 CDR3 서열에 대한 서열 분석을 진행하였다. 먼저, 분석된 T 세포 수용체는 총 295가지의 다양성을 가졌으며, 이 중 상위 10 순위까지의 T 세포 수용체 사슬에 대한 분석 결과는 하기의 [표 1]에 표시되어 있으며, TRAV23/DV6 및 TRBV18에 대한 조합과 TRAV24 및 TRBV19에 대한 조합이 가장 높은 빈도를 가지는 것으로 나타난다.

표 1

[0137]

rank	frequency	TCR-alpha			TCR-beta		
		v_genes	j_genes	c_genes	v_genes	j_genes	c_genes
1	7	TRAV23/DV6	TRAJ40	TRAC	TRBV18	TRBJ1-5	TRBC1
2	7	TRAV24	TRAJ42	TRAC	TRBV19	TRBJ2-1	TRBC2
3	6	TRAV16	TRAJ50	TRAC	TRBV27	TRBJ2-1	TRBC2
4	5	TRAV8-1	TRAJ37	TRAC	TRBV19	TRBJ2-3	TRBC2
5	4	TRAV12-3	TRAJ13	TRAC	TRBV9	TRBJ2-3	TRBC2
6	4	TRAV3	TRAJ49	TRAC	TRBV12-4	TRBJ1-3	TRBC1
7	3	TRAV12-2	TRAJ27	TRAC	TRBV6-1	TRBJ1-2	TRBC1
8	3	TRAV13-1	TRAJ42	TRAC	TRBV24-1	TRBJ1-1	TRBC1
9	3	TRAV16	TRAJ54	TRAC	TRBV7-9	TRBJ2-1	TRBC2
10	3	TRAV27	TRAJ28	TRAC	TRBV19	TRBJ1-5	TRBC1

[0139] 나아가, 전술한 [표 1]의 분석 결과에 기초하여, 생성된 CDR3에 대한 서열은 하기의 [표 2]에 표시하였으며, 이들은 모두, 세포 살상 인자를 발현하는 T 세포에 기초하여 선별되었음에 따라, 서열번호 1 내지 12의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 내지 24의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함한 경우, EGFR L858R 돌연변이 종양에 대한 항암 효과를 가질 수 있다. 이때, [표 2]의 순서는 세포 살상 인자(IFN-gamma, Granzyme-B)의 발현율에 따라, 나열하였다(rank 1이 가장 높은 발현율).

[0140] 나아가, EGFR L858R 돌연변이 종양에 대한 항암 효과가 보다 효과적인 TCR은 서열번호 1 내지 8의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 내지 20의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함한 TCR일 수 있다.

[0141] 이때, 세포 살상 인자의 발현 수준(분비력)은 서열번호 1 및 2의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 및 14의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함한 TCR

이 가장 높은것으로 개시되었으나, 서열번호 3 내지 12의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 15 및 24의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함한 TCR의 세포 살상 인자에 대한 발현 수준은 유사한 것으로 나타난다.

[0142] 이에, 서열번호 1 내지 12의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함하는 TCR의 세포 살상 효과는 동일할 수 있으며, 서열번호 13 내지 24의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함하는 TCR의 세포 살상 효과 또한 동일할 수 있다.

[0143] EGFR L858R 돌연변이 종양에 대한 항암 효과가 가장 효과적인 TCR은 서열번호 1 및 2의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 및 14의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함한 TCR일 수 있다.

표 2

[0145]

Rank	chain	CDR3 AA sequence	SEQ.	CDR3 NA sequence (5' - 3')	SEQ.
1	TRA	CAFIGHGGSQGNLIF	서열번호 1	TGTGCCTTTATAGGCCATGGAGGAAGCCAAGGAAATCTCATC TTT	서열번호 25
	TRB	CASSMQGAMSEQFF	서열번호 13	TGTGCCAGTAGTATGCAGGGGGCTATGAGTGAGCAGTTCTTC	서열번호 37
2	TRA	CAATGTYKYIF	서열번호 2	TGTGCAGCAACAGGAACCTACAAATACATCTTT	서열번호 26
	TRB	CASSPEFARALDNQPH F	서열번호 14	TGTGCCAGCTCACCGAGTTTGCAGGGGCGCTGGACAATCAG CCCCAGCATTTT	서열번호 38
3	TRA	CAYGGGSEKLVF	서열번호 3	TGTGCTTATGGCGGCGATCTGAAAAGCTGGTCTTT	서열번호 27
	TRB	CASSATGTQGYTF	서열번호 15	TGTGCCAGCAGCTCGGCCACAGGGACGCAGGGCTACACCTTC	서열번호 39
4	TRA	CALINARLMF	서열번호 4	TGTGCTCTGATTAATGCCAGACTCATGTTT	서열번호 28
	TRB	CASSFTNTGELFF	서열번호 16	TGTGCCAGCAGTTTCACCAACACCGGGGAGCTGTTTTTTT	서열번호 40
5	TRA	CAVNGGSQGNLIF	서열번호 5	TGTGCCGTGAACGGAGGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTT	서열번호 29
	TRB	CASSMWQNGEQYF	서열번호 17	TGTGCCAGTAGTATGTGGCAGGGGAACGGCGAGCAGTACTTC	서열번호 41
6	TRA	CAMREGYGGATNKLIF	서열번호 6	TGTGCAATGAGAGAGGGATATGGTGGTGCTACAAACAAGCTC ATCTTT	서열번호 30
	TRB	CASSVPGTTSYNEQFF	서열번호 18	TGTGCCAGCAGCGTAGGCCAGGGACAACCTCCTACAATGAG CAGTTCTTC	서열번호 42
7	TRA	CAYNNGDGGSQGNLIF	서열번호 7	TGTGCTTATAATAACGGGGATGGAGGAAGCCAAGGAAATCTC ATCTTT	서열번호 31
	TRB	CATSRDRSTDQYF	서열번호 19	TGTGCCACCAGCAGAGACCGTAGCACAGATACGCAGTATTTT	서열번호 43
8	TRA	CATDGG SARQLTF	서열번호 8	TGTGCTACGGACGGGGTTCTGCAAGGCAACTGACCTTT	서열번호 32
	TRB	CASSLGLSGYTF	서열번호 20	TGTGCCAGCAGCTTGGGATTAAGTGGCTACACCTTC	서열번호 44
9	TRA	CATLYNTDKLIF	서열번호 9	TGTGCTACGTTATATAACACCGACAAGCTCATCTTT	서열번호 33
	TRB	CASSQSMNTEAFF	서열번호 21	TGTGCCAGCAGCCAGTCAATGAACACTGAAGCTTTCTTT	서열번호 45
10	TRA	CAMRGPWRGSSGSARQL TF	서열번호 10	TGTGCAATGAGAGGGCCCTGGAGAGGGTCTTCTGGTTCTGCA AGGCAACTGACCTTT	서열번호 34
	TRB	CASRTGLSYEQYF	서열번호 22	TGTGCCAGCAGAACGGGACTCTCATACGAGCAGTACTTC	서열번호 46
11	TRA	CALSVRGFKTSYDKVIF	서열번호 11	TGTGCTCTAAGTGTCAGGGGATTCAAAACCTCCTACGACAAG GTGATATTT	서열번호 35
	TRB	CASSFGSAYNEQFF	서열번호 23	TGTGCCAGCAGTTTTGGGTCAGCCTACAATGAGCAGTTCTTC	서열번호 47

12	TRA	CAVNMDSSYKLIF	서열번호 12	TGTGCCGTGAACATGATGGATAGCAGCTATAAATTGATCTTC	서열번호 36
	TRB	CASSFPTARSNTEAFF	서열번호 24	TGTGCCAGCAGTTTCCCGACAGCTCGATCGAACACTGAAGCTTCTTT	서열번호 48

[0146] 이상의 결과에 따라, 전술한 서열번호 1 내지 12의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 내지 24의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함하는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR은 높은 빈도로 발현되는 CDR3을 포함함에 따라, EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)을 보다 정확하게 표적할 수 있으며, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR은 세포 살상 인자의 발현 또한, 매우 높음에 따라, EGFR-L858R 돌연변이 항원을 포함하는 종양에 있어, 보다 효과적인 항암 반응(종양 세포 사멸 효과)을 가질 수 있다.

[0147] **NK 세포**

[0148] 이하에서는, 8 내지 14b를 참조하여, EGFR 돌연변이 종양에 대한 특이 항원을 표적할 수 있는 TCR 및 Fc 수용체를 포함하는 NK 세포에 대하여 설명하도록 한다.

[0149] 먼저, 도 8을 참조하면, T 플라스크 배양 시 NK-92 세포 주에 대한 결과가 도시된다. 이때, NK 세포는 NK-92 세포이며, X-vivo 10 media 또는 Xuri T cell media를 이용하여 배양되었으며, 보다 구체적으로, 배양액은 X-vivo 10 또는 Xuri T cell media에 1 내지 10% human AB serum, 100 내지 2000 U/ml IL-2, 0.1 내지 5 mM L-asparagine, 0.1 내지 5 mM L-glutamine, 0.1 내지 5 mM L-serine가 첨가되었었으며, 이들의 용량은 이에 제한되는 것은 아니다. 나아가, NK-92 세포는 2.5×10^5 cells/ml의 농도로 계대 배양되고, T 플라스크에 배양하였으며, 3일 간격으로 계대 배양되었다. 더 나아가, 세포 증식은 헤마토사이토미터기를 이용하여 세포 개수를 측정하였으며, 세포 생존율은 트리판 블루 염색 또는 세포 사멸 마커인 PI로 염색하여 유세포분석기를 이용하여 확인하였으며, 세포 증식 효율은 세포 증식 인자인 KI67으로 염색하여 유세포분석기를 이용하여 확인하였다. 전술한 과정은, 도 8 및 도 9에서 동일하게 수행되었다.

[0150] NK-92세포의 세포 밀도(cell density)는 계대 배양으로 인하여 배양 22일까지 1×10^5 내지 1×10^6 cells/ml로 일정하게 유지된 것으로 나타나며, 이를 증식 배수(fold expansion)으로 보았을 경우, NK-92세포의 수는 배양 22일 동안 126 fold 증가한 것으로 나타난다. 나아가, 세포 생존율(cell viability)은 배양 22일까지 80 내지 100 %로 일정하게 유지되는 것으로 나타나며, 세포 분화력(cell proliferation) 또한 배양 22일까지 70 내지 85 %로 일정하게 유지되는 것으로 나타난다.

[0151] 그 다음, 도 9을 참조하면, FBS 및 IL-2의 농도에 따른 NK-92의 증식 효율에 대한 결과가 도시된다.

[0152] 먼저, 도 9의 (a) 및 (b)를 참조하면, FBS 농도에 따른 NK-92의 증식 효율은 FBS가 5 %로 첨가되었을 경우가 가장 좋은 것으로 나타난다. 나아가, 도 13의 (c) 및 (d)를 참조하면, IL-2 농도에 따른 NK-92의 증식 효율은 IL-2가 1000 U/ml로 첨가되었을 경우가 가장 좋은 것으로 나타난다. 즉, NK-92세포에 있어, FBS 및 IL-2가 높을수록, 증식 효율이 높아지는 것으로 나타나며, NK-92 세포의 증식 효율을 가장 바람직하게 높일 수 있는 FBS 및 IL-2의 농도는 각각 5 % 및 1000 U/ml일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0153] 도 10을 참조하면, 배양 방법에 따른 NK-92 세포 주의 세포 증식 효율에 대한 결과가 도시된다. 이때, NK-92세포는, 효과적인 증식을 위하여 세포 증식 장비인 Xuri W-25 장비가 이용되어 배양되었다. 이때, NK-92의 배양액은 전술한 도 11 내지 15에서 사용된 배양액과 동일하며, Xuri W-25 장비에 2L 내지 10L 크기의 perfusion bag을 설치 후 배양액을 접종하여 안정화시켰다. 나아가, 배양액의 온도 및 pH가 안정화된 이후, $0.5 \sim 1.0 \times 10^8$ cells/bag의 NK-92 세포가 접종되었으며, 배양 환경 조건은 2에서 2 RPM으로 교반(shaking)되도록 설정되었다. 또한, 세포 생존율, 세포 증식율, 세포 개수는 세포 접종 이후, 12시간 마다 측정되었으며, 2일 간격으로 배양액의 절반을 필터를 통해 제거한 뒤, 새로운 배양액을 접종하여 최종적으로 2L perfusion bag에는 1L, 10L perfusion bag에는 5L의 배양액으로 세포를 배양하였다. 나아가, 0.5 내지 1.0×10^{10} 세포 수에 도달하였을 때, 세포 수확 장비인 Sefia S-2000을 이용하여 NK-92세포를 수확한 뒤, 세포의 생존율, 세포 증식율, 세포의 개수를 측정하였다.

[0154] 도 10의 (a)를 참조하면, 세포 밀도는 optimization 10L scale로 배양한 경우가, 가장 빠르게 1×10^2 의 세포 밀도에 도달한 것으로 나타나며, 이때, 100배에 이르기까지의 시간은 일반적인 T 플라스크 배양보다 11일 단축

된 것으로 나타난다. 나아가, 도 10의 (b)를 참조하면, 증식 배수는 optimization 10L scale로 배양한 경우가, 가장 빠르게 1×10^{10} 의 증식 배수에 도달한 것으로 나타나며, 이때, 1×10^{10} 에 이르기까지의 시간은 일반적인 T 플라스크 배양보다 11일 단축된 것으로 나타난다. 이에, NK-92 세포는 Xuri W-25 장비에서 optimization 10L scale 배양한 경우, 보다 빠른 시간 내에 많은 수를 획득할 수 있다.

[0155] 도 11a 및 11b를 참조하면, 배양 조건에 따른 NK-92 세포 주 및 Fc 수용체를 발현하는 NK-92 세포 주의 활성 인자 및 독성 인자에 대한 결과가 도시된다. 이때, NK-92 세포의 세포 활성 표면 인자, 세포 독성 인자 및 케모카인 수용체의 확인을 위하여 각각의 안티바디로 염색 후 유세포분석기를 이용하여 확인하였다. 보다 구체적으로, 세포 활성 표면 인자는 NKG2D, NKp30, NKp44 및 NKp46을 이용하여 확인하였으며, 세포 독성 인자는 CD107, Granzyme B 및 Perforin을 통하여 확인하였다.

[0156] 11a를 참조하면, 배양 조건에 따른 NK-92 세포 주의 활성 인자 및 독성 인자에 대한 결과가 도시된다. NK-92는 Xuri media로 배양된 경우, 세포 활성 표면 인자인 NKG2D, NKp30, NKp44 및 NKp46와 세포 독성 인자인 CD107, Granzyme B 및 Perforin이 모두 발현하는 것으로 나타난다. 이와 마찬가지로, NK-92는 X-vivo media로 배양된 경우, 세포 활성 표면 인자인 NKG2D, NKp30, NKp44 및 NKp46와 세포 독성 인자인 CD107, Granzyme B 및 Perforin이 모두 발현하는 것으로 나타난다.

[0157] 나아가, 11b를 참조하면, 배양 조건에 따른 Fc 수용체를 발현하는 NK-92 세포 주의 활성 인자 및 독성 인자에 대한 결과가 도시된다. Fc 수용체를 발현하는 NK-92는 Xuri media로 배양된 경우, 세포 활성 표면 인자인 NKG2D, NKp30, NKp44 및 NKp46와 세포 독성 인자인 CD107, Granzyme B 및 Perforin이 모두 발현하는 것으로 나타난다. 이와 마찬가지로, Fc 수용체를 발현하는 NK-92는 X-vivo media로 배양된 경우, 세포 활성 표면 인자인 NKG2D, NKp30, NKp44 및 NKp46와 세포 독성 인자인 CD107, Granzyme B 및 Perforin이 모두 발현하는 것으로 나타난다.

[0158] 이상의 결과에 따라, NK-92 세포 주 및 Fc 수용체를 발현하는 NK-92 세포 주는 Xuri media 및 X-vivo media 모두에서 배양될 경우, 세포의 활성 및 세포 독성을 기능을 모두 발현할 수 있다.

[0159] 도 12를 참조하면, 단백질 발현 promoter에 따른 NK-92 세포의 GFP 발현 효율에 대한 결과가 도시된다. 이때, NK-92 세포에서 T 세포 수용체의 발현을 위한 프로모터의 선별을 위하여 각각의 프로모터에 따른 단백질 발현을 확인하였다. 보다 구체적으로, 전기천공법 및 pCAG-GFP, pEF-1 α -GFP, pCMV-GFP 플라스미드를 이용하여 NK-92 세포를 형질 전환시켰다. 이때, 플라스미드의 농도는 1×10^6 cell 당 2ug일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 그 다음, 형질 도입 후 24시간 뒤에 유세포 분석기 및 CAG, EF-1 α , CMV 등을 사용하여 GFP 단백질의 발현을 확인하였다.

