



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0110233
(43) 공개일자 2022년08월05일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/74 (2006.01) A61P 37/02 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/70539 (2013.01)
A61P 37/02 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7021577
- (22) 출원일자(국제) 2020년12월02일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년06월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/062801
- (87) 국제공개번호 WO 2021/113297
국제공개일자 2021년06월10일
- (30) 우선권주장
62/942,344 2019년12월02일 미국(US)

- (71) 출원인
리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드
미합중국 뉴욕주 10591 타리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777
- (72) 발명자
맥도날드 더글라스
미국 뉴욕 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내
버클러 데이비드
미국 뉴욕 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내
- (74) 대리인
특허법인와이에스장

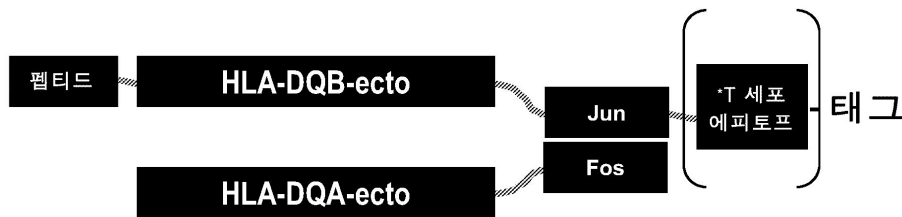
전체 청구항 수 : 총 61 항

(54) 발명의 명칭 **펩티드-MHC II 단백질 작제물 및 그의 용도**

(57) 요약

MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 조성물이 본원에서 제공된다. 일부 조성물에서, MHC 리간드 펩티드는 펩티드 링커에 의해 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착되고, MHC 리간드 펩티드 또는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함하고, MHC 클래스 II α 사슬 또는 그의 일부 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 그의 일부는 제2 시스테인을 포함하고, 그리고 제1 시스테인 및 제2 시스테인, MHC 리간드 펩티드가 MHC 클래스 II α 사슬 또는 그의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 그의 부분에 의해 형성된 펩티드-결합 홈에서 결합되도록 디설피이드 결합을 형성한다. 또한, 이러한 조성물을 코딩하는 핵산 및 대상체에서 면역 반응을 유도하기 위해 이러한 조성물을 사용하는 방법이 제공된다.

대표도



* 추가 T 세포 에피토프가
첨가될 수 있다

(52) CPC특허분류

C07K 16/2833 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분을 포함하는 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 조성물로서,

상기 MHC 리간드 펩티드는 펩티드 링커에 의해 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착되고,

상기 MHC 리간드 펩티드 또는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함하고 MHC 클래스 II 분자는 제2 시스테인을 포함하고, 그리고

상기 제1 시스테인 및 제2 시스테인은 디설파이드 결합을 형성하여, MHC 리간드 펩티드는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분에 의해 형성된 펩티드-결합 홈에서 결합되는, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 $\alpha 1$ 도메인을 포함하고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 $\beta 1$ 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II α 사슬 세포의 도메인을 포함하고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서,

(1) 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 $\alpha 1$ 도메인, $\alpha 2$ 도메인, 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하고; 그리고

(2) 상기 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 $\beta 1$ 도메인, $\beta 2$ 도메인, 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 막 고정된 것인, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 가용성인, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

(1) 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 $\alpha 1$ 도메인 및 $\alpha 2$ 도메인을 포함하지만, 막관통 도메인 또는 세포질 도메인을 포함하지 않고; 그리고

(2) 상기 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 $\beta 1$ 도메인 및 $\beta 2$ 도메인을 포함하지만, 막관통 도메인 또는 세포질 도메인을 포함하지 않는, 조성물.

청구항 8

제6항 또는 제7항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의

부분은 Jun-Fos 지퍼, 정전기 공학, 늑-인투-홀, 면역글로불린 스캐폴드, 면역글로불린 Fc 영역, 또는 링커에 의해 연결되는, 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프 및 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프를 포함하는 Jun-Fos 지퍼에 의해 연결되고, 그리고

상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되거나, 또는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되는, 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분의 C-말단은 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 C-말단은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되거나, 또는

상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분의 C-말단은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 C-말단은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되는, 조성물.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC-Jun 링커에 의해 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC-Fos 링커에 의한 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되거나, 또는

상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC-Fos 링커에 의해 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC-Jun 링커에 의해 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되는, 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 MHC-Jun 링커 및 MHC-Fos 링커는 각각 서열번호: 1에 제시된 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 10 내지 약 18개의 아미노산, 약 10 내지 약 15개의 아미노산, 또는 약 10 내지 약 12개의 아미노산이거나, 또는

상기 MHC 리간드 펩티드는 잔기 P-1 내지 P9 또는 잔기 P-3 내지 P9를 포함하는, 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드는 항원성 MHC 리간드 펩티드인, 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드는 T 세포-매개 질환과 연관된 것인, 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 가요성 링커인, 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드

링커는 하나 이상의 가요성 아미노산 및 하나 이상의 극성 아미노산을 포함하는, 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 임의의 하전된 아미노산을 포함하지 않는, 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 절단 부위를 포함하는, 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 절단 부위는 담배 식각 바이러스(TEV) 프로테아제 절단 부위인, 조성물.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 비면역원성인, 조성물.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결되는, 조성물.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결되는, 조성물.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 그 길이가 적어도 약 9개의 아미노산인, 조성물.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 그 길이가 약 9 내지 약 50개의 아미노산인, 조성물.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 서열번호: 4에 제시된 서열의 2 내지 4개의 반복부를 포함하는, 조성물.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함하는, 조성물.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 제1 시스테인은 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커 내의 유일한 시스테인인, 조성물.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 제1 시스테인은 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커의 처음 4개의 아미노산에 있는 것인, 조성물.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 서열번호: 4에 제시된 서열의 2 내지 4개의 반복부를 포함하고, 반복부 중 하나 내의 하나의 아미노산은 시스테인으로 돌연변이되는, 조성물.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 서열번호: 21에 제시된 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 32

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드는 제1 시스테인을 포함하는, 조성물.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 제1 시스테인은 조성물에 의해 형성된 에피토프로부터 멀리 떨어져 있는, 조성물.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에 있는 것인, 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결되는, 조성물.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 시스테인은 조성물 내의 MHC 클래스 II 분자에 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하지 않는 것인, 조성물.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 제2 시스테인은 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자 내의 비-시스테인 아미노산 대신에 존재하는, 조성물.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에 존재하고, 그리고

상기 제2 시스테인은, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 서열의 101번 위치에 상응하는 위치에 있는, 조성물.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II 분자는 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인이 결여된 것인, 조성물.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인은 조성물 내의 MHC 클래스 II 분자에서 알라닌 또는 글루타민으로 대체된 것인, 조성물.

청구항 41

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬에 존재하는 시스테인이 결여된 것인, 조성물.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬에 존재하는 시스테인은 조성물 내 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에서 알라닌 또는 글루타민으로 대체된 것인, 조성물.

청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬 내의 시스테인은, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 서열 내의 70번 위치에 상응하는 위치에 있는, 조성물.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 면역자극성 분자를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역자극성 분자는 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV)로부터의 팬-DR-결합 에피토프 (PADRE) 및/또는 펩티드를 포함하는, 조성물.

청구항 46

제44항 또는 제45항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역자극성 분자는 MHC 클래스 II 분자에 직접적으로 또는 간접적으로 공유 연결되어 있는 것인, 조성물.

청구항 47

제44항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역자극성 분자는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및/또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분에 직접적으로 또는 간접적으로 공유 연결되어 있는 것인, 조성물.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II 분자는 인간 MHC 클래스 II 분자인, 조성물.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 인간 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ, HLA-DR 및 HLA-DP로 구성된 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 인간 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ2 분자인, 조성물.

청구항 51

제49항에 있어서, 상기 인간 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DR2 분자인, 조성물.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II α 사슬 세포의 도메인을 포함하고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II β 사슬 세포 외 도메인을 포함하고,

상기 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함하고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결된 약 9 내지 약 50개의 아미노산 길이의 가요성 링커이고,

상기 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에 있고, 조성물 내의 MHC 클래스 II 분자에 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하지 않고, 그리고

상기 MHC 클래스 II 분자는 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인이 결여되어 있는,

조성물.

청구항 53

제52항에 있어서, 조성물은 가용성이고,

상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 $\alpha 1$ 도메인 및 $\alpha 2$ 도메인을 포함하지만, 막관통 도메인 또는 세포질 도메인을 포함하지 않고,

상기 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 $\beta 1$ 도메인 및 $\beta 2$ 도메인을 포함하지만, 막관통 도메인 또는 세포질 도메인을 포함하지 않고, 그리고

상기 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프 및 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프를 포함하는 Jun-Fos 지퍼에 의해 연결되는, 조성물.

청구항 54

제52항 또는 제53항에 있어서, 상기 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 서열의 101번 위치에 상응하는 위치에 있고, 그리고

상기 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자 내의 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 서열 내의 70번 위치에 상응하는 위치에 있는, 조성물.

청구항 55

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ, HLA-DP, 및 HLA-DR로 구성된 군으로부터 선택되는 인간 MHC 클래스 II 분자인, 조성물.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 인간 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ인, 조성물.

청구항 57

제1항 내지 제56항 중 어느 한 항의 조성물을 코딩하는, 핵산.