[0160] GFP에 대한 발현율은 pCMV 프로모터가 가장 높은것으로 나타남에 따라, NK-92 세포에서 T 세포 수용체의 발현을 위한 프로모터는 pCMV가 가장 바람직할 수 있다.

[0161] 도 13a 및 13b는, NK-92 세포에서 케모카인 수용체의 발현에 대한 결과를 도시한 것이다. 이때, 케모카인 수용체는 도 11a 내지 11b와 동일한 방법으로, 유세포 분석기 및 케모카인 수용체인 CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CX3CR1을 통하여 발현이 확인되었다. 먼저, 13a를 참조하면, 전술한 배양 조건 및 방법에 따라 배양된 NK-92세포는 케모카인 수용체인 CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8 및 CCR9를 발현하는 것으로 나타난다.

[0162] 나아가, 도 13b를 참조하면, NK-92세포는 케모카인 수용체인 CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6 및 CX3CR1을 발현하는 것으로 나타난다.

[0163] 이에, 전술한 배양 조건 및 방법에 따라 배양된 NK-92세포는 케모카인 수용체를 발현함에 따라, 후천면역 반응을 활성화시킬 수 있다.

[0164] 도 14a 및 14b는 NK-92 세포에서의 CD3 분자 및 T 세포 수용체 분자의 발현에 대한 결과를 도시한 것이다. 이때, 전기 천공법 및 pCMV-CD3 γ T2A δ F2A ϵ P2A ζ 플라스미드와 pCMV-TCR α T2A β 플라스미드를 이용하여 NK-92 세포를 형질 전환시켰다. 이때, 플라스미드의 농도는 1×10^6 cell 당 2ug일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 그 다음, 형질 도입 후 24시간 뒤에 유세포 분석기를 이용하여 CD3 분자 및 T 세포 수용체 분자의 발현을 확인하였다.

[0165] 먼저, 도 14a를 참조하면, CD3 분자를 발현하는 NK-92 세포는 전체 NK-92 세포에 대하여 28.8%를 차지하는 것으

로 나타난다. 즉, T세포 항원 수용체의 보조 단백질 사슬인 CD3가 NK-92세포에서 발현됨에 따라, 전술한 과정에 의하여 NK-92세포에 TCR이 안정적으로 형질 도입된 것을 의미할 수 있다.

[0166] 그 다음, 도 14b를 참조하면, T 세포 수용체를 발현하는 NK-92 세포는 전체 NK-92 세포에 대하여 8.3%를 차지하는 것으로 나타난다. 즉, T세포 항원 수용체가 NK-92세포에서 발현됨에 따라, 전술한 과정에 의하여 NK-92세포에 TCR이 안정적으로 형질 도입된 것을 의미할 수 있다.

[0167] 이상의 과정을 통하여, 본 발명은 고형암 특히, EGFR 돌연변이를 포함하는 폐암을 보다 효과적으로 표적화할 수 있는 TCR 및 이를 포함하는 면역 세포 즉, NK세포를 제공할 수 있으며, 이를 통하여 항암 효과를 향상시킬 수 있다.

[0168] 결국, 본 발명의 면역세포는 전술한 TCR을 포함함에 따라, EGFR 돌연변이를 포함하는 폐암을 보다 효과적으로 표적화할 수 있음에 따라, 표적화된 암세포에 대한 항암 효과를 더욱 향상시킬 수 있다.

[0169] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR 및 이를 포함하는 NK 세포

[0170] 이하에서는, 15a 및 15b를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR(서열번호 1 내지 12의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 내지 24의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함하는 TCR 및 이를 포함하는 NK 세포의 구성에 대하여 구체적으로 설명하도록 한다.

[0171] 도 15a는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR 서열을 발현시키기 위한 렌티바이러스 벡터맵이다.

[0172] 이때, NK-92 세포로의 형질 도입(EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)에 특이적으로 활성이 유도되는 TCR의 서열을 발현)을 위하여, 렌티바이러스 벡터가 이용되었으며, 형질 도입에 있어 사용될 수 있는 벡터는 렌티 바이러스 벡터에 한정되는 것은 아니며, 당업계에서 형질 도입에 사용될 수 있는 다양한 벡터가 모두 사용될 수 있다.

[0173] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 렌트 바이러스 벡터 서열: 5'-ACGCGTGTAGTCTTATGCAATACTCTTGTAGTCTTGCACATGGTAACGATGAGTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCACCGTGCATGCCGATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCAACAGACGGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTGCCGATTGCAGAGATATTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAATAAACGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCCTTTTAGTCAGTGTGAAAAATCTTAGCAGTGGCGCCGAACAGGGACCTGAAAGCGAAAGGAAACCAGAGCTCTCTCGACGCGAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTGACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGAGAATTAGATCGCGATGCGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGAAAGAAAAAATAATAATTAAAAATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACAGTAGCAACCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCACCGCACAGCAAGCGGCCACTGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAGAGAAGAGTGGTGAGAGAGAAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCAGAGTCTGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTGGGGTTGCTCTGGAAAACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCCTTGAATGCTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTGGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTACACAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTAACATAACAATTTGGCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTTGCTGTACTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCATTATCGTTTCAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTTCGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTTAACTTTTAAAAAGAAAAGGGGGATTGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAACAAATTACAAAATTCAAAATTTTATCGATACTAGTATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTCCAAGTCTCCACCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACTCCGCCCCATTGACGCAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTTTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGATTCTAGAGCCACCATGGAACATAGCACGTTTCTCTCTGGCCTGGTACTGGCTACCCCTTCTCTCGCAAGTGAGCCCCCTCAAGATACCTATAGAGGAACCTTGAGGACAGAGTGTTTGTGAATTGCAATACCAGCATCACATGGGTAGAGGGAACGGTGGGAACACTGCTCTCAGACATTACAAGACTGGACCTGGGAAAACGCATCCTGGACCCACGAGGAATATATAGGTGTAATGGGACAGATATATACAAGGACAAAGAATCTACCGTGCAAGTTTCATTATCGAATGTGCCAGAGCTGTGTGGAGCTGGATCCAGCCACCGTGGCTGGCATCATTTGTCACTGATGTCAATTGCCACTCTGCTCCTTGCTTTGGGAGTCTTCTGCTTTGCTGGACATGAGACTGGAAGGCTGTCTGGGGTGCCGACACACAAGCTCTGTTGAGGAATGACCAGGTCTATCAGCCCTCCGAGATCG

AGATGATGCTCAGTACAGCCACCTTGGAGGAACTGGGCTCGGAACAAGGGGTCCGGCGGAAGCGGAGAGGGCAGGGGATCTCTCCTTACTTGTGGCGACGT
GGAGGAGAACCCCGGCCCATGGAACAGGGGAAGGGCTGGTGTCTCATCTGGTATCATTCTTCTTCAAGGTACTTTGGCCCAGTCAATCAAAGGAAA
CCACTTGGTTAAGGTGTATGACTATCAAGAAGATGGTTCCGTACTTCTGACTTGTGATGCAGAAGCCAAAAATACATGGTTTAAAGATGGGAAGATGAT
CGGCTTCTAACTGAAGATAAAAAAATGGAATCTGGGAAGTAATGCCAAGGACCTCGAGGGATGTATCAGTGTAAAGGATCACAGAACAGTCAAAACC
ACTCCAAGTGTATTACAGAATGTGTCAGAACTGCATTGAACTAAATGCAGCCACCATATCTGGCTTTCTCTTTGTCTGAAATCGTCAGCATTTTTCGTCTTGC
TGTGGGGTCTACTTCTATTGCTGGACAGGATGGAGTTCCGCAGTCGAGAGCTTCAGACAAGCAGACTCTGTTGCCAATGACCAGCTCTACCAGCCCTCAA
GGATCGAGAAGATGACCAGTACAGCCACCTTCAAGGAAACCAGTTGAGGAGGAATGGGTCCGGCGGAAGCGGAGCCACCACTTCAGCTGCTGAAGCAGGC
CGGCGACGTGGAGGAGAACCCCGGCCCATGCGATCGGGCACTCACTGGAGAGTTCTGGGCTCTGCCTTTATCAGTTGGCGTTTGGGGCAAGATGGTAA
TGAAGAAATGGGTGGTATTACACAGACCATATAAAGTCTCCATCTCTGGAACACAGTAATATTGACATGCCCTCAGTATCCTGGATCTGAAATACTATG
GCAACACAATGATAAAAAACATAGGCGGTGATGAGGATGATAAAAAACATAGGCAGTGTAGGATCACCTGTCACTGAAGGAATTTTTCAGAAATTGGAGCAAA
TGGTTATTATGTCTGCTACCCAGAGGAAGCAAACCAGAAGATGCGAACTTTTATCTCTACCTGAGGGCAAGAGTGTGTGAGAACTGCATGGAGATGGATGT
GATGTCGGTGGCCACAATTGTATAGTGGACATCTGCATCACTGGGGCTTGTCTGTCTGGTTTACTACTGGAGCAAGAATAGAAAGGCCAAGGCCAAGCC
TGTGACACGAGGAGCGGTGTGGCGGAGGCAAGGGGACAAAACAAGGAGAGGCCACACCTGTTCCCAACCCAGACTATGAGCCATCCGAAAGGCCA
GCGGGACCTGTATTCTGGCTGAATCAGAGACGCATCGGATCCGGGTCCGGCGGAAGCGGACAGTGTACTAATTATGCTCTCTGAAATTGGCTGGAGATGT
TGAGAGCAACCTGGACCTATGAAGTGAAGGCGCTTTTACC CGGCCATCCTGCAGGCACAGTTGCCGATTACAGAGGCACAGAGCTTTGGCCTGTGGA
TCCAAAACCTGTCTACCTGTGGATGGAATCCTCTTCATCTATGGTGTCACTTCTACTGCCTTGTTCCTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGGGAGGTACAGTGA
CTACATGAACATGACTCCCCCGCGCCCGGGCCACCCGAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGACGCTATCGCTCCAAACGGGGCAG
AAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCTTTATGAGACAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAG
AGGATGTGAAGTGCAGGTTGAGTTCAGCAGAAGCGCGACGCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCGAGAAGGGA
AGAGTACGACGCTCTGGATAAGCGGAGAGGCGGGACCCCTGAGATGGGCGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCGAGGAAGGCTGTATAACGAACTGCAGAA
AGACAAGATGGCCGAGGCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGCGGGCAAGGGCCACGACGCGCTGTATCAGGGCTGTCCACCGCCACCAA
GGATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCTCTGCTAACCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCC
GGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATGCGCTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGG
GTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGCTGTAGCGACCC
TTTGACGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCAGTGTATAAGATACACCTGCAAGGGCGCACAAACCCAGTGCCACG
TTGTGAGTTGGATAGTTGTGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTG
ATCTGGGGCTCGGTACACATGCTTTACATGTGTTAGTCGAGGTTAAAAAACGCTAGGCCCCCGAACACGAGGACGTGGTTTCTTTGAAAAACAC
GATGATAATATGGCCACAACCATGGAGACCTCTTGGGCTGCTTATCCTTTGGCTGCAGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAAACAGGAGGTGACGCAGATTCT
GCAGCTCTGAGTGTCCAGAAGGAGAAAACCTGGTTCTCAACTGCAGTTTCTACTGATAGCGTATTTACAACCTCCAGTGTTTATGGCAGGACCTGGGAAA
GGTCTCACATCTCTGTGCTTATTCAGTCAAGTCAGAGAGAGCAAAAGTGAAGACTTAATGCCTCGTGGATAAATCATCAGGACGTAGTACTTTATAC
ATTGCAGCTTCTCAGCCTGGTGACTCAGCCACCTACCTCTGTGCTTTTATAGCCATGGAGGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAGAGGAACAGCCTT
ATTGTTATCCGTATATCCAGAACCTGACCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCT
CAAACAAATGTGTCAAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGTGTGGCC
TGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAACGCCCTTCAACAACAGCATTATCCAGAAGACACCTTCTCCCCAGCCAGAAAGTCTCTGTGATGTCAAG
CTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAAACCTGTCAAGTATTGGGTTCCGAATCCTCTCTGAAAGTGGCCGGGTTAATCTG
CTCATGACGTGCGGCTGTGGTCCAGCGGAAGCGGAGTGAACAGACTTTGAATTTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCAACCCAGGGGCC
ATGAGCATCGGCCTCTGTGCTGTGCAGCCTTGTCTCTCTGTGGGCGAGTCCAGTGAATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAAATTCAGGTCTGAAGACA
GGACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACCATGAATACATGTCTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATTCTACTTCA
GTTGGTGTGGTATCACTGACCAAGGAGAAGTCCCAATGGCTACAATGTCTCCAGATCAACCACAGAGGATTTCCCGCTCAGGCTGCTGTGGCTGTCC
TCCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTATGCAGGGGCTATGAGTGAGCAGTTCTTTGGCCAGGCACCCGGCTGACAGTGTGAGGACCTGAAA
AACGTGTTCCACCCGAGGTGCTGTGTTTGAAGCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTATGCTGGCCACAGGCTTCTACCCC
GACCAGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGACGCCCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCC
AGATACTGCCTGAGCAGCCGCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAAT
GACGAGTGGACCCAGGATAGGGCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCGGAGGCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAA
GGGGTCTGTCTGCCACCATCTCTATGAGATCTTGTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGTGGTCAAGTGCCTGTGATGGCCATGGTCAAGAGA
AAGGATTCCAGAGGCTAGGAATTCGAATTTAAATCGGATCCGCGGCCGGAAGGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCGTCAGTGGGCGAGCGCACATCGCCC
ACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACGGGTGCTAGAGAAGTGGCGCGGGGTAACTGGGAAAGTGTGTGCTGTACTGGCTCCGC
CTTTTCCCAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGGCCGAGAACACAGCTGAAGCTTCGA
GGGGTCTGCATCTCTCTTACGCGCCCGCCCTACCTGAGGCCCATCCACGCGGTTGAGTCGCGTTCTGCGGCTCCCGCTGTGGTGCCTCTGTA
ACTGCGTCCGCGCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTGAGACCGGGCTTTGTCCGGCGTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCGGCTCTCCACGCTT
TGCTGACCTGTGCTCAACTCTACGTCTTGTTCGTTTCTGTCTGCGCCGTACAGATCCAAGTGTGACCGGCGCTACGCTAGATGACCGAGTA