청구항 58

대상체에서 면역 반응을 유발하는 방법으로서, 제1항 내지 제56항 중 어느 한 항의 조성물 또는 조성물을 코딩하는 핵산의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 59

MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 항원성 조성물에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질을 생성하는 방법으로서,

(a) 제1항 내지 제56항 중 어느 한 항의 조성물 또는 조성물을 코딩하는 핵산으로 비-인간 동물을 면역화하는 단계; 및

(b) 비-인간 동물이 조성물에 대한 면역 반응을 일으키기에 충분한 조건에서 비-인간 동물을 유지하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 60

항원-결합 단백질을 생성하는 방법으로서,

(a) 제1항 내지 제56항 중 어느 한 항의 조성물 또는 조성물을 코딩하는 핵산으로 비-인간 동물을 면역화하는 단계; 및

(b) 비-인간 동물이 조성물에 대한 면역 반응을 일으키기에 충분한 조건에서 비-인간 동물을 유지하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 항원-결합 단백질은 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 항원성 조성물에 특이적으로 결합하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원의 교차 참조**

[0002] 본원은 2019년 12월 2일에 출원된 미국 출원 번호 62/942,344의 이익을 주장하며, 이는 모든 목적을 위해 전체가 참조로 본원에 포함된다.

[0003] **서열 목록에 대한 참조**

[0004] **BFS 웹을 통해 텍스트 파일로 제출**

[0005] 파일 696193SEQLIST.txt에 작성된 서열 목록은 50.9 킬로바이트이며 2020년 12월 11일에 생성되었으며 본원에 참고로 포함된다.

배경 기술

[0006] 가용성 펩티드-MHC I 단백질 작제물은 이전에 기재되었다. 이러한 작제물은 설치류(예를 들어, VELOCIMMUNE[®] 설치류)를 면역화하여 항-펩티드인-홈 항체를 생성하는 단계를 포함하여 다양한 응용 분야에 사용될 수 있다. 그러나, 더 나은 가용성 펩티드-MHC II 단백질 작제물이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0007] **요약**

[0008] MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 조성물, 이러한 조성물을 코딩하는 핵산, 및 이러한 조성물을 사용하여 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법이 제공된다.

[0009] 일 양태에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분을 포함하는 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드는 펩티드 링커에 의해 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드 또는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함하고 MHC 클래스 II 분자는 제2 시스테인을 포함한다. 일부 이러한 조성물에서, 제1 시스테인 및 제2 시스테인은 디설파이드 결합을 형성하여, MHC 리간드 펩타이드는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분에 의해 형성된 펩타이드-결합 홈에서 결합된다.

[0010] 일부 이러한 조성물에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 α1 도메인을 포함하고, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 β1 도메인을 포함한다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II α 사슬 세포외 도메인을 포함하고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II β 사슬 세포외 도메인을 포함한다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 α1 도메인, α2 도메인, 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함한다. 선택적으로, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 β 1 도메인, β2 도메인, 막관통 도메인, 및 세포질 도메인을 포함한다.

[0011] 일부 이러한 조성물에서, 조성물은 막-고정된다. 일부 이러한 조성물에서, 조성물은 가용성이다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 α1 도메인 및 α2 도메인을 포함하지만, 막관통 도메인 또는 세포질 도메인을 포함하지 않는다. 선택적으로, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 β1 도메인 및 β2 도메인을 포함하지만, 막관통 도메인 또는 세포질 도메인을 포함하지 않는다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는

이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Jun-Fos 지퍼, 정전기 공학, knob-into-hole), 면역글로불린 스캐폴드, 면역글로불린 Fc 영역, 또는 링커에 의해 연결된다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프 및 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프를 포함하는 Jun-Fos 지퍼에 의해 연결되고, 그리고 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되거나, 또는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결된다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분의 C-말단은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결된다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분의 C-말단은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 C-말단은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결된다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC-Jun 링커에 의해 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC-Fos 링커에 의해 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결된다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC-Fos 링커에 의해 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결되고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC-Jun 링커에 의해 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결된다. 선택적으로, MHC-Jun 링커 및 MHC-Fos 링커는 각각 서열번호: 1에 제시된 서열을 포함한다.

[0012] 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 10 내지 약 18개의 아미노산, 약 10 내지 약 15개의 아미노산, 또는 약 10 내지 약 12개의 아미노산이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 10 내지 18개의 아미노산, 10 내지 15개의 아미노산, 또는 10 내지 12개의 아미노산이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드는 잔기 P-1 내지 P9 또는 잔기 P-3 내지 P9를 포함한다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드는 항원성 MHC 리간드 펩티드이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드는 T 세포-매개 질환과 연관된다.

[0013] 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 가요성 링커이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 하나 이상의 가요성 아미노산 및 하나 이상의 극성 아미노산을 포함한다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 임의의 하전된 아미노산을 포함하지 않는다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 절단 부위를 포함한다. 선택적으로, 절단 부위는 담배 식각 바이러스(TEV) 프로테아제 절단 부위이다.

[0014] 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 비면역원성이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결된다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결된다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 그 길이가 적어도 약 9개의 아미노산이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 그 길이가 적어도 9개의 아미노산이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 그 길이가 약 9 내지 약 50개의 아미노산이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 그 길이가 9 내지 50개의 아미노산이다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 서열번호: 4에 제시된 서열의 2 내지 4개의 반복부를 포함한다.

[0015] 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함한다. 선택적으로, 제1 시스테인은 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커 내의 유일한 시스테인이다. 선택적으로, 제1 시스테인은 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커의 처음 4개의 아미노산에 있다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 서열번호: 4에 제시된 서열의 2 내지 4개의 반복부를 포함하고, 반복부 하나 내의 하나의 아미노산은 시스테인으로 돌연변이된다. 선택적으로, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 서열번호: 21에 제시된 서열을 포함한다.

[0016] 일부 이러한 조성물에서, MHC 리간드 펩티드는 제1 시스테인을 포함한다. 선택적으로, 제1 시스테인은 조성물에 의해 형성된 에피토프로부터 멀리 떨어져 있다.

- [0017] 일부 이러한 조성물에서, 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에 존재한다. 선택적으로, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결된다.
- [0018] 일부 이러한 조성물에서, 제2 시스테인은 조성물 내의 MHC 클래스 II 분자에 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하지 않는다. 선택적으로, 제2 시스테인은 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자 내의 비-시스테인 아미노산 대신에 존재한다. 선택적으로, 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에 존재한다. 선택적으로, 제2 시스테인은, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 서열의 101번 위치에 상응하는 위치에 있다. 예를 들어, 제2 시스테인은 도 3의 HLA-DPA1, HLA-DQA1 및 HLA-DRA1 전장 서열의 정렬에서 DQA1 R101로 표시된 위치에 해당하는 위치일 수 있다. 예를 들어, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬의 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 59와 최적으로 정렬되는 경우 서열번호: 59에 제시된 서열의 78번 위치에 상응하는 위치에 있을 수 있다.
- [0019] 일부 이러한 조성물에서, MHC 클래스 II 분자는 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인이 결여되어 있다. 선택적으로, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인은 임의의 다른 아미노산으로 대체되었다. 선택적으로, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인은 알라닌, 글루타민, 트립토판, 또는 아르기닌으로 대체되었다. 선택적으로, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인은 조성물 내의 MHC 클래스 II 분자에서 알라닌 또는 글루타민으로 대체된다.
- [0020] 일부 이러한 조성물에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬에 존재하는 시스테인이 결여되어 있다. 선택적으로, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬에 존재하는 시스테인은 조성물 내 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에서 알라닌 또는 글루타민으로 대체된다. 선택적으로, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬 내의 시스테인은, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 서열 내의 70번 위치에 상응하는 위치에 있다. 예를 들어, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬의 시스테인은 도 3에서 HLA-DPA1, HLA-DQA1, 및 HLA-DRA1 전장 서열의 정렬에서 DQA1 C70로 표시된 위치에 상응하는 위치에 있을 수 있다. 예를 들어, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬의 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 59와 최적으로 정렬되는 경우 서열번호: 59에 제시된 서열의 47번 위치에 상응하는 위치에 있을 수 있다.
- [0021] 일부 이러한 조성물에서, 조성물은 하나 이상의 면역자극성 분자를 추가로 포함한다. 선택적으로, 하나 이상의 면역자극성 분자는 조성물에 대한 T 세포 매개 면역 반응을 유도하는 T 세포 에피토프이다. 선택적으로, 하나 이상의 면역자극성 분자는 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV)로부터의 팬-DR-결합 에피토프 (PADRE) 및/또는 펩티드를 포함한다. 선택적으로, 하나 이상의 면역자극성 분자는 MHC 클래스 II 분자에 직접적으로 또는 간접적으로 공유 연결되어 있다. 선택적으로, 하나 이상의 면역자극성 분자는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및/또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분에 직접적으로 또는 간접적으로 공유 연결되어 있다.
- [0022] 일부 이러한 조성물에서, MHC 클래스 II 분자는 인간 MHC 클래스 II 분자이다. 선택적으로, 인간 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ, HLA-DR 및 HLA-DP로 구성된 군으로부터 선택된다. 선택적으로, 인간 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ2 분자이다. 선택적으로, 인간 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DR2 분자이다.
- [0023] 일부 이러한 조성물에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II α 사슬 세포의 도메인을 포함하고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인을 포함하고, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함하고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결되는 약 9 내지 약 50개의 아미노산 길이의 가요성 링커이고, 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에 있고, 그리고 조성물 내의 MHC 클래스 II 분자에 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하지 않고, 그리고 MHC 클래스 II 분자는 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인이 결여되어 있다. 일부 이러한 조성물에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II α 사슬 세포의 도메인을 포함하고, 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인을 포함하고, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함하고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 N-말단에 연결되는 9 내지 50개의 아미노산 길이의 가요성 링커이고, 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분에 있고, 그리고 조성물 내의 MHC 클래스 II 분자에 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하지 않고, 그리고 MHC 클래스 II 분자는 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인이 결여되어 있다. 임의로, 조성물은 가용성이고, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분은 $\alpha 1$ 도메인 및 $\alpha 2$ 도메인을 포함하거나, 막관통 도메인 또는 세포질 도메인을 포함