CAAGCCACGGTGCCTCGCCACCCGCGACGACGTCCCCAGGGCCGTACGCACCCCTCGCCGCCGCTTCGCCGACTACCCGCCACGCGCCACACCGTCGA
TCCGGACCGCCACATCGAGCGGGTACCGAGCTGCAAGAACTCTTCTCACGCGCGTGGGCTCGACATCGGCAAGGTGTGGGTGCGGACGACGCGCGCGC
GGTGGCGGTCTGGACCACGCCGAGAGCGTCGAAGCGGGGCGGTGTTCCGCCGAGATCGGCCCGCATGGCCGAGTTGAGCGGTTCGCCGCTGGCCGCGCA
GCAACAGATGGAAGGCTCTTGGCGCGCACCGGCCAAGGAGCCGCGTGGTTCCTGGCCACCGTCGGCGTCTCGCCCGACCACAGGGAAGGTCTGGG
CAGCGCGCTCGTGTCCCCGAGTGGAGGCGGCCGAGCGCGCGGGGTGCCGCCTTCTGGAGACCTCCGCGCCCGCAACCTCCCTTCTACGAGCGGT
CGGCTTACCGGTACCGCGACGTGAGGTGCCGAAGGACCGCGCACCTGGTGCATGACCCGCAAGCCCGGTGCCTGAGTCGACAATCAACCTCTGGATTA
CAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACCTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCG
TATGGCTTTTCAATTTCTCCTCCTGTATAAATCCTGGTGTGCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTGTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGACTGTGTT
TGCTGACGCAACCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGC
CGCTGCCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCTGGTGGTGTGCGGGGAAATCATCGTCTTCTTGGCTGCTCGCT
GTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGACGTCTTCTGCTACGTCCTTCCGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCTTCCCGCGGCTGCTGCCGCGCTGCGGC
CTCTCCGCTCTTCGCTTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCGCGCTCCCGCCTGGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTA
GATCTTAGCCACTTTTAAAAAGAAAAGGGGACTGGAAGGGTAATCACTCCCAACGAAGATAAGATCTGCTTTTGTCTTACTGGGTCTCTCTGGTTA
GACCAAAATCGGAGCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCTTGAAGTGTGTCGCGTCTG
TTGTGTGACTCTGGTAAGTAGAGATCCCTCAGACCTTTTAGTCAGTGTGAAAAATCTCTAGCAGTAGTAGTTCATGTCATCTTATTATTCAGTATTATAA
CTTGCAAAGAAATGAATATCAGAGAGTGAGAGGAACTTGTTATTGACGCTTATAATGGTTACAATAAAGCAATAGCATCACAATTTACAAATAAAGCA
TTTTTTTACTGCATTCTAGTTGTGGTTGTGCCAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGCTCTAGCTATCCCGCCCTAACTCCGCCAGTTCGCC
ATTCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGACAGAGCCGAGGCGCGCTCGGCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAG
GCCTAGACTTTTGCAGAGACGCGCCAAATTCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCTGTGTGAAATGTTATCCGCTCACAATTCACACAACATACGAGCCG
GAAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCGCTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCC
AGCTGCATTAATGAATCGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCCTATTGGGCGCTCTCCGCTTCCCTGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTGCTCGGC
TGCGCGAGCGGTATCAGCTCAAAAGCGGTAATACGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGG
CCAGGAACCGTAAAAAGCGCGTGTGTCGCGTTTTCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAATAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACC
CGACAGGACTATAAAGATACAGGCGTTTCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCGCGCTTCTCC
CTTCGGAAGCGTGGCGCTTCTCATAGCTCAGCTGTAGGTATCTAGTTCCGTTGAGTGTGCTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTT
AGCCCGACCGCTGCGCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAAGTCCAAACCGGTAAGACAGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCA
GAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTGGTATCTGCGCTCTGTGAAGCCAG
TTACCTTCGGAAGAGTGTGAGCTCTTGTATCCGGCAACAAACACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTGTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAA
AAGGATCTCAAGAAGATCTTTGATCTTTTCTACGGGTCTGACGCTCAGTGAACGAAAACCTACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGA
TCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAATAAATGAAGTTTAAATCAATCTAAAGTATATAGTAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGG
CACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCTGTTTATCCATAGTTGCCTGACTCCCGCTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTG
CTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCCAGCCAGCCGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCTGCAACTTTAT
CCGCTCCATCCAGTCTATTAATGTTGCCGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCCGCAAGTAAAGTTTGGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGG
TGTCACGCTCGTCTGTTGGTATGGCTTCAATCAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCT
TCGGTCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTGATGCCATCCGTAAGAT
GCTTTTCTGTGACTGGTGAAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGCGCAGCGAGTTGCTCTTGGCCGCGTCAATACGGGATAATACCGCGC
CACATAGCAGAACTTTAAAGTGCTCATCATTTGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCA
CTCGTGACCCCACTGATCTTACGATCTTTTACTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGGAATAAGGGCGA
CACGGAATGTTGAATACTCATACTCTCTCTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTGAATGTATTAGA
AAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGAAAAGTGCCACCTGACGTCTAAGAAACCATTTATCATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTA
TCACGAGGCCCTTTCGCTCTCGCGCTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCG
GGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCTCAGCGGGTGTGGCGGGTGTGGGGCTGGCTTAACATATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCAT
TGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCCATTCCGCCATTAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGG
CCTCTTCGCTATTACGCCAGTGGCGAAAGGGGATGTGCTGCAAGGCGATTAAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCAGTACGACGTTGTAAACGACGG
CCAGTGCCAAGCTG -3' (서열번호 50)

- [0174] 나아가, 벡터는 CD3 분자의 구성 요소와 TCR 알파 및 베타의 구성 요소를 포함할 수 있다.
- [0175] 이에, 도 15b를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR 서열을 발현시키기 위한 CD3 분자 및 T 세포 수용체의 핵산 서열에 대한 모식도가 도시된다.
- [0176] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR 서열을 발현시키기 위한 CD3 분자 및 T 세포 수용체의 핵산 서열에 대한 구성

요소들은 각 요소들은 독립적인 발현을 위하여, Furin + x2A 서열 및 IRES 서열로 연결되어 있다.

[0177] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 TCR alpha 핵산 서열 (TRAV23/DV6): 5'-ATGGAGACCTCTTGGGCTGCTTATCCTTTGGCTGCAGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACGCAGATTCTGCAGCTCTGAGTGTCCAGAA GGAGAAAACCTGGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAGGACCTGGGAAAGGTCTCACATCTCTGTTGCTT ATTCAGTCAAGTCAGAGAGAGCAAACAAGTGAAGACTTAATGCCTCGCTGGATAAATCATCAGGACGTAGTACTTTATACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGT GACTCAGCCACCTACCTCTGTCAGCAACAGGAACCTACAAATACATCTTTGGAAGAGGAACACAGCCTTATTGTTTCATCCGTATATCCAGAACCCTGACCCT GCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCAAAAGTAAGGATTCTGAT GTGTATATACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGAAGTCAAGAGCAACAGTGTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGTCATGTGCAAAAC GCCTTCAACAACAGCATTATTCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAAC CTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATTGGGTCCGAATCCTCCTCTGAAAGTGGCCGGGTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC-3' (서열번호 51)

[0178] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 TCR beta 핵산 서열 (TRBV18) : 5'-ATGAGCATCGGCTCCTGTGCTGTGCAGCCTGTCTCTCTGTGGGCAGGTCCAGTGAATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAAATTCAGGTCCTGAAGACA GGACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACATGAATACATGTCTGTGATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATTCTACTCA GTTGGTGTGGTATCACTGACCAAGGAGAAGTCCCCAATGGCTACAATGTCTCCAGATCAACCACAGAGGATTTCCCGCTCAGGCTGCTGCGGCTGTCCC TCCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCTCACCGGAGTTTGCGAGGGCGCTGGACAATCAGCCCCAGCATTGTTGGCCAGGCACCCGGCTGACAGTGTCT GAGGACCTGAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTGCTGTGTTTGAAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTATGCCTGGCCACA GGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGTGCACAGTGGGTCAGCAGACCCGAGCCCTCAAGGAGCAGCCCGCC CTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGTCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTCTTACGGG CTCTCGGAGATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTCACTCCGAG TCTTACCAGCAAGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGAAGGCCACCTTGATGCCGTGCTGGTCACTGCCCTCGTGCTGATGGCC ATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGCTAG-3' (서열번호 52)

[0179] 이때, 서열번호 51 및 52는 각각 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR인 서열번호 1 및 13의 아미노산 서열에 대한 핵산 서열(서열번호 25 및 37)을 포함하고 있으며, 서열번호 51 및 52에 대한 아미노산 서열은 하기의 서열번호 55 및 56과 같다(밑줄 및 굵은 글씨로 표시).

[0180] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 TCR alpha 아미노산 서열 (TRAV23/DV6) : METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVETQIPAALSVPEGENLVNCSFTDSA IYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRNLNASLDKSSGRSTLYIAASQPG DSATYLCAATGTYKYIFGRGTSILVHPYIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVYITDKTVLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFPSPESSCDKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS(서열번호 55)

[0181] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 TCR beta 아미노산 서열 (TRBV18) : MSIGLLCCAALSLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEVPGNYNVSRTSTEDFPLRLLSAAP SQTSVYFCASSPEFARALDNQPHFGPGTRLTVLEDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQLKEQPA LNSRYLCLSSRLRVSATFWQNPNRNHFRCVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVMA MVKRKDSRG-3' (서열번호 56)

[0182] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 TCR alpha 핵산 서열 (TRAV24): 5'-ATGGAGACCTCTTGGGCTGCTTATCCTTTGGCTGCAGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACGCAGATTCTGCAGCTCTGAGTGTCCAGAA GGAGAAAACCTGGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAGGACCTGGGAAAGGTCTCACATCTCTGTTGCTT ATTCAGTCAAGTCAGAGAGAGCAAACAAGTGAAGACTTAATGCCTCGCTGGATAAATCATCAGGACGTAGTACTTTATACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGT GACTCAGCCACCTACCTCTGTGCCTTTATAGCCATGGAGGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAGAGGAACACAGCCTTATTGTTTCATCCGTATATCCAG AACCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCAAAAGT AAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGAATTCAGAGCAACAGTGTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTT GCATGTGCAAAACGCTTCAACAACAGCATTATTCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAA ACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTGAGTATTGGGTCCGAATCCTCCTCTGAAAGTGGCCGGGTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGG TCCAGC-3' (서열번호 53)

[0183] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 TCR beta 핵산 서열 (TRBV19) : 5'-ATGAGCATCGGCTCCTGTGCTGTGCAGCCTGTCTCTCTGTGGGCAGGTCCAGTGAATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAAATTCAGGTCCTGAAGACA GGACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACATGAATACATGTCTGTGATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATTCTACTCA GTTGGTGTGGTATCACTGACCAAGGAGAAGTCCCCAATGGCTACAATGTCTCCAGATCAACCACAGAGGATTTCCCGCTCAGGCTGCTGTGCGCTGTCCC

TCCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGTAGTATGCAGGGGGCTATGAGTGAGCAGTTCTTCGGCCCCAGGCACCCGGCTGACAGTGCTCGAGGACCTGAAA
AACGTGTTCCACCCGAGGTGCTGTGTTTGTAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTATGCTGGCCACAGGCTTCTACCCC
GACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGAGCCCTCAAGGAGCAGCCGCCCTCAATGACTCC
AGATACTGCTGAGCAGCCGCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAAT
GACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAA
GGGGTCTGTCTGCCACCATCTCTATGAGATCTTGTAGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCACTGCCCCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGA
AAGGATTCCAGAGGCTAG-3' (서열번호 54)

[0184] 이때, 서열번호 53 및 54는 각각 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR인 서열번호 2 및 14의 아미노산 서열에 대한 핵산 서열(서열번호 26 및 38)을 포함하고 있으며, 서열번호 53 및 54에 대한 아미노산 서열은 하기의 서열번호 57 및 58과 같다(밑줄 및 굵은 글씨로 표시).

[0185] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 TCR alpha 아미노산 서열 (TRAV24) :
METLLGLLILWLQWVSSKQEVTPAALSVPEGENLVNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRNLASLDKSSGRSTLYIAASQPG
DSATYL**CAFIHGGSQGNLIF**GRGTSLIVHPYIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDF
ACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (서열번호 57)

[0186] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열 발현을 위한 TCR beta 아미노산 서열 (TRBV19) :
MSIGLLCCAALLWAGPVNAGVTQPKFQVLKGTQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEVPGNYNRSRSTEDFPLRLLSAAP
SQTSVYF**CASSMQGAMSEQFF**PGPTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWVNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDS
RYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVISAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLSALVLMAMVKR
KDSRG (서열번호 58)

[0187] 전술한 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열은 NK 세포뿐만 아니라, T 세포, 자연 살해 T (natural killer T cell, NKT), 인간 배아 줄기 세포, 조혈 줄기 세포 (hematopoietic stem cell, HSC) 및 유도 다능성 줄기 세포 (induced pluripotent stem cells, iPS)등을 포함하는 다양한 면역 세포에서 발현시켜 사용될 수 있으며, 이에 따라, 이러한 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 서열을 포함하는 면역 세포는 EGFR-L858R 돌연변이 항원 (HVKITDFGR-A*33:03)을 포함하는 다양한 종양 세포에 대하여 보다 효과적인 면역 반응 및 항암 효과를 가질 수 있다.

[0188] 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR 및 이를 포함하는 NK 세포에 대한 검증

[0189] 이하에서는 도 16a 내지 18을 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR(서열번호 1 내지 12의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 내지 24의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함) 및 이를 포함하는 NK 세포의 항암 효과에 대하여 구체적으로 설명하도록 한다.

[0190] 이때, NK 세포에 발현시킨 TCR은 서열번호 1 및 2의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 및 14의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함하는 TCR이 이용되었으나, 이는 예시일 뿐이며, 서열번호 1 내지 12의 아미노산 서열로 구성된 TCR 알파 사슬 가변 영역의 CDR 3 및 서열번호 13 내지 24의 아미노산 서열로 구성된 TCR 베타 사슬 가변 영역의 CDR 3을 포함하는 TCR 간의 세포 살상 효과는 차이가 없음에 따라, 선택적으로 사용할 수 있다.

[0191] 도 16a 및 16b는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR의 세포 활성을 확인한 결과이다.

[0192] 먼저, 도 16a를 참조하면, 비교예 1은 녹아웃(Knockout)된 Jurkat 세포가 이용되었으며(control, TCR KO), 비교예 2는 렌티 바이러스를 이용하여 녹아웃된 Jurkat 세포에 NY-ESO-1_HLA-A 02:01 항원에 특이적인 TCR을 발현시킨 세포(NY-ESO-1 2:01 TCR)가 이용되었다. 나아가, 실시예 1 (L858R 1 33: 03 TCR) 및 2(L858R 2 33: 03 TCR)로는 렌티 바이러스를 이용하여 녹아웃된 Jurkat 세포에 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 발현시킨 세포가 이용되었다. 보다 구체적으로, 실시예 1(L858R 1 33: 03 TCR)은 서열번호 1 및 13(TRAV23/DV6 및 TRBV 18에 대한 서열번호 25 및 37의 핵산 서열)의 아미노산 서열을 포함하고 있는 서열번호 51 및 52의 핵산 서열에 기초한 TCR을 발현시킨 세포이며, 실시예 2(L858R 2 33: 03 TCR)는 서열번호 2 및 14(TRAV24 및 TRBV 19에 대한 서열번호 26 및 38의 핵산 서열)의 아미노산 서열을 포함하고 있는 서열번호 53 및 54의 핵산 서열에 기초한 TCR을 발현시킨 세포이다.

[0193] 나아가, 실시예 1 및 2 (L858R 1 33: 03 TCR 및 L858R 2 33: 03 TCR)의 경우, EGFR-L858R 돌연변이 항원 (HVKITDFGR-A*33:03) tetramer에 특이적으로 반응하여 IFN-gamma과 같은 세포 살상인자가 분비될 수 있음에 따라, 비교예 1, 2 및 실시예 1, 2를 NY-ESO-1_HLA-A 02:01 항원 테트라머(Tetramer) 및 EGFR-L858R 돌연변이 항

원(HVKITDFGR-A*33:03) 테트라머(Tetramer)에 노출시켜 IFN-gamma의 발현을 측정하였다.