하지 않고, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 $\beta 1$ 도메인 및 $\beta 2$ 도메인을 포함하지만, 막관통 도메인 또는 세포질 도메인을 포함하지 않고, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분은 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프 및 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프를 포함하는 Jun-Fos 지퍼에 의해 연결된다. 선택적으로, 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 49와 최적으로 정렬되는 경우 서열번호: 49에 제시된 서열 내의 101번 위치에 상응하는 위치에 있고, 그리고 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자 내의 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 49와 최적으로 정렬되는 경우 서열번호: 49에 제시된 서열 내의 70번 위치에 상응하는 위치에 있다. 예를 들어, 제2 시스테인은 도 3에서 HLA-DPA1, HLA-DQA1, 및 HLA-DRA1 전장 서열의 정렬에서 DQA1 R101로 표지된 위치에 상응하는 위치일 수 있고, 그리고 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬의 시스테인은 도 3에서 HLA-DPA1, HLA-DQA1, 및 HLA-DRA1 전장 서열의 정렬에서 DQA1 C70로 표지된 위치에 상응하는 위치에 있을 수 있다. 예를 들어, 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬 내의 제2 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 59와 최적으로 정렬되는 경우 서열번호: 59에 제시된 서열의 78번 위치에 상응하는 위치에 있을 수 있고, 그리고 상응하는 야생형 MHC 클래스 II α 사슬 내의 시스테인은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분이 서열번호: 59와 최적으로 정렬되는 경우 서열번호: 59에 제시된 서열 내의 47번 위치에 상응하는 위치에 있을 수 있다. 선택적으로, MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ, HLA-DP, 및 HLA-DR로 구성된 군으로부터 선택되는 인간 MHC 클래스 II 분자이다. 선택적으로, 인간 MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ이다.

[0024] 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 세포의 도메인은 서열번호: 64를 포함한다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 세포의 도메인은 서열번호: 64로 본질적으로 구성된다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 세포의 도메인은 서열번호: 64로 구성된다. 선택적으로, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분(예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 세포의 도메인)은 (예를 들어, C-말단 상에) Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결된다. 선택적으로, Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 23을 포함한다. 선택적으로, Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 23으로 본질적으로 구성된다. 선택적으로, Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 23으로 구성된다. 선택적으로, MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인은 서열번호: 60을 포함한다. 선택적으로, MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인은 서열번호: 60으로 구성된다. 선택적으로, MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인은 서열번호: 60으로 구성된다. 선택적으로, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분(예를 들어, MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인)은 (예를 들어, C-말단 상에) Fun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결된다. 선택적으로, Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24를 포함한다. 선택적으로, Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24로 본질적으로 구성된다. 선택적으로, Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24로 구성된다. 선택적으로, MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인은 링커에 의해 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결된다. 선택적으로, 링커는 서열번호: 1을 포함한다. 선택적으로, 링커는 서열번호: 1로 본질적으로 구성된다. 선택적으로, 링커는 서열번호: 1로 구성된다. 선택적으로, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분의 N-말단 (예를 들어, MHC 클래스 II β 사슬 세포의 도메인)은 링커에 의해 MHC 리간드 펩티드 (예를 들어, MHC 리간드 펩티드의 C-말단)에 연결된다. 선택적으로, 링커는 서열번호: 21을 포함한다. 선택적으로, 링커는 서열번호: 21로 본질적으로 구성된다. 선택적으로, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 10 내지 약 18개의 아미노산, 약 10 내지 약 15개의 아미노산, 또는 약 10 내지 약 12개의 아미노산이고/거나 선택적으로 MHC 리간드 펩티드는 잔기 P-1 내지 P9 또는 잔기 P-3 내지 P9를 포함한다. 선택적으로, MHC 리간드 펩티드는 그 길이는 10 내지 18개의 아미노산, 10 내지 15개의 아미노산, 또는 10 내지 12개의 아미노산이고/거나, 선택적으로 MHC 리간드 펩티드는 잔기 P-1 내지 P9 또는 잔기 P-3 내지 P9를 포함한다.

[0025] 또 다른 양태에서, 상기 조성물 중 임의의 것을 코딩하는 핵산이 제공된다.

[0026] 또 다른 양태에서, 대상체에서 면역 반응을 유발하는 방법이 제공된다. 일부 그러한 방법은 유효량의 상기 조성물 중 임의의 것 또는 조성물을 코딩하는 핵산을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0027] 또 다른 양태에서, 항원-결합단백질을 생성하는 방법이 제공된다. 일부 그러한 방법은 다음을 포함한다:(a) 상기 조성물 중 임의의 것 또는 조성물을 코딩하는 핵산으로 비-인간 동물을 면역화하는 단계; 및 (b) 비-인간 동물이 조성물에 대한 면역 반응을 일으키기에 충분한 조건에서 비-인간 동물을 유지하는 단계. 선택적으로, 항원-결합 단백질은 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 항원성 조성물에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단백질은 면역글로불린 분자 또는 그의 단편이다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단백질은 T 세포 수용체 분자 또는 그의 단편이다. 또 다른 양태에서, MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 항원성 조성물에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질을 생성하는 방법이 제공된다. 일부 그러한 방법은 다음을 포함한다:(a) 상기 조성물 중 임의의 것 또는 조성물을 코딩하는 핵산으

로 비-인간 동물을 면역화하는 단계; 및 (b) 비-인간 동물이 조성물에 대한 면역 반응을 일으키기에 충분한 조건에서 비-인간 동물을 유지하는 단계. 일부 구현예에서, 항원-결합 단백질은 면역글로불린 분자 또는 그의 단편이다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단백질은 T 세포 수용체 분자 또는 그의 단편이다.

도면의 간단한 설명

[0028]

도 1(축척에 맞지 않음)은 다양한 가용성 펩티드-MHC II 작제물의 일부 구현예를 나타낸다. Fos 및 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프를 알파 및 베타 사슬에 연결하기 위해 일부 작제물(SGGGG)에 사용된 링커의 서열은 서열번호: 1에 제시되어 있다. 표지는 펩티드의 디설파이드 스테이플링을 위해 작제물 B의 링커(링커 Cys) 및 알파 사슬(R101C)로 조작된 시스테인을 나타낸다. 표지는, 또한 알파 사슬의 70번 위치에 있는 시스테인이 글루타민(C70Q) 또는 알라닌(C70A)으로 돌연변이되었음을 나타낸다. 별표는 데이비스-바디(Davis-body) 변형(단백질 A에 대한 Fc의 차등 결합을 허용하는 CH3 변형)을 나타낸다.

도 2는 돌연변이, C70Q 돌연변이, 또는 R101C 및 C70A 돌연변이를 포함하지 않는 전장 DQ2 알파 사슬 분절(segment)의 정렬을 보여준다.

도 3은 상이한 HLA 클래스 II 대립유전자의 전장 알파 사슬 분절의 정렬을 보여준다.

도 4는 일부 구현예에서 가용성 작제물 C가 항-mFc 센서 표면 상에 포획된 항-클래스 II 단클론성 항체에 결합함을 나타내는 Biacore 검정으로부터의 결과를 나타낸다.

도 5는 일부 구현예에서 항-hFc 센서 표면 상에 포획된 가용성 작제물 C가 항-클래스 II 단클론성 항체에 결합함을 나타내는 Biacore 검정으로부터의 결과를 나타낸다.

도 6a 및 **6b**는 일부 구현예에서 펩티드가 HLA-DQB 사슬에 테더링되고 HLA 알파 및 베타 사슬이 Jun/Fos 또는 Fc 접-인트-홀 배열로 이량체화된 가용성 작제물을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029]

정의

[0030]

본원에서 상호교환가능하게 사용되는 용어 "단백질", "폴리펩티드" 및 "펩티드"는 코딩된 아미노산 및 코딩되지 않은 아미노산 및 화학적으로 또는 생화학적으로 변형되거나 유도체화된 아미노산을 포함하는 임의의 길이의 아미노산의 폴리머 형태를 포함한다. 용어는 또한 변형된 펩티드 골격을 갖는 폴리펩티드와 같이 변형된 폴리머를 포함한다. 용어 "도메인"은 특이적 기능 또는 구조를 갖는 단백질 또는 폴리펩티드의 임의의 부분을 지칭한다.

[0031]

단백질에는 "N-말단"(아미노-말단) 및 "C-말단"(카복시-말단 또는 카르복실-말단)이 있다고 한다. 용어 "N-말단"은 유리 아민 기(-NH₂)를 갖는 아미노산에 의해 종결된 단백질 또는 폴리펩티드의 시작과 관련이 있다. 용어 "C-말단"은 유리 카르복실 기(-COOH)에 의해 종결된 아미노산 사슬 (단백질 또는 폴리펩티드)의 말단과 관련이 있다.

[0032]

본원에서 상호교환가능하게 사용되는 용어 "핵산" 및 "폴리뉴클레오티드"는 리보뉴클레오티드, 데옥시리보뉴클레오티드, 또는 이들의 유사체 또는 변형된 버전을 포함하는 임의의 길이의 뉴클레오티드의 폴리머 형태를 포함한다. 여기에는 단일-, 이중-, 및 다중-가닥 DNA 또는 RNA, 게놈 DNA, cDNA, DNA-RNA 하이브리드 및 퓨린 염기, 피리미딘 염기 또는 다른 자연, 화학적 변형, 생화학 변형, 비자연 또는 유도체화된 뉴클레오티드 염기를 포함하는 폴리머를 포함한다.

[0033]

핵산은 "5' 말단" 및 "3' 말단"을 갖는 것으로 언급되는데, 이는 모노뉴클레오티드가 반응하여 하나의 모노뉴클레오티드 펜토스 고리의 5'-포스페이트가 포스포디에스테르 연결을 통해 한 방향으로 그의 이웃의 3' 산소에 부착되도록 하는 방식으로 올리고뉴클레오티드를 제조하기 때문이다. 올리고뉴클레오티드의 말단은 5' 포스페이트가 모노뉴클레오티드 펜토스 고리의 3' 산소에 연결되어 있지 않은 경우 "5' 말단"이라고 한다. 올리고뉴클레오티드의 말단은 3' 산소가 또 다른 모노뉴클레오티드 펜토스 고리의 5' 포스페이트에 연결되어 있지 않은 경우 "3' 말단"이라고 한다. 핵산 서열은 더 큰 올리고뉴클레오티드 내부에 있더라도 5' 및 3' 말단을 갖는다고 말할 수 있다. 선형 또는 원형 DNA 분자에서, 개별 요소는 "다운스트림" 또는 3' 요소의 "업스트림" 또는 5'라고 한다.