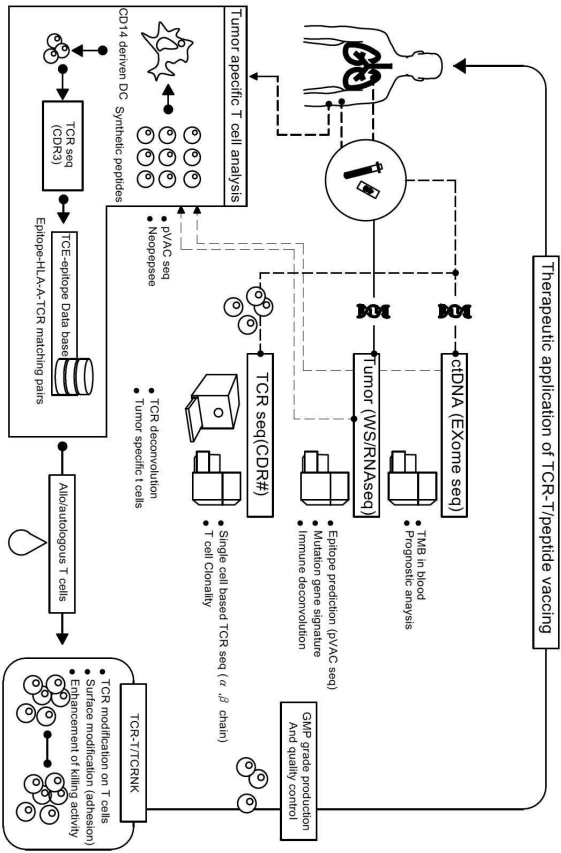
- [0194] 이에, 도 16b를 참조하면, 비교예 1(TCR KO Jurkat T cell)의 경우, 항원을 인지할 수 있는 TCR을 포함하고 있지 않음에 따라, IFN-gamma 발현 세포(IFN- γ positive cells)가 없는 것으로 나타나며, 비교예 2(NY-ESO-1-TCR Jurkat T cell)의 경우, NY-ESO-1_HLA-A 02:01 항원만을 인지할 수 있는 TCR을 포함함에 따라, NY-ESO-1_HLA-A 02:01 항원에서만이 IFN-gamma 발현 세포가 존재하는 것으로 나타난다.
- [0195] 나아가, 실시예 1 및 2(L858R 1 33: 03 TCR 및 L858R 2 33: 03 TCR)의 경우, EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)을 인지할 수 있는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함함에 따라, EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03) tetramer에 특이적으로 반응하여 IFN-gamma이 발현하는 것으로 나타난다.
- [0196] 즉, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR은 면역 세포에 발현되어, EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)에 특이적으로 반응하여, IFN-gamma와 같은 세포 살상 인자(사이토카인)을 분비할 수 있다는 것을 의미할 수 있다.
- [0197] 나아가, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR은 EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03) 이외의 NY-ESO-1_HLA-A 02:01 항원에서는 IFN-gamma의 발현을 유도하지 않음에 따라, 본 발명이 표적하고자하는 EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)에 고도의 표적화가 가능하다는 것을 의미할 수 있다.
- [0198] 이에, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR은 EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)을 포함하는 종양에 있어, 보다 효과적으로 표적화가 가능함에 따라, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 면역 세포는 향상된 항암 효과를 가질 수 있다.
- [0199] 도 17a 및 17b는 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포에 대한 세포 살상 효과를 확인한 결과이다. 이때, 세포 살상 효과 확인을 위하여, 실시간 세포 분석 기기(Real-Time Cell Analyzer, RTCA)가 이용되었으며, 종양 세포 시료로서, EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)을 발현하는 환자 유래 종양 세포주인 YU1154(항원 특이적 표적 세포) 및 YU1094(항원 비특이적 표적 세포, EGFR^{mut} HLA11:01)가 사용되었다. 보다 구체적으로, 보다 구체적으로, 분석 기기의 세포 배양 플레이트에 전술한 환자 유래의 종양 세포주인 종양 세포(target cell, T)들을 배양 뒤, NK-92 세포(effector cell, E)와 일정 비율(T:E ratio)로 공배양하여, 배양 시간에 따른 세포 살상(cytolysis) 정도를 측정하였다. 이때, NK-92 세포는 야형성(wild type, WT) NK-92 세포와 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR(EGFR^{mut} HLA33:03-TCR, DAAN-01)을 포함하는 NK-92 세포를 포함하며, 이들 간의 살상 정도를 비교하였다. 나아가, 이하에서는 설명의 편의를 위하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK-92 세포를 실시예라고 명명하고, 야형성(wild type, WT) NK-92 세포를 비교예라고 명명하여 설명하도록 한다.
- [0200] 먼저, 도 17a를 참조하면, YU1154(항원 특이적 표적 세포)에 대한 세포 살상 효과가 도시되며, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포(TCR-NK) 즉, 실시예의 경우, 비교예(야형성 NK 세포)보다 높은 살상 효과를 가지는 것으로 나타난다.
- [0201] 보다 구체적으로, 도 17a의 (a)를 참조하면, 본 발명의 실시예는 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 10 및 50의 비율(TCR-NK 1:10, 1:50)로 공배양된 경우, 6시간 동안 약 60 % 이상의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다. 이에 반해, 비교예는 표적 세포(종양 세포)에 대한 비율과 상관없이 모두 50 % 이하의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다.
- [0202] 나아가, 도 17a의 (b)를 참조하면, 본 발명의 실시예는 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 10 및 50의 비율(TCR-NK 1:10, 1:50)로 공배양된 경우, 12시간 동안 약 70 % 이상의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다. 이에 반해, 비교예는 표적 세포(종양 세포)에 대한 비율과 상관없이 모두 50 % 이하의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다.
- [0203] 더 나아가, 도 17a의 (c)를 참조하면, 본 발명의 실시예는 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 10 및 50의 비율(TCR-NK 1:10, 1:50)로 공배양된 경우, 72시간 동안 약 85 % 이상의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다. 이에 반해, 비교예는 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 50의 비율(WT-NK 1:50)로 공배양된 경우를 제외하곤, 모두 10 % 이하의 살상 효과를 갖는 것으로 나타나며, 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 50의 비율(WT-NK 1:50)로 공배양된 경우에도 전술한 본 발명의 실시예보다 낮은 약 80 %의 살상 효과만을 갖는 것으로 나타난다.
- [0204] 결국, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포는 EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)에 있어 보다 효과적으로 세포 살상을 유도할 수 있으며, 이에 따라, EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-

A*33:03)을 포함하는 종양에 있어 향상된 항암 효과를 가질 수 있다.

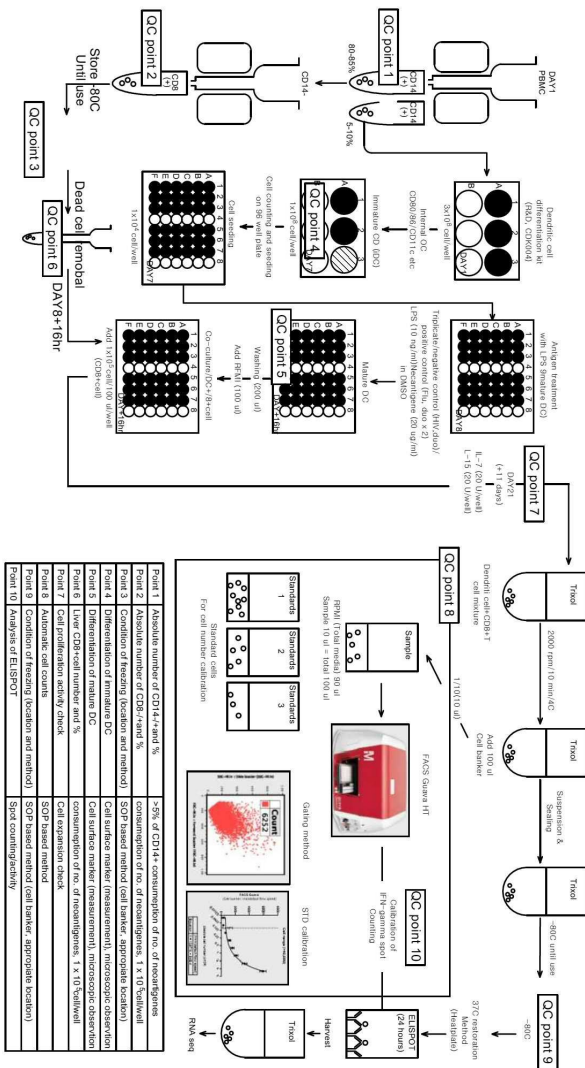
- [0205] 그 다음, 도 17b를 참조하면, YU1094(항원 비특이적 표적 세포)에 대한 세포 살상 효과가 도시되며, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포(TCR-NK) 즉, 실시예의 경우, 비교예(야행성 NK 세포)보다 높은 살상 효과를 가지는 것으로 나타난다.
- [0206] 보다 구체적으로, 도 17b의 (a)를 참조하면, 본 발명의 실시예는 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 10 및 50의 비율(TCR-NK 1:10, 1:50)로 공배양된 경우, 6시간 동안 약 40 % 이상의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다. 이에 반해, 비교예는 표적 세포(종양 세포)에 대한 비율과 상관없이 모두 40 % 미만의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다.
- [0207] 나아가, 도 17b의 (b)를 참조하면, 본 발명의 실시예는 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 10 및 50의 비율(TCR-NK 1:10, 1:50)로 공배양된 경우, 12시간 동안 약 50 % 이상의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다. 이에 반해, 비교예는 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 50의 비율(WT-NK 1:50)로 공배양된 경우를 제외하곤, 모두 40 % 미만의 살상 효과를 갖는 것으로 나타났으며, 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 50의 비율(WT-NK 1:50)로 공배양된 경우에도 전술한 본 발명의 실시예보다 약 5 % 정도 낮은 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다.
- [0208] 더 나아가, 도 17b의 (c)를 참조하면, 본 발명의 실시예는 표적 세포(종양 세포) 1에 대하여 10 및 50의 비율(TCR-NK 1:10, 1:50)로 공배양된 경우, 72시간 동안 약 70 % 이상의 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다. 이에 반해, 비교예는 모두 전술한 본 발명의 실시예(TCR-NK 1:10, 1:50)보다 낮은 살상 효과를 갖는 것으로 나타난다.
- [0209] 결국, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포는 EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)에 있어 보다 효과적으로 세포 살상을 유도할 수 있으며, 이에 따라, EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)을 포함하는 종양에 있어 향상된 항암 효과를 가질 수 있다.
- [0210] 도 18은 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포의 종양 억제 효과를 확인한 결과이다. 이때, 종양 억제 효과는 EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)을 발현하도록 유도된 환자 유래 종양 동물 모델(NOG mice implanted lung adenocarcinoma)에서 확인되었으며, 종양 동물 모델은 EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)을 포함하는 환자 유래 종양 조직을 이식한 뒤, 종양의 크기가 100 내지 150 mm³ 이상되도록 4 내지 5달(month) 동안 사육한 뒤, 표적 크기에 도달하였을 때, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK-92 세포를 주입(주사)하였다. 나아가, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포의 주입은 2 회/주씩 총 4주간 진행되었으며, 주입량은 1회 주사 시 1×10^7 내지 5×10^7 범위에서 선택되었으며, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포의 주입 용량은 세포 치료제의 용법에 따라, 다양하게 선택되어 사용될 수 있다. 또한, 비교예로서, 야행성 NK-92 세포 및 항암 약물(competitive drug) 즉, CD16-NK-92 세포가 각각 주입되어 사용되었다.
- [0211] 도 18을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포(Daan NK cell therapy)를 주입한 경우, 동물 모델의 종양 볼륨(tumor volume)은 약 200 % 이하인 것으로 나타나며, 이는 항암 약물(competitive drug) 및 야행성 NK 세포의 처리보다 낮은 크기인 것으로 나타난다.
- [0212] 즉, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포는 종래의 항암 약물 및 일반적인 면역 세포의 주입보다 종양 억제에 있어 효과적인 것을 의미할 수 있으며, 특히, 본 발명의 일 실시예에 따른 TCR을 포함하는 NK 세포는 일반 면역 세포의 주입에 비해 통계학적으로 유의미한 차이를 가짐에 따라($p < 0.001$), EGFR-L858R 돌연변이 항원(HVKITDFGR-A*33:03)을 포함하는 종양에 있어, 표적 항암(면역) 효과가 현저하게 향상된 것을 의미할 수 있다(* = $p < 0.05$, *** = $p < 0.001$).
- [0213] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시 예들을 더욱 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 반드시 이러한 실시 예로 국한되는 것은 아니고, 본 발명의 기술사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양하게 변형 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시 예들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이고, 이러한 실시 예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가 한정되는 것은 아니다. 그러므로, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 보호 범위는 아래의 청구범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

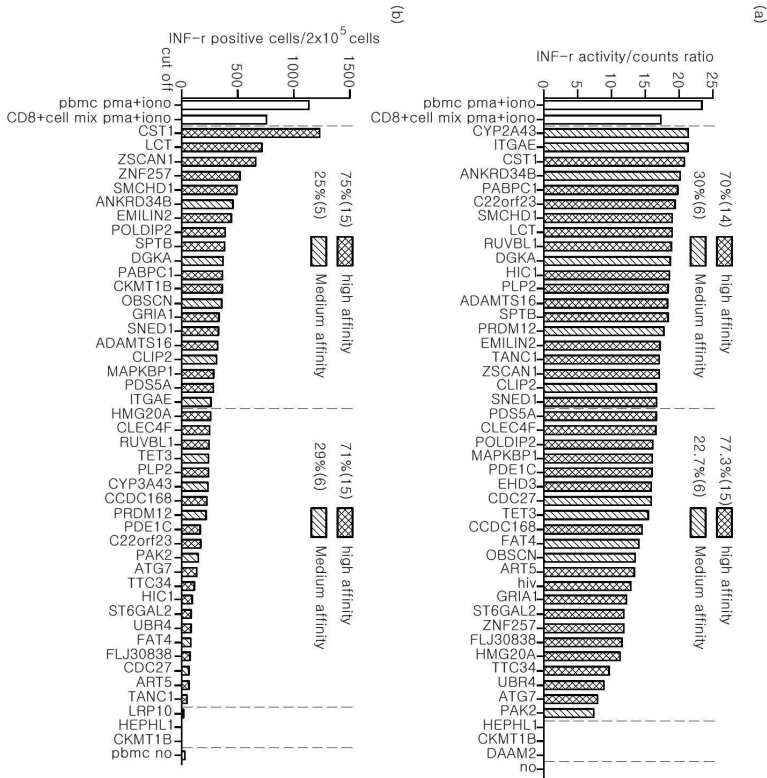
도면1



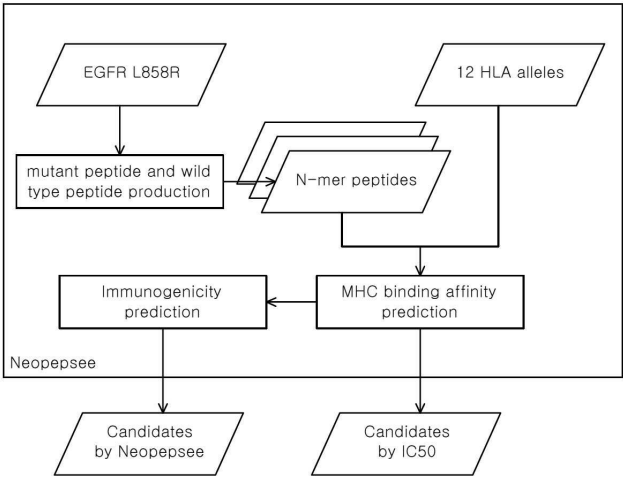
Peptide validation process



도면3



도면4a



HLA-A	Freq(%)*	HLA-B	Freq(%)*
A*2402	20.22	B*5101	9.34
A*0201	14.84	B*1501	8.54
A*3303	14.39	B*4403	8.23
A*1101	9.47	B*5401	5.95
A*0206	8.09	B*5801	5.92
A*3101	5.11	B*3501	5.60

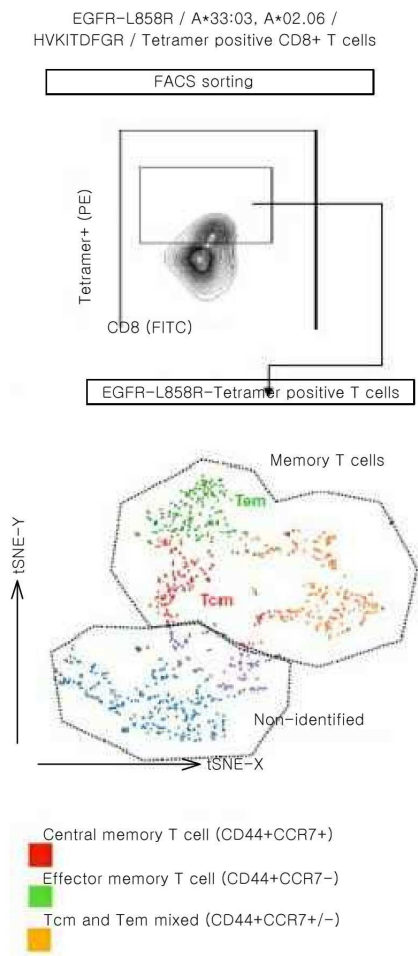
* total number of sample is 5,015

Frequently found in Korean from 'The novel and rare HLA alleles found in Korean by next generation sequencing' by In-Cheol Baek, Tai-Gyu Kim (The Catholic University of Korea)

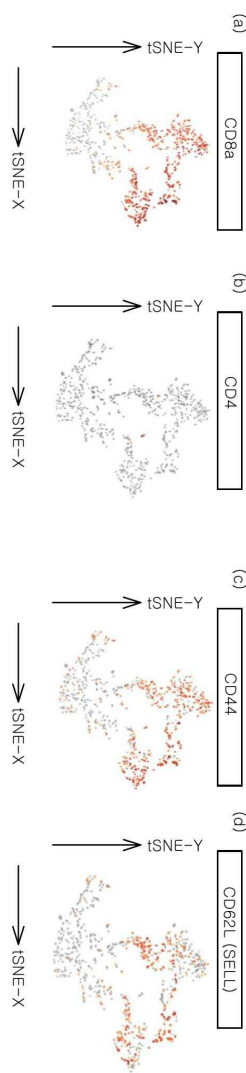
도면4b

sampleID	EGFR	HLA-A1	HLA-A2	HLA Allele	WT_Epitope	MT_Epitope	WT_Score	MT_Score	Fold Change	Length
AV31	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*26:02	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV37	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*24:02	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV155	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*02:01	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV194	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*24:02	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV230	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*24:02	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV237	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*11:01	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV273	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*02:01	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV274	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*24:02	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV278	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*02:01	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9
AV416	L858R	HLA-A*33:03	HLA-A*11:01	HLA-A*33:03	HVKITDFGL	HVKITDFGR	1503.465	5.861	256.524	9

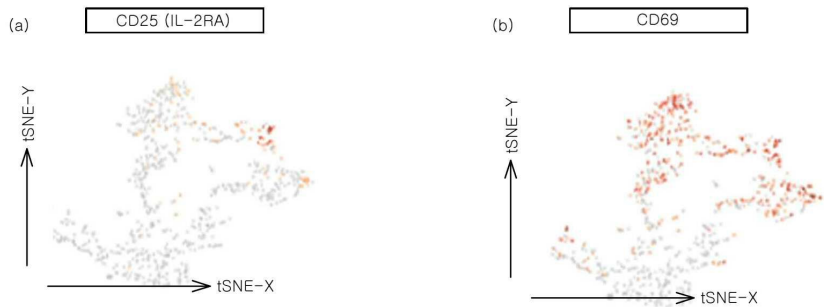
도면5a



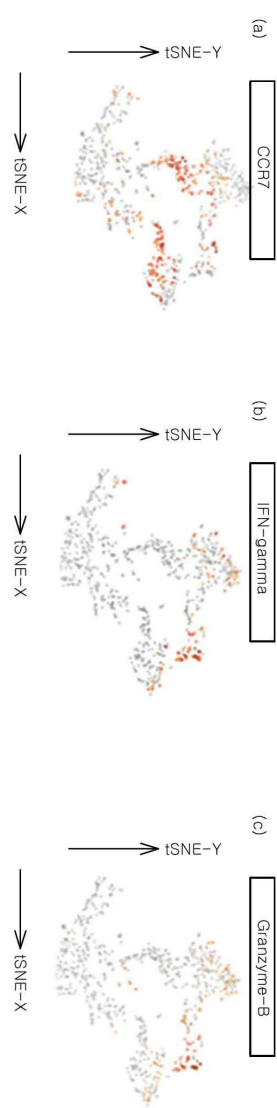
도면5b



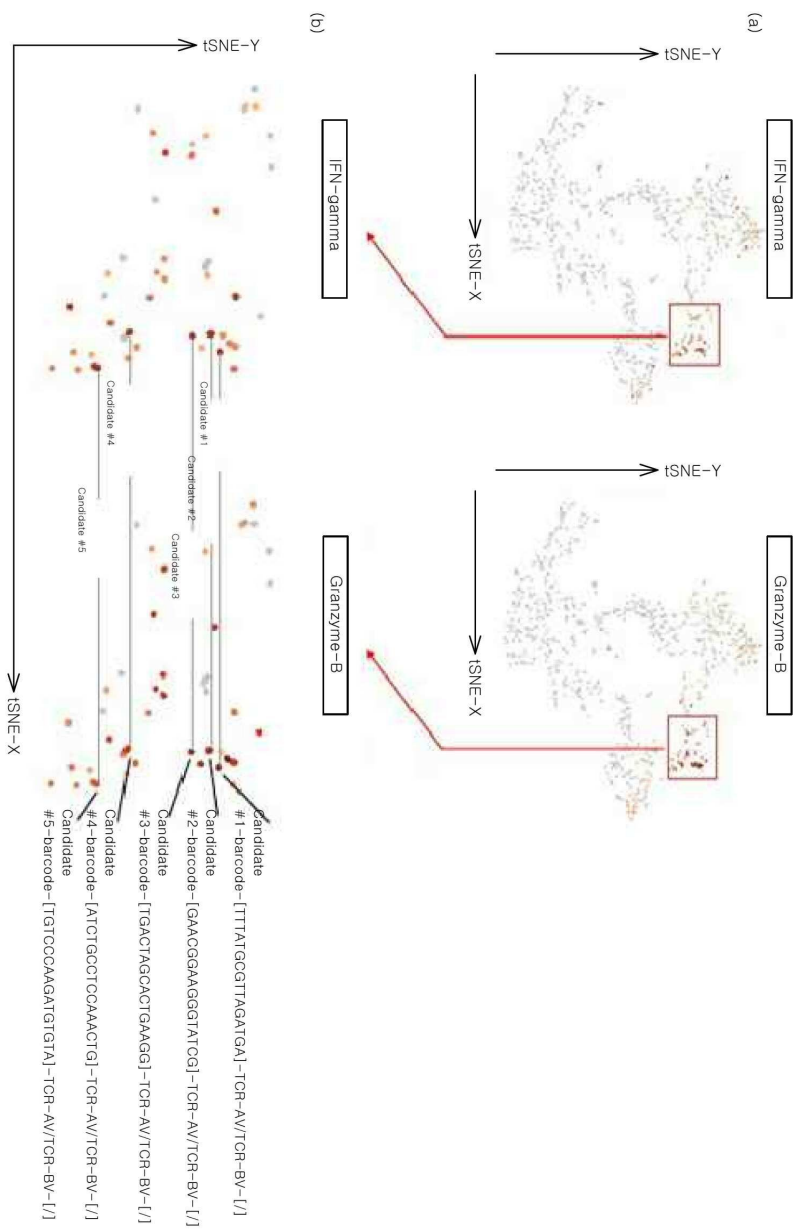
도면5c



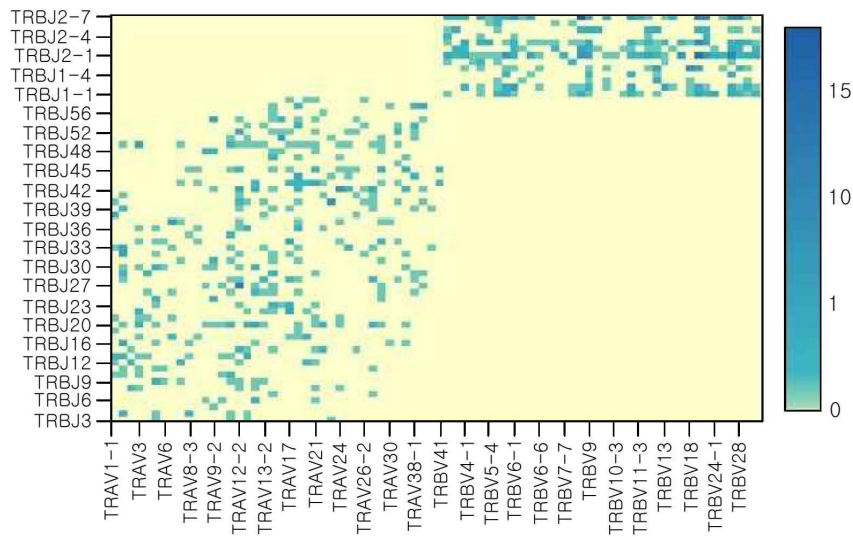
도면5d



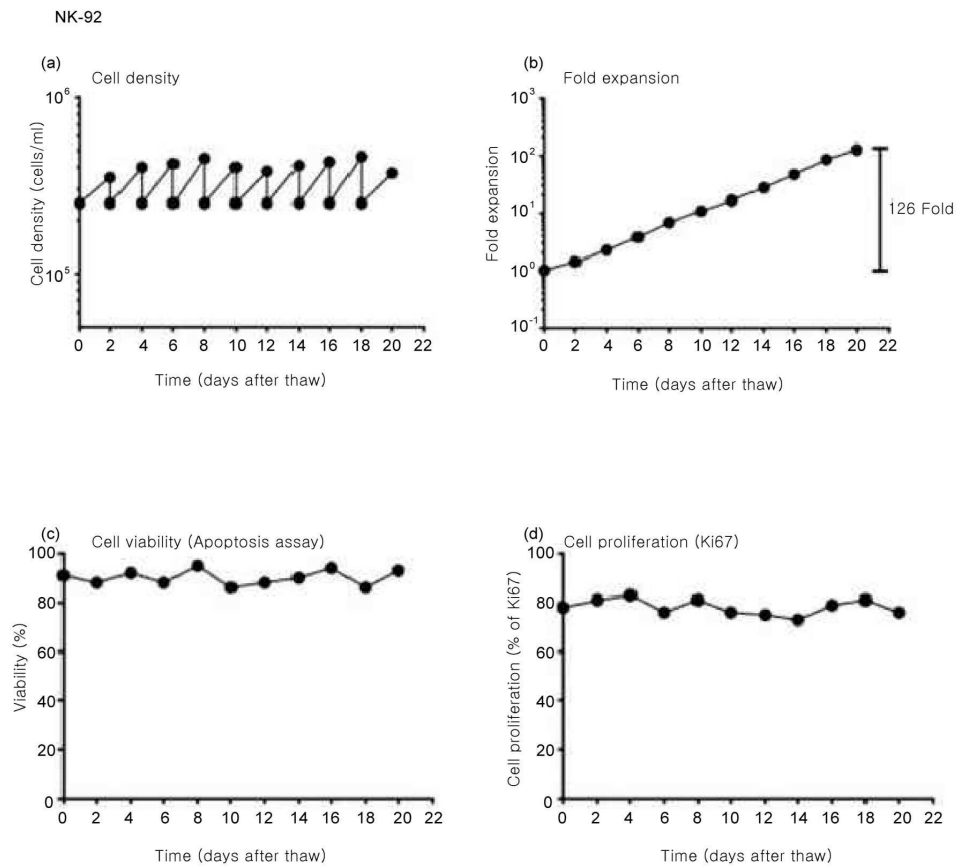
도면6



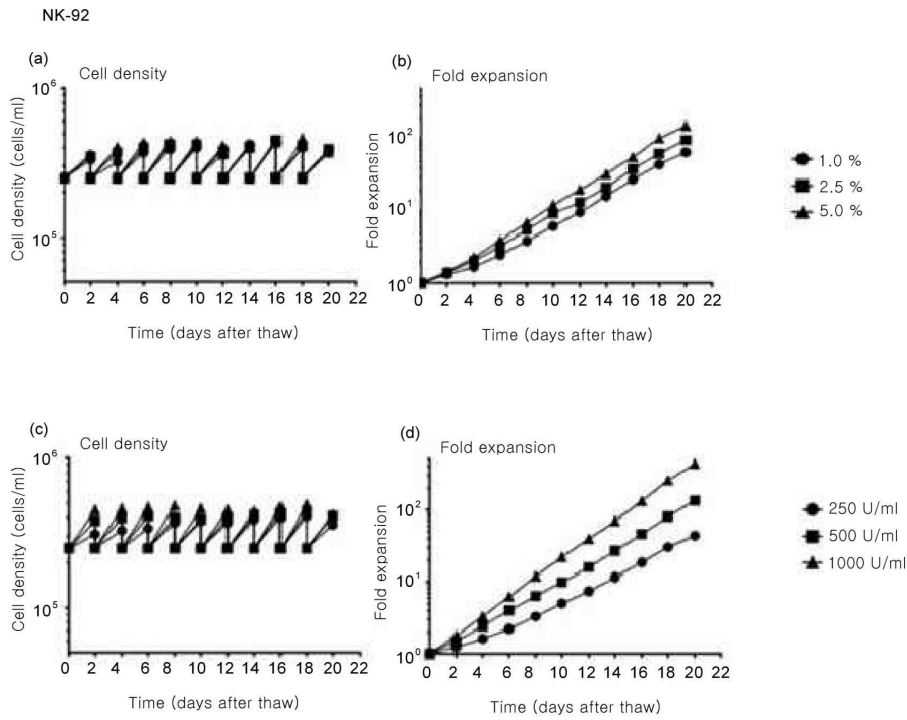
도면7



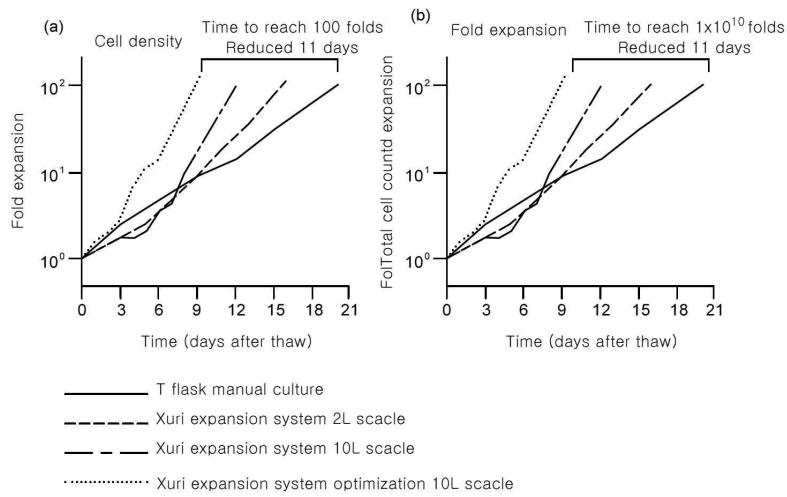
도면8



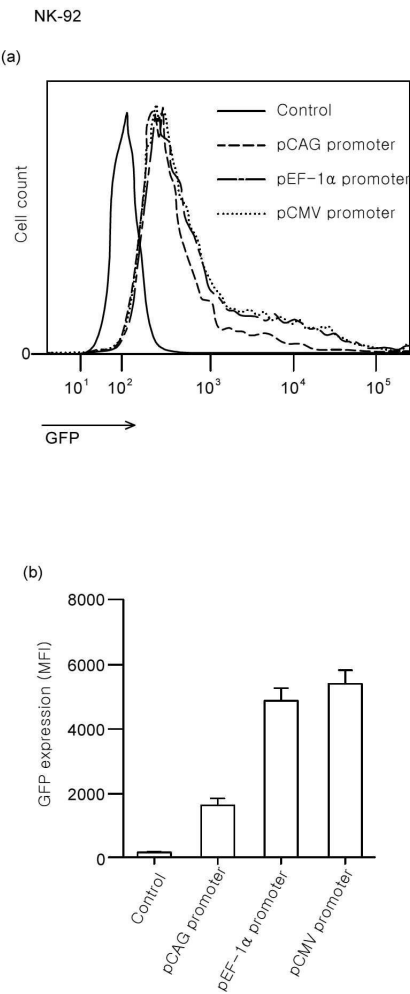
도면9



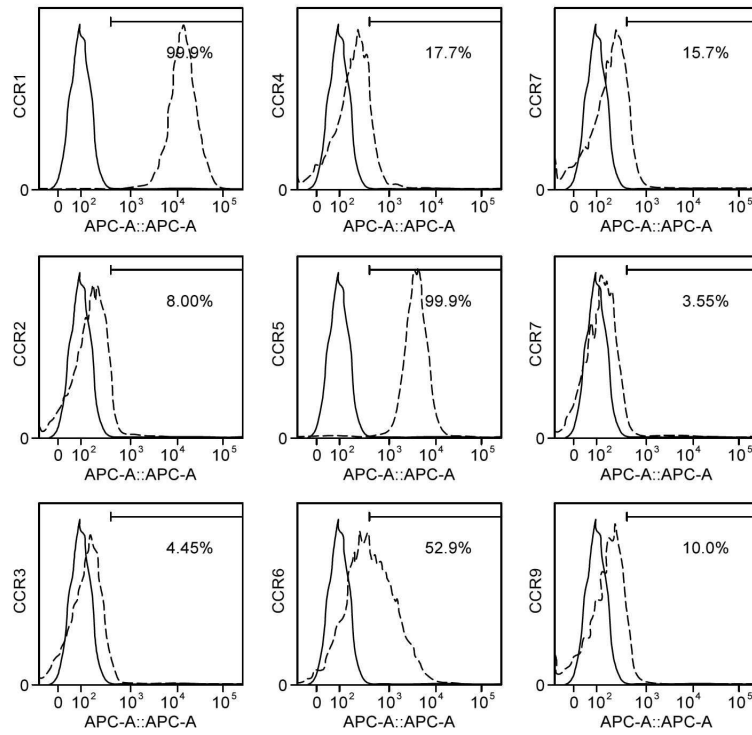
도면10



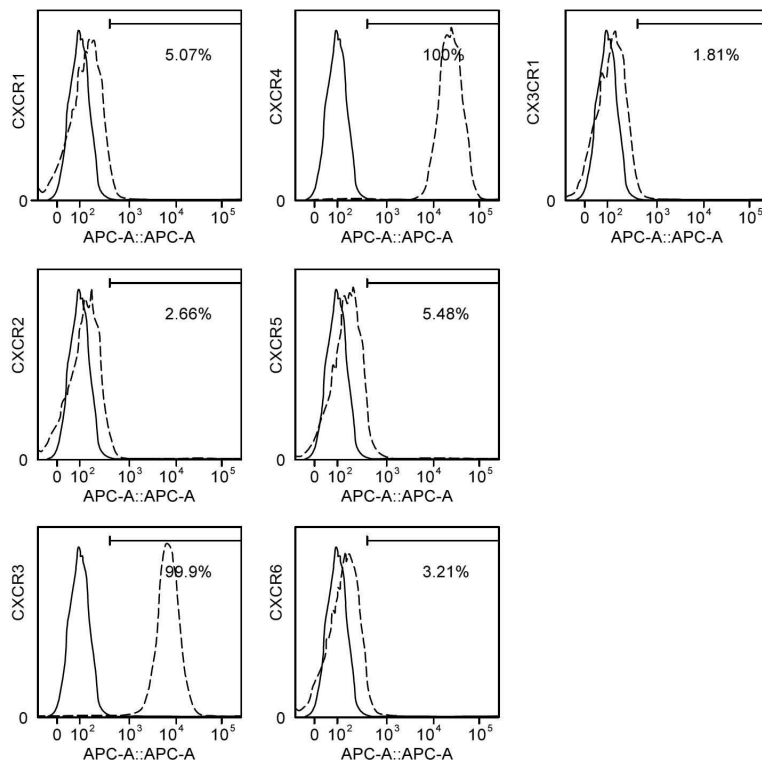
도면12



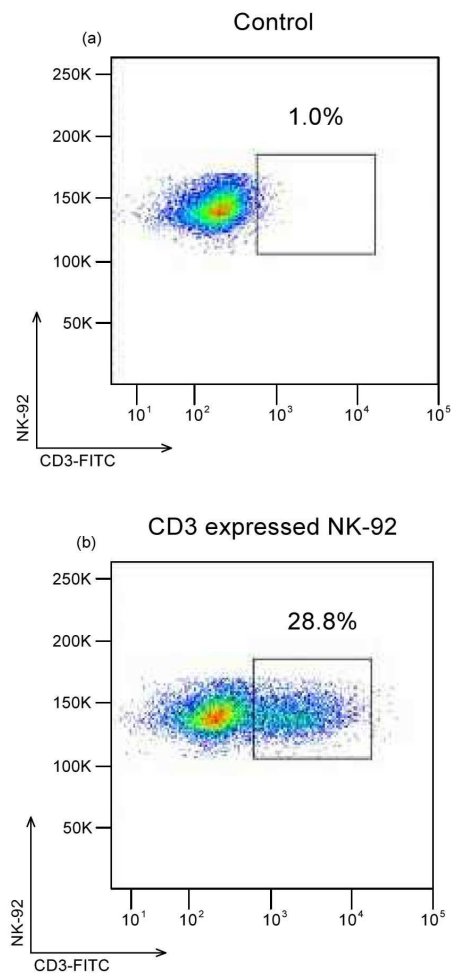
도면13a



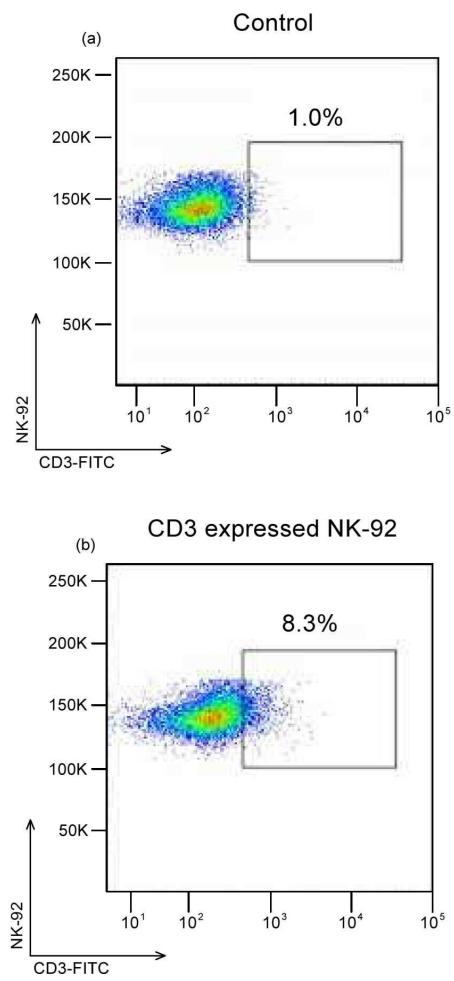
도면13b



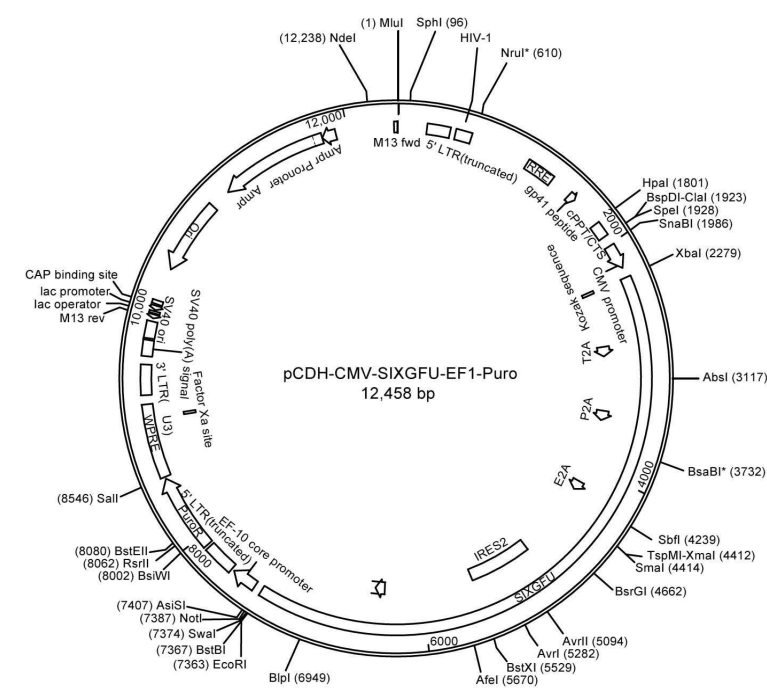
도면14a



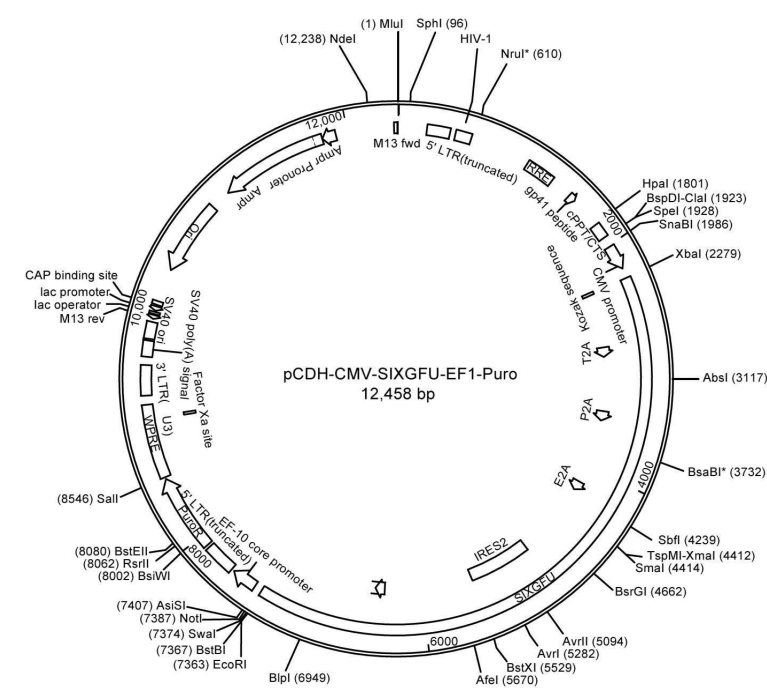
도면14b