[0034]

용어 "발현 벡터" 또는 "발현 작제물" 또는 "발현 카세트"는 특이적 숙주 세포 또는 유기체에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 적절한 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 원하는 코딩 서열을 함유하는 제조

합 핵산을 지칭한다. 원핵생물에서의 발현에 필요한 핵산 서열은 일반적으로 프로모터, 오퍼레이터 (선택적), 및 리보솜 결합 부위, 뿐만 아니라 다른 서열을 포함한다. 진핵 세포는 일반적으로 프로모터, 인핸서, 종결 및 폴리아데닐화 신호를 이용하는 단계로 알려져 있지만, 필요한 발현을 희생하지 않고 일부 요소가 결실되고 다른 요소가 추가될 수 있다.

[0035] "프로모터"는 일반적으로 특이적 폴리뉴클레오티드 서열에 대한 적절한 전사 개시 부위에서 RNA 합성을 개시하도록 RNA 중합효소 II를 지시할 수 있는 TATA 박스를 포함하는 DNA의 조절 영역이다.

[0036] 본 발명의 일부 구현예에서, 프로모터는 전사 개시 속도에 영향을 미치는 다른 영역을 추가로 포함할 수 있다. 본원의 일부 구현예에 개시된 프로모터 서열은 작동가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드의 전사를 조절한다. 프로모터는 본원의 일부 구현예에 개시된 세포 유형 중 하나 이상에서 활성일 수 있다(예를 들어, 예를 들어, 진핵 세포, 비-인간 포유동물 세포, 인간 세포, 설치류 세포, 다분화능 세포, 1-세포기 배아, 분화된 세포, 또는 이들의 조합이 있으나 이에 제한되지 않음). 프로모터는 예를 들어 구성적으로 활성 프로모터, 조건부 프로모터, 유도성 프로모터, 일시적으로 제한된 프로모터 (예를 들어, 발전적으로 조절된 프로모터가 있으나 이에 제한되지 않음), 또는 공간적으로 제한된 프로모터 (예를 들어, 세포 특이적 또는 조직 특이적 프로모터가 있으나 이에 제한되지 않음)일 수 있다.

[0037] "작동가능한 연결" 또는 "작동적으로 연결된"은 2개 이상의 구성요소 (예를 들어, 프로모터 및 또 다른 서열 요소가 있으나 이에 제한되지 않음)의 병치(juxtaposition)를 포함하여, 구성요소 둘 다가 정상적으로 기능하고, 구성요소 중 적어도 하나가 다른 구성요소 중 적어도 하나에 대해 발휘되는 기능을 매개할 수 있는 가능성을 허용한다. 비제한적 예로서, 프로모터가 하나 이상의 전사 조절 인자의 존재 또는 부재에 반응하여 코딩 서열의 전사 수준을 제어하는 경우 프로모터는 코딩 서열에 작동가능하게 연결될 수 있다. 작동가능한 연결은 서로 인접하거나 트랜스로 작용하는 그러한 서열을 포함할 수 있다(예를 들어, 제한되지는 않지만, 조절 서열은 거리를 두고 작용하여 코딩 서열의 전사를 제어할 수 있음).

[0038] 단백질, 핵산 및 세포와 관련하여 용어 "단리된"은 통상적으로 *계내* 존재할 수 있는 다른 세포 또는 유기체 구성요소와 관련하여 비교적 정제되고, 단백질, 핵산, 또는 세포의 순수한 제제를 실질적으로 포함하는 단백질, 핵산, 및 세포를 포함한다.

[0039] 본 발명의 일부 구현예에서, 용어 "단리된"은 자연 발생 대응물이 없는 단백질 및 핵산 또는 화학적으로 합성되어 다른 단백질 또는 핵산에 의해 실질적으로 오염되지 않은 단백질 또는 핵산을 포함할 수 있다. 용어 "단리된"은 자연적으로 동반된 대부분의 다른 세포 구성요소 또는 유기체 구성요소 (예를 들어, 다른 세포 단백질, 핵산, 또는 세포 또는 세포의 구성요소가 있으나 이에 제한되지 않음)로부터 분리되거나 정제된 단백질, 핵산, 또는 세포를 포함할 수 있다.