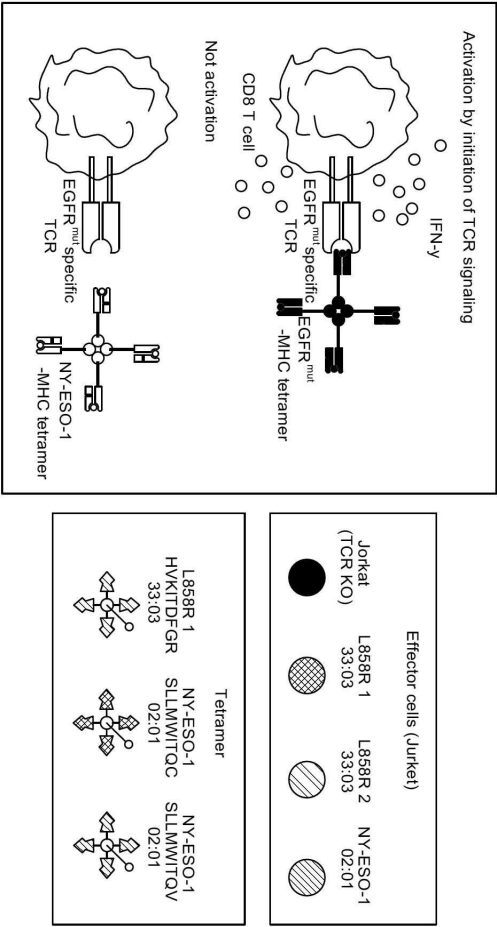
도면15a



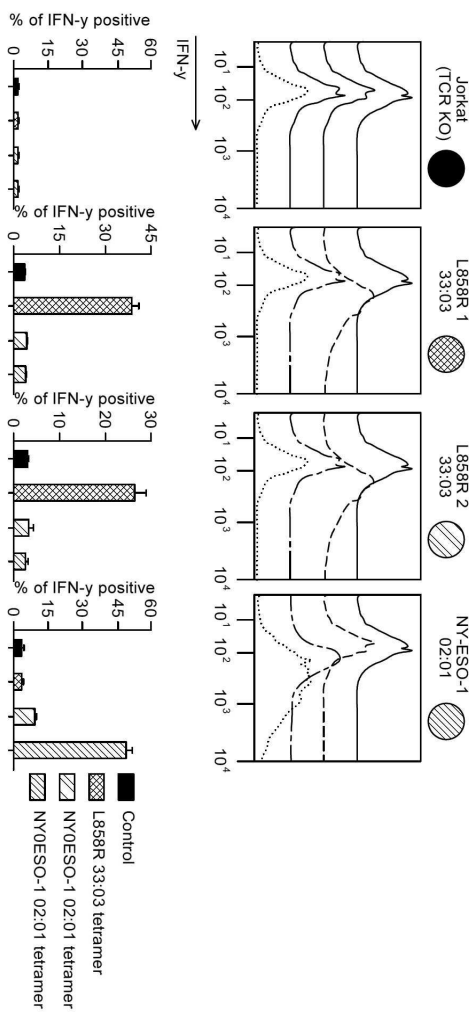
도면15b



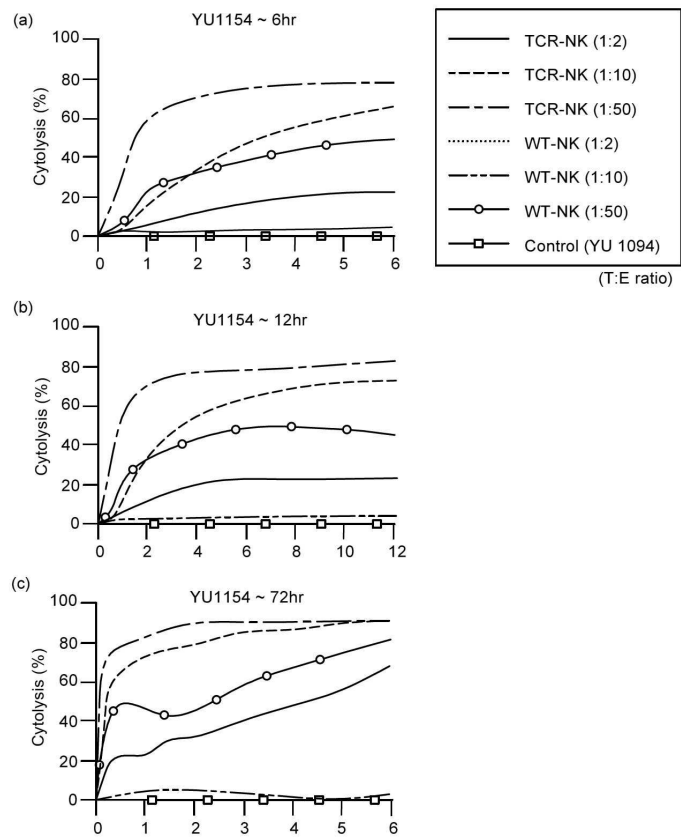
도면16a



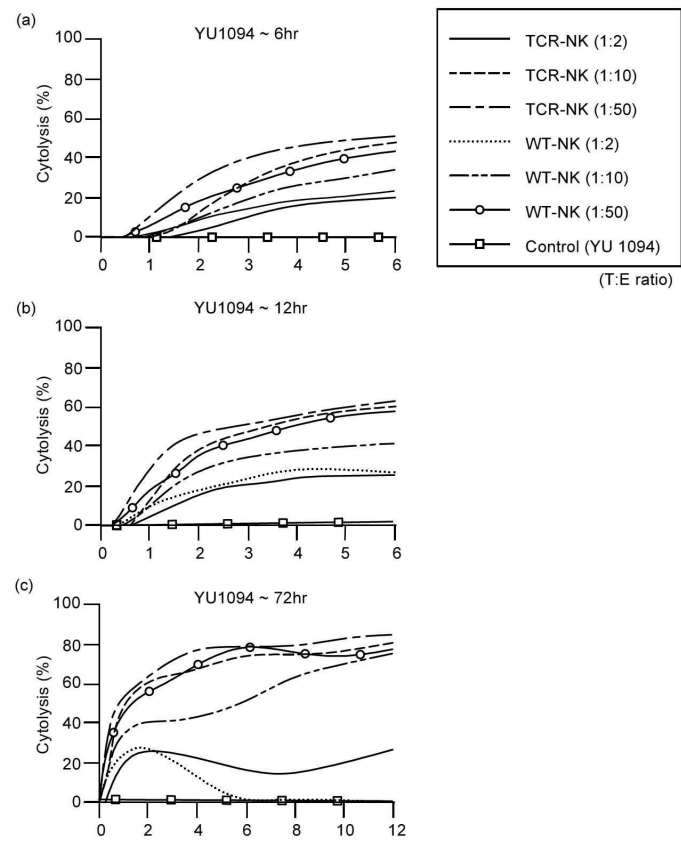
도면16b



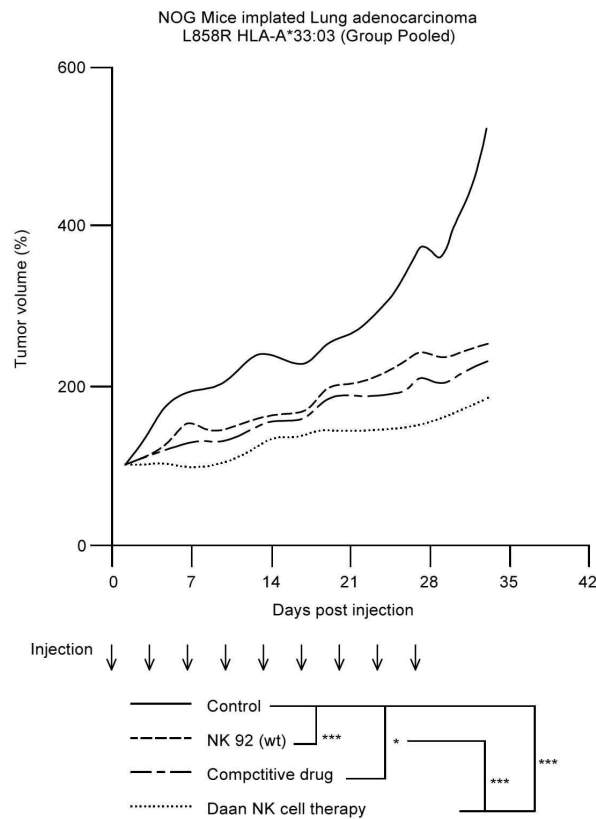
도면17a



도면17b



도면18



서열목록

- <110> Indusly-Academic Cooperation foundation Yonsei University
- <120> T CELL RECEPTORS, IMMUNE CELL COMPRISING T CELL RECEPTORS AND METHOD USING THE SAME
- <130> DP-2021-1428
- <150> KR 10-2020-0129446
- <151> 2020-10-07
- <160> 58
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 15
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha
- <400> 1
- Cys Ala Phe Ile Gly His Gly Gly Ser Gln Gly Asn Leu Ile Phe

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 2

Cys Ala Ala Thr Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile Phe

1	5	10
---	---	----

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 3

Cys Ala Tyr Gly Gly Gly Ser Glu Lys Leu Val Phe

1	5	10
---	---	----

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 4

Cys Ala Leu Ile Asn Ala Arg Leu Met Phe

1	5	10
---	---	----

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 5

Cys Ala Val Asn Gly Gly Ser Gln Gly Asn Leu Ile Phe

1	5	10
---	---	----

<210> 6
<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 6

Cys Ala Met Arg Glu Gly Tyr Gly Gly Ala Thr Asn Lys Leu Ile Phe

1 5 10 15

<210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 7

Cys Ala Tyr Asn Asn Gly Asp Gly Gly Ser Gln Gly Asn Leu Ile Phe

1 5 10 15

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 8

Cys Ala Thr Asp Gly Gly Ser Ala Arg Gln Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 9

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 9

Cys Ala Thr Leu Tyr Asn Thr Asp Lys Leu Ile Phe

1 5 10

<210> 10
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha
 <400> 10
 Cys Ala Met Arg Gly Pro Trp Arg Gly Ser Ser Gly Ser Ala Arg Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Phe

<210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha
 <400> 11
 Cys Ala Leu Ser Val Arg Gly Phe Lys Thr Ser Tyr Asp Lys Val Ile
 1 5 10 15
 Phe

<210> 12
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR alpha
 <400> 12
 Cys Ala Val Asn Met Met Asp Ser Ser Tyr Lys Leu Ile Phe
 1 5 10

<210> 13
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 13

Cys Ala Ser Ser Met Gln Gly Ala Met Ser Glu Gln Phe Phe

1 5 10
 <210> 14
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 14

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

1 5 10 15
 His Phe
 <210> 15
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 15

Cys Ala Ser Ser Ser Ala Thr Gly Thr Gln Gly Tyr Thr Phe

1 5 10
 <210> 16
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 16

Cys Ala Ser Ser Phe Thr Asn Thr Gly Glu Leu Phe Phe

1 5 10
 <210> 17
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 17

Cys Ala Ser Ser Met Trp Gln Gly Asn Gly Glu Gln Tyr Phe

1 5 10

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 18

Cys Ala Ser Ser Val Gly Pro Gly Thr Thr Ser Tyr Asn Glu Gln Phe

1 5 10 15

Phe

<210> 19

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 19

Cys Ala Thr Ser Arg Asp Arg Ser Thr Asp Thr Gln Tyr Phe

1 5 10

<210> 20

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 20

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

1 5 10

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 21

Cys Ala Ser Ser Gln Ser Met Asn Thr Glu Ala Phe Phe

1 5 10

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 22

Cys Ala Ser Arg Thr Gly Leu Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe

1 5 10

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 23

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

1 5 10

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> amino acid sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 24

Cys Ala Ser Ser Phe Pro Thr Ala Arg Ser Asn Thr Glu Ala Phe Phe

1 5 10 15

<210> 25

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 25

tgtgccttta taggccaatgg aggaagccaa ggaaatctca tcttt 45

<210> 26

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 26

tgtgcagcaa caggaacctt caaatatct ttt 33

<210> 27

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 27

tgtgcttatg gcggcggatc tgaaaagctg gtcttt 36

<210> 28

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 28

tgtgctctga ttaatgccag actcatgttt 30

<210> 29

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 29

tgtgccgtga acggaggaag ccaaggaaat ctcatcttt 39

<210> 30

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 30

tgtgcaatga gagaggata tgggtgtgct acaaacaagc tcatcttt 48

<210> 31

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 31

tgtgcttata ataacgggga tggaggaagc caaggaaatc tcatcttt 48

<210> 32

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 32

tgtgctacgg acgggggttc tgcaaggcaa ctgaccttt 39

<210> 33

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 33

tgtgctacgt tatataacac cgacaagctc atcttt 36

<210> 34

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha

<400> 34

tgtgcaatga gagggccctg gagaggtct tctggttctg caaggcaact gaccttt 57
 <210> 35
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha
 <400> 35
 tgtgtctctaa gtgtcagggg attcaaaacc tcctacgaca aggtgatatt t 51
 <210> 36
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR alpha
 <400> 36
 tgtgccgtga acatgatgga tagcagctat aaattgatct tc 42
 <210> 37
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 37
 tgtgccagta gtatgcaggg ggctatgagt ggcagttct tc 42
 <210> 38
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 38
 tgtgccagct caccggagtt tgcgagggcg ctggacaatc agccccagca tttt 54
 <210> 39
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 39
 tgtgccagca gctcgccac agggacgcag ggctacacct tc 42
 <210> 40
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 40
 tgtgccagca gtttcaccaa caccggggag ctgtttttt 39
 <210> 41
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 41
 tgtgccagta gtatgtggca ggggaacggc gagcagtact tc 42
 <210> 42
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 42
 tgtgccagca gcgtaggccc agggacaacc tctacaatg agcagttctt c 51
 <210> 43
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta
 <400> 43
 tgtgccacca gcagagaccg tagcacagat acgcagtatt tt 42
 <210> 44
 <211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 44

tgtgccagca gcttgggatt aagtggtac accttc 36

<210> 45

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 45

tgtgccagca gccagtcaat gaacactgaa gctttcttt 39

<210> 46

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 46

tgtgccagca gaacgggact ctcatagag cagtacttc 39

<210> 47

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 47

tgtgccagca gttttgggtc agcctacaat gagcagttct tc 42

<210> 48

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence of the CDR3 regions in TCR beta

<400> 48

tgtgccagca gtttcccgac agctcgatcg aacactgaag ctttcttt 48

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 49

His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Arg

1 5

<210> 50

<211> 12458

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lentiviral vector

<400> 50

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagtttagca 60

acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta 120

cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggcttgaca tggattggac gaaccactga 180

attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc 240

tctgggtaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta 300

agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact 360

ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaaatctc agcagtggcg 420

cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct 480

tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt 540

gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag 600

aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt 660

aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt 720

agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg 780

atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag 840

gatatagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag 900

taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg 960

acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag 1020

caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag 1080

ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcg tcaatgacgc 1140

tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga	1200
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
aatctctgga acagatttgg aatcacacga cctggatgga gtgggacaga gaaattaaca	1440
attacacaag cttataacac tccttaattg aagaatcgca aaaccagcaa gaaaagaatg	1500
aacaagaatt attggaatta gataaatggg caagtttgtg gaattggttt aacataacaa	1560
attggctgtg gtatataaaa ttattcataa tgatagtagg aggcttggtg ggtttaagaa	1620
tagtttttgc tgiactttct atagtgaata gagttaggca gggatattca ccattatcgt	1680
ttcagacca cctcccaacc ccgaggggac ccgacaggcc cgaaggaata gaagaagaag	1740
gtggagagag agacagagac agatccattc gattagtga cggatctcga cggtatcgg	1800
taacttttaa aagaaaaggg gggattgggg ggtacagtgc aggggaaaga atagtagaca	1860
taatagcaac agacatacaa actaaagaat tacaaaaaca aattacaaaa ttcaaaattt	1920
tatcgatact agtattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac	1980
atctacgtat tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggg tttggcagta catcaatggg	2040
cgtggatagc ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc acccattga cgtcaatggg	2100
agtttgtttt ggcacaaaa tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccc	2160
ttgacgcaaa tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggttt atataagcag agctcgttta	2220
gtgaaccgtc agatgcctg gagacgcat ccacgtgtt ttgacctca tagaagattc	2280
tagagccacc atggaacata gcacgtttct ctctggcctg gtactggcta cccttctctc	2340
gcaagtgagc cccttcaaga tacctataga ggaacttgag gacagagtgt ttgtgaattg	2400
caataccagc atcacatggg tagagggaac ggtgggaaca ctgctctcag acattacaag	2460
actggacctg ggaaaacgca tcctggacct acgaggaata tataggtgta atgggacaga	2520
tatatacaag gacaaagaat ctacctgca agttcattat cgaatgtgcc agagctgtgt	2580
ggagctggat ccagccaccg tggctggcat cattgtcact gatgtcattg ccactctgct	2640
ccttgctttg ggagtcttct gctttgctgg acatgagact ggaaggctgt ctggggctgc	2700
cgacacacaa gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag cccctccgag atcgagatga	2760
tgctcagtac agccacctg gaggaacctg ggctcggaac aagggtccg gcggaagcgg	2820
agagggcagg ggaatctctc ttacttgtgg cgacgtggag gagaaccccg gccccatgga	2880
acagggaag ggcctggtct tcctcatcct ggctatcatt cttcttcaag gtactttggc	2940
ccagtcaatc aaaggaaacc acttgggtta ggtgtatgac tatcaagaag atggttcgg	3000

acttctgact tgtgatgcag aagccaaaaa taccacatgg tttaaagatg ggaagatgat	3060
cggcttccta actgaagata aaaaaaaatg gaatctggga agtaatgcca aggaccctcg	3120
agggatgtat cagtgtaaag gatcacagaa caagtcaaaa ccaactccaag tgtattacag	3180
aatgtgtcag aactgcattg aactaaatgc agccaccata tctggctttc tctttgctga	3240
aatcgtcagc attttcgtcc ttgctgttgg ggtctacttc attgctggac aggatggagt	3300
tcgccagtgc agagcttcag acaagcagac tctgttgccc aatgaccagc tctaccagcc	3360
cctcaaggat cgagaagatg accagtlacag ccaccttcaa ggaaccaggt tgaggaggaa	3420
tgggtccggc ggaagcggag ccaccaactt cagcctgctg aagcaggccg gcgacgtgga	3480
ggagaacccc ggccccatgc agtcgggcac tcactggaga gttctgggcc tctgcctctt	3540
atcagttggc gtttgggggc aagatggtaa tgaagaaatg ggtggtatta cacagacacc	3600
atataaagtc tccatctctg gaaccacagt aatattgaca tgcctcaggt atcctggatc	3660
tgaataacta tggcaacaca atgataaaaa cataggcggg gatgaggatg ataaaaacat	3720
aggcagtgat gaggatcacc tgtcactgaa ggaattttca gaattggagc aaagtggta	3780
ttatgtctgc taccacagag gaagcaaac agaagatgcg aactttttac tctacctgag	3840
ggcaagagtg tgtgagaact gcatggagat ggatgtgatg tcggtggcca caattgtcat	3900
agtggacatc tgcactctg ggggcttgct gctgctggtt tactactgga gcaagaatag	3960
aaaggccaag gccaaagcctg tgacacgagg agcgggtgct ggccggcaggc aaaggggaca	4020
aaacaaggag agggccaccac ctgttcccaa ccagactat gagcccatcc ggaaggcca	4080
gcgggacctg tattctggcc tgaatcagag acgcatcgga tccgggtccg gcggaagcgg	4140
acagtgtact aattatgctc tcttgaaatt ggctggagat gttgagagca accctggacc	4200
tatgaagtgg aaggcgcttt tcaccgcggc catcctgcag gcacagttgc cgattacaga	4260
ggcacagagc tttggcctgc tggatcccaa actctgctac ctgctggatg gaatcctctt	4320
catctatggt gtcattctca ctgccttggt cctgaggagt aagaggagca ggggagggtca	4380
cagtgactac atgaacatga ctecccgccg ccccgggccc acccgcaagc attaccagcc	4440
ctatgcccc aacgcgact tcgcagccta tcgctccaaa cggggcagaa agaaactcct	4500
gtatatattc aaacaacat ttatgagacc agtacaact actcaagagg aagatggctg	4560
tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgcgggtga agttcagcag	4620
aagcgccgac gccctgcct accagcaggg ccagaatcag ctgtacaacg agctgaacct	4680
gggcagaagg gaagagtlacg acgtcctgga taagcggaga ggccgggacc ctgagatggg	4740

cggcaagcct cggcgggaaga acccccagga aggcctgtat aacgaactgc agaaagacaa	4800
gatggccgag gcctacagcg agatcgcat gaaggcgag cggaggcggg gcaaggccca	4860
cgacggcctg tatcagggcc tgtccaccgc caccaaggat acctacgacg ccctgcacat	4920
gcaggccctg cccctcgct aacctcttc cctcccccc ccctaacgtt actggccgaa	4980
gccgcttgga ataaggccgg tgtgcgtttg tctatatgtt attttccacc atattgccgt	5040
cttttggcaa tgtgagggcc cggaaacctg gccctgtctt cttgacgagc attcctaggg	5100
gtctttcccc tctcgcaaa ggaatgcaag gtctgttgaa tgtcgtgaag gaagcagttc	5160
ctctggaagc ttcttgaaga caaacaacgt ctgtagcgac cctttgcagg cagcggaacc	5220
ccccacctgg cgacagggtgc ctctcgggcc aaaagccacg tgtataagat acacctgcaa	5280
aggcggcaca accccagtgc cacgttgtga gttggatagt tgtggaaaga gtcaaatggc	5340
tctctcaag cgtattcaac aaggggctga aggatgcccc gaaggtaccc cattgtatgg	5400
gatctgatct ggggcctcgg tacacatgct ttacatgtgt ttagtcgagg ttaaaaaaac	5460
gtctaggccc ccgaaccac ggggacgtgg ttttccttg aaaaacacga tgataatatg	5520
gccacaacca tggagaccct cttgggcctg ctatctctt ggctgcagct gcaatgggtg	5580
agcagcaaac aggaggtgac gcagattcct gcagctctga gtgtcccaga aggagaaaac	5640
ttggttctca actgcagttt cactgatagc gctatttaca acctccagtg gtttaggcag	5700
gacctggga aaggtctcac atctctgttg ctatttcagt caagtcagag agagcaaaaca	5760
agtggaagac ttaatgcctc gctggataaa tcatcaggac gtagtacttt atacattgca	5820
gcttctcagc ctggtgactc agccacctac ctctgtgctt ttataggcca tggaggaagc	5880
caaggaaatc tcatctttgg aagaggaacc agccttatg ttcatccgta tatccagaac	5940
cctgaccctg ccgtgtacca gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc tgtctgccta	6000
ttcacgatt ttgattctca aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga tgtgtatctc	6060
acagacaaaa ctgtgctaga catgaggctc atggacttca agagcaacag tgctgtggcc	6120
tggagcaaca aatctgactt tgcatgtgca aacgccttca acaacagcat tattccagaa	6180
gacaccttct tccccagccc agaaagtcc tgtgatgtca agctggctga gaaaagcttt	6240
gaaacagata cgaacctaaa ctttcaaac ctgtcagtga ttgggttccg aatcctctc	6300
ctgaaagtgg cgggttttaa tctgtcatg acgtgcggc tgtgttcag cggaagcgga	6360
gtgaaacaga ctttgaattt tgaccttctc aagtggcgg gagacgtgga gtccaacca	6420
gggcccatga gcatcgccct cctgtgctgt gcagccttgt ctctcctgtg ggcaggtcca	6480
gtgaatgctg gtgtactca gaccccaaaa ttccaggtcc tgaagacagg acagagcatg	6540
acactgcagt gtgcccagga tatgaacct gaatacatgt cctggtatcg acaagacca	6600

ggcatggggc tgaggctgat tcattactca gttggtgctg gtatcactga ccaaggagaa	6660
gtccccaatg gctacaatgt ctccagatca accacagagg atttcccgct caggctgctg	6720
tcggctgctc cctcccagac atctgtgtac ttctgtgcca gcagtatgca gggggctatg	6780
agtgagcagt tctttggccc aggcacccgg ctgacagtgc tcgaggacct gaaaaacgtg	6840
ttcccacccg aggtcgtgtg gtttgagcca tcagaagcag agatctccca caccctaaag	6900
gccacactgg tatgcctggc cacaggcttc taccgacac acgtggagct gagctggtgg	6960
gtgaatggga aggaggtgca cagtgggggtc agcacagacc cgcagcccct caaggagcag	7020
cccgccctca atgactccag ataactgctg agcagccgcc tgagggtctc ggccaccttc	7080
tggcagaacc cccgcaacca ctcccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcgagaaat	7140
gacgagtgga cccaggatag ggccaaacc gtcaccaga tcgtcagcgc cgaggcctgg	7200
ggtagagcag actgtggctt cacctccgag tcttaccagc aaggggtcct gtctgccacc	7260
atcctctatg agatcttctg aggggaaggcc accttgtatg ccgtgctggt cagtgcctc	7320
gtgctgatgg ccatggtcaa gagaaaggat tccagaggct aggaattcga atttaaatcg	7380
gatccgggc cgcgaaggat ctgcgacgc tccggtgccc gtcagtgggc agagcgaca	7440
tcgcccacag tccccagaaa gttgggggga ggggtcggca attgaacggg tgcctagaga	7500
aggtggcgcg gggtaaaactg ggaaagtgat gtcgtgtact ggctccgct ttttcccgag	7560
ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta gtcgccgtga acgttctttt tcgcaacggg	7620
tttgccgcca gaacacagct gaagcttcga ggggctcgca tctctcttc acgcgccgc	7680
cgccctacct gaggccgcca tccacgccg ttgagtcgcg ttctgccgc tcccgcctgt	7740
ggtgcctcct gaactgcgtc cgccgtctag gtaagtttaa agctcaggtc gagaccgggc	7800
ctttgtccgg cgtctccttg gacctacct agactcagcc ggctctccac gctttgctg	7860
acctgcttg ctcaactcta cgtctttgtt tcgttttctg ttctgcgcg ttacagatec	7920
aagctgtgac cggcgccctac gctagatgac cgagtacaag cccacggtgc gcctcgccac	7980
ccgcgacgac gtccccaggg ccgtacgcac cctcgccgcc gcgttcgcg actacccgc	8040
cacgcgccac accgtcgatc cggaccgcca catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaact	8100
cttctctacg cgcgtcgggc tcgacatcgg caaggtgtgg gtcgcggacg acggcgccgc	8160
ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt cgaagcgggg gcggtgttcg ccgagatcgg	8220
ccgcgcatg gccgagttga gcggttcccg gctggccgcg cagcaacaga tggaagccct	8280
cctggcgccg caccggccca aggagccgc gtggttcttg gccaccgtcg gcgtctcgcc	8340
cgaccaccag ggcaagggtc tgggcagcgc cgtcgtgctc cccggagtgg aggcggccga	8400
gcgcgccggg gtgcccgcct tctggagac ctccgcgcc cgcaacctcc ctttctacga	8460

gcggctcggc ttcaccgtca ccgccgacgt cgagggtgccc gaaggaccgc gcacctggtg	8520
catgaccgc aagccccgtg cctgagtcga caatcaacct ctggattaca aaatttgtga	8580
aagattgact ggtattctta actatgttgc tctttttacg ctatgtggat acgtgcttt	8640
aatgcctttg tatcatgcta ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgtataa	8700
atcctggttg ctgtctcttt atgaggagt gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt	8760
gtgactgtg tttgctgacg caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct	8820
cctttccggg actttcgctt tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg	8880
ccttgcccgc tgcctggacag gggctcggct gttgggcact gacaattccg tgggtgttgt	8940
cggggaaatc atcgctcttt ccttggtgctc tcgcctgtgt tgccacctgg attctgcgcg	9000
ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc tcaatccagc ggaccttct tcccgcggcc	9060
tgtctccggc tctcggcct ctcccgctc ttgccttcg cctcagacg agtcggatct	9120
ccctttgggc cgcctccccg cctggtacct ttaagaccaa tgacttaca ggcagctgta	9180
gatcttagcc actttttaaa agaaaagggg ggactggaag ggctaattca ctcccaacga	9240
agataagatc tgccttttgc ttgtactggg tctctctggt tagaccaaat cggagcctgg	9300
gagctctctg gctaactagg gaaccactg cttagcctc aataaagctt gccttgagtg	9360
cttcaagtag tgtgtgcccg tctgttgtgt gactctggta actagagatc cctcagacct	9420
ttttagtcag tgtggaaaat ctctagcagt agtagttcat gtcactttat tattcagtat	9480
ttataacttg caaagaaatg aatatcagag agtgagagga acttgtttat tgcagcttat	9540
aatggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt tttttcactg	9600
cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt atcatgtctg gctctagcta	9660
tcccgccctt aactccgcc agttccgcc attctccgcc ccatggctga ctaatttttt	9720
ttatttatgc agaggccgag gccgcctcgg cctctgagct attccagaag tagtgaggag	9780
gcttttttgg aggcctagac ttttcagag acggcccaaa ttcglaatca tggcatagc	9840
tgtttcctgt gtgaaattgt tatecgtca caattccaca caacatacga gccggaagca	9900
taaagtgtaa agcctggggg gcctaagag tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct	9960
cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcgccaac	10020
gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttcgc ttcctcgtc actgactcgc	10080
tgcgctcggg cggtcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggg	10140
tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg	10200

ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggtccgc cccctgacg 10260
agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat 10320
accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgtta 10380
ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgt 10440
gtaggatctt cagttcggcg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc 10500
ccgttcagcc cgaccgtgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa 10560
gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg 10620

taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact agaaggacag 10680
tatttggat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt gtagctctt 10740
gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta 10800
cgcgagaaa aaaaggatct caagaagatc cttgatctt tctacgggg tctgacgtc 10860
agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggcatgag attatcaaaa aggatcttca 10920
cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa 10980
cttggcttga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat 11040

ttcgttcac catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata cgggagggt 11100
taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagacc acgctcacc gctccagatt 11160
tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgag aagtggctct gcaactttat 11220
ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta 11280
atagtttgcg caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg 11340
glatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga tccccatgt 11400
tgtgcaaaaa agcgggttagc tccttcggtc ctccgatcgt tgtcagaagt aagttggccg 11460

cagtgttate actcatggtt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc atgcatccg 11520
taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc 11580
ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgctca tacgggataa taccgcgcca catagcagaa 11640
ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt ctccggggcg aaaactctca aggatcttac 11700
cgctgttag atccagttcg atgtaacca ctctgcacc caactgatct tcagcatctt 11760
ttactttcac cagcgtttct gggtagcaaa aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaagg 11820
gaataagggc gacacggaaa tggtgaatac tcatactctt ctttttcaa tattattgaa 11880

gcatttatca ggtttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata 11940
aacaatatgg ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc acctgacgtc taagaaacca 12000
ttattatcat gacattaacc tataaaaaata ggcgtatcac gaggcccttt cgtctcgcgc 12060

gtttcgggtga tgacgggtgaa aacctctgac acatgcagct cccggagacg gtcacagctt 12120

gtctgtaagc ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggg cgcgtcagcg ggtgttggcg 12180

ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcggcat cagagcagat tgtactgaga gtgcaccata 12240

tgcgggtgtga aataccgcac agatgcgtaa ggagaaaata ccgcatcagg cgccattcgc 12300

cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc gatcgggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc 12360

agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc 12420

agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg ccaagctg 12458

<210> 51

<211> 810

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> T cell receptor alpha TRAV23 DV6

<400> 51

atggagacc tcttgggcct gcttatectt tggtgcagc tgcaatgggt gagcagcaaa 60

caggaggtga cgcagattcc tgcagctctg agtgtccag aaggagaaaa ctgggttctc 120

aactgcagtt tcaatgatag cgctatttac aacctccagt ggtttaggca ggacctggg 180

aaaggtctca catctctgtt gcttattcag tcaagtcaga gagagcaaac aagtggaaga 240

cttaatgcct cgctggataa atcatcagga cgtagtactt tatacattgc agcttctcag 300

cctggtgact cagccaccta cctctgtgca gcaacaggaa cctacaaata catctttgga 360

agaggaacca gccttattgt tcatccgtat atccagaacc ctgacctgc cgtgtaccag 420

ctgagagact ctaaaccag tgacaagtct gtctgcctat tcaccgattt tgattctcaa 480

acaaatgtgt cacaagtaa ggattctgat gtgtatatca cagacaaaac tgtgctagac 540

atgaggtcta tggacttcaa gagcaacagt gctgtggcct ggagcaacaa atctgacttt 600

gcatgtgcaa acgcttcaa caacagcatt attccagaag acaccttctt cccagccca 660

gaaagtccct gtgatgtcaa gctggtcgag aaaagctttg aaacagatac gaacctaaac 720

tttcaaaacc tgcagtgat tgggttccga atcctcctcc tgaaagtggc cgggtttaat 780

ctgctcatga cgctgcggct gtggtccagc 810

<210> 52

<211> 948

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> T cell receptor beta TRBV18

<400> 52

atgagcatcg gctcctgtg ctgtgcagcc ttgtctctcc tgtgggcagg tccagtgaat	60
gctgggtgtca ctcagacccc aaaattccag gtctgaaga caggacagag catgacactg	120
cagtgtgccc aggatatgaa ccatgaatac atgtcctggg atcgacaaga cccaggcatg	180
gggctgagge tgattcatta ctcagttggg gctgggtatca ctgaccaagg agaagtcctc	240
aatggctaca atgtctccag atcaaccaca gaggatttcc cgctcaggct gctgtcggct	300
gctccctccc agacatctgt gtacttctgt gccagctcac cggagtttgc gagggcgctg	360
gacaatcagc cccagcatit tggcccaggc acccggtga cagtgtctga ggacctgaaa	420
aacgtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc	480
caaaaggcca cactggtatg cctggccaca ggcttctacc cggaccacgt ggagctgagc	540
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgca gcccctcaag	600
gagcagcccc cctcaatga ctccagatac tgcttgagca gccgcctgag ggtctcggcc	660
accttctggc agaaccctcg caaccattc cgtgtcaag tccagttcta cgggctctcg	720
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccgtca cccagatcgt cagcgccgag	780
gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccagatctt accagcaagg ggtcctgtct	840
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt	900
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag	948

<210> 53

<211> 822

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> T cell receptor alpha TRAV24

<400> 53

atggagacce tcttgggcct gcttatcctt tggctgcagc tgcaatgggt gagcagcaaa	60
caggaggtga cgcagattcc tgcagctctg agtgtcccag aaggagaaaa ctgggttctc	120
aactgcagtt tcaactgatg cgctatttac aacctccagt ggtttaggca ggacctggg	180
aaaggtctca catctctgtt gcttattcag tcaagtcaga gagagcaaac aagtggaaga	240
cttaatgcct cgctggataa atcatcagga cgtagtactt tatacattgc agcttctcag	300
cctgggtgact cagccaccta cctctgtgcc tttataggcc atggaggaag ccaaggaaat	360
ctcatctttg gaagaggaac cagccttatt gtatcatcgt atatccagaa cctgacctt	420

gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct attcaccgat 480
 ttgtattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa 540
 actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc ctggagcaac 600

aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga agacaccttc 660
 ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctggtcg agaaaagctt tgaacagat 720
 acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct cctgaaagtg 780
 gccgggttta atctgctcat gacgtgcgg ctgtgggtcca gc 822

<210> 54
 <211> 936
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> T cell receptor beta TRBV19
 <400> 54

atgagcatcg gcctcctgtg ctgtgcagcc ttgtctctcc tgtgggcagg tccagtgaat 60

gctgggtgtca ctcagacccc aaaattccag gtctgaaga caggacagag catgacactg 120
 cagtgtgccc aggatatgaa ccatgaatac atgtcctggg atcgacaaga cccaggcatg 180
 gggctgagge tgattcatta ctcagttggt gctgggtatca ctgaccaagg agaagtcgcc 240
 aatggctaca atgtctccag atcaaccaca gaggatttcc cgctcaggct gctgtcggct 300
 gctccctccc agacatctgt gtacttctgt gccagtagta tgcagggggc tatgagttag 360
 cagttcttcg gccaggcac ccggctgaca gtgctcgagg acctgaaaaa cgtgttccca 420
 cccgaggtcg ctgtgtttga gccatcagaa gcagagatct cccacacca aaaggccaca 480

ctggtatgcc tggccacagg ctctaccacc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
 gggaaggagg tgcacagtgg ggtcagcaca gaccgcagc ccctcaagga gcagcccgcc 600
 ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgctgaggg tctcgccac ctctggcag 660
 aacccccga accacttccg ctgtcaagtc cagttctacg ggctctcgga gaatgacgag 720
 tggaccagg atagggccaa acccgtcacc cagatcgtca gcgccgaggc ctggggtaga 780
 gcagactgtg gtttcacctc cgagctttac cagcaagggg tctgtctgc caccatctc 840
 tatgagatct tgetagggaa ggccaccttg tatgccgtgc tggtcagtgc cctcgtgctg 900

atggccatgg tcaagagaaa ggattccaga ggctag 936

<210> 55
 <211> 270

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T cell receptor alpha TRAV23 DV6

<400> 55

Met Glu Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Asn Leu Gln Trp Phe Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr

50 55 60

Ser Leu Leu Leu Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Ala Thr

100 105 110

Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Arg Gly Thr Ser Leu Ile Val His

115 120 125

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

130 135 140

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln

145 150 155 160

Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys

165 170 175

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

180 185 190

Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn

195 200 205

Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys

210 215 220

Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
 225 230 235 240
 Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
 245 250 255

Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 260 265 270

<210> 56

<211> 315

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T cell receptor beta TRBV18

<400> 56

Met Ser Ile Gly Leu Leu Cys Cys Ala Ala Leu Ser Leu Leu Trp Ala
 1 5 10 15

Gly Pro Val Asn Ala Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys Phe Gln Val Leu
 20 25 30

Lys Thr Gly Gln Ser Met Thr Leu Gln Cys Ala Gln Asp Met Asn His
 35 40 45

Glu Tyr Met Ser Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Met Gly Leu Arg Leu
 50 55 60

Ile His Tyr Ser Val Gly Ala Gly Ile Thr Asp Gln Gly Glu Val Pro
 65 70 75 80

Asn Gly Tyr Asn Val Ser Arg Ser Thr Thr Glu Asp Phe Pro Leu Arg
 85 90 95

Leu Leu Ser Ala Ala Pro Ser Gln Thr Ser Val Tyr Phe Cys Ala Ser
 100 105 110

Ser Pro Glu Phe Ala Arg Ala Leu Asp Asn Gln Pro Gln His Phe Gly
 115 120 125

Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro
 130 135 140

Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr
 145 150 155 160

Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His
165 170 175

Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val
180 185 190

Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser
195 200 205

Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln
210 215 220

Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser
225 230 235 240

Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile
245 250 255

Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu
260 265 270

Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu
275 280 285

Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu
290 295 300

Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly
305 310 315

<210> 57
<211> 274
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> T cell receptor alpha TRAV24
<400> 57

Met Glu Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp
1 5 10 15

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

Pro Glu Gly Glu Asn Leu Val Leu Asn Cys Ser Phe Thr Asp Ser Ala
35 40 45

Ile Tyr Asn Leu Gln Trp Phe Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr
50 55 60

Ser Leu Leu Leu Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg
65 70 75 80

Leu Asn Ala Ser Leu Asp Lys Ser Ser Gly Arg Ser Thr Leu Tyr Ile
85 90 95

Ala Ala Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Phe Ile
100 105 110

Gly His Gly Gly Ser Gln Gly Asn Leu Ile Phe Gly Arg Gly Thr Ser
115 120 125

Leu Ile Val His Pro Tyr Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln
130 135 140

Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp
145 150 155 160

Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr
165 170 175

Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser
180 185 190

Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn
195 200 205

Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro
210 215 220

Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp
225 230 235 240

Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu
245 250 255

Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp
260 265 270

Ser Ser

<210> 58

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T cell receptor beta TRBV19

<400> 58

Met Ser Ile Gly Leu Leu Cys Cys Ala Ala Leu Ser Leu Leu Trp Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Thr Gly Gln Ser Met Thr Leu Gln Cys Ala Gln Asp Met Asn His

35 40 45

Glu Tyr Met Ser Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Met Gly Leu Arg Leu

50 55 60

Ile His Tyr Ser Val Gly Ala Gly Ile Thr Asp Gln Gly Glu Val Pro

65 70 75 80

Asn Gly Tyr Asn Val Ser Arg Ser Thr Thr Glu Asp Phe Pro Leu Arg

85 90 95

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

100 105 110

Ser Met Gln Gly Ala Met Ser Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg

115 120 125

Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala

130 135 140

Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr

145 150 155 160

Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser

165 170 175

Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro

180 185 190

Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu

195 200 205

Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn

210	215	220	
His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu			
225	230	235	240
Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu			
	245	250	255
Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln			
	260	265	270
Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala			
	275	280	285
Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val			
	290	295	300
Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly			
305	310		