[0040] "코돈 최적화"는 아미노산을 특이적하는 다수의 3-염기쌍 코돈 조합에 의해 나타나는 바와 같이 코돈의 축퇴를 이용하고, 일반적으로 자연 아미노산 서열을 유지하면서 자연 서열의 적어도 하나의 코돈을 숙주 세포의 유전자에서 보다 빈번하게 또는 가장 빈번하게 사용되는 코돈으로 대체함으로써 특이적 숙주 세포에서의 증진된 발현을 위한 핵산 서열을 변형시키는 과정을 포함한다. 비제한적인 예로서, 단백질을 코딩하는 핵산은 자연 발생 핵산 서열과 비교하여, 박테리아 세포, 효모 세포, 인간 세포, 비-인간 세포, 포유동물 세포, 설치류 세포, 마우스 세포, 랫트 세포, 햄스터 세포, 또는 임의의 다른 숙주 세포를 포함하는 주어진 원핵 또는 진핵 세포에서 더 높은 사용 빈도를 갖는 코돈을 치환하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, "Codon Usage Database"에서 코돈 용법표를 쉽게 사용할 수 있다. 이 표는 여러 가지 방법으로 적용될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Nakamura 등 (2000) *Nucleic Acids Res.* 28(1):292]를 참조하고, 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 특이적 숙주에서의 발현을 위한 특이적 서열의 코돈 최적화를 위한 컴퓨터 알고리즘도 이용 가능하다(예를 들어, 문헌[Gene Forge] 참조).

[0041] 용어 "좌위"는 유전자 (또는 유의한 서열), DNA 서열, 폴리펩티드-코딩 서열, 또는 유기체 게놈의 염색체 상의 위치의 특이적 위치를 지칭한다. 비제한적인 예로서, "HLA 좌위"는 HLA 유전자, HLA DNA 서열, HLA-코딩 서열, 또는 이러한 서열이 존재하는 단계로 확인된 유기체의 게놈의 염색체 상의 HLA 위치의 특이적 위치를 지칭할 수 있다. "HLA 좌위"는 비제한적인 예로서 인핸서, 프로모터, 5' 및/또는 3' 비번역 영역(UTR), 또는 이들의 조합을 포함하는 HLA 유전자의 조절 요소를 포함할 수 있다.

[0042] 용어 "유전자"는 자연적으로 존재하는 경우 적어도 하나의 코딩 영역 및 적어도 하나의 비코딩 영역을 포함할 수 있는 염색체의 DNA 서열을 지칭한다. 생성물 (예를 들어, RNA 생성물 및/또는 폴리펩티드 생성물이나 이에

제한되지 않음)을 코딩하는 염색체 내의 DNA 서열은 비-코딩 인트론으로 중단된 코딩 영역 및 유전자가 전장 mRNA (5' 및 3' 비번역 서열 포함)에 상응하도록 및 5' 및 3' 말단 둘 다 상의 코딩 영역에 인접한 서열을 포함할 수 있다. 추가로, 조절 서열(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 및 전사 인자 결합 부위이나 이에 제한되지 않음), 폴리아데닐화 신호, 내부 리보솜 유입 부위, 사일런서, 절연 서열, 및 기질 부착 영역을 포함하는 다른 비-코딩 서열이 유전자에 존재할 수 있다. 이들 서열은 유전자의 코딩 영역에 가깝거나(예를 들어, 10 kb 이내 이나 이에 제한되지 않음) 또는 원위 부위에 있을 수 있으며, 유전자의 전사 및 번역의 수준 또는 속도에 영향을 미친다.

[0043] 용어 "대립유전자"는 유전자의 변이체 형태를 지칭한다. 일부 유전자는 염색체의 동일한 위치 또는 유전자 좌위에 있는 다양한 상이한 형태를 가지고 있다. 이배체 유기체는 각 유전자 좌위에 두개의 대립 유전자를 가지고 있다. 대립유전자의 각 쌍은 특이적 유전자 좌위의 유전자형을 나타낸다. 유전자형은 특이적 좌위에 2개의 동일한 대립유전자가 있으면 동형접합으로, 두 대립유전자가 다르면 이종접합으로 설명된다.

[0044] 본원에 제공된 방법 및 조성물은 다양한 상이한 구성요소를 사용한다. 설명 전체의 일부 구성요소에는 활성 변이체 및 단편이 있을 수 있다. 이러한 구성요소에는 예를 들어 MHC 클래스 II 분자가 포함된다. 이들 구성요소 각각에 대한 생물학적 활성은 본원의 다른 곳에서 설명된다. 용어 "기능적"은 생물학적 활성 또는 기능을 나타내는 단백질 또는 핵산 (또는 이의 단편 또는 변이체)의 타고난 능력을 지칭한다. 이러한 생물학적 활성 또는 기능은 예를 들어 MHC 리간드 펩티드에 결합하고/하거나 T 세포 수용체(TCR)에 결합하고 T 세포 반응에 영향을 미치는 MHC 클래스 II 분자의 능력을 포함할 수 있다. 기능적 단편 또는 변이체의 생물학적 기능은 원래 분자와 비교하여 동일하거나 실제로 변경될 수 있지만(예를 들어, 특이성 또는 선택성 또는 효능이나 이에 제한되지 않음), 분자의 기본 생물학적 기능은 유지된다.

[0045] 용어 "야생형"은 (돌연변이, 병든, 변경된 등과 대조되는) 정상 상태 또는 상황에서 발견되는 구조 (예를 들어, 뉴클레오티드 서열 또는 아미노산 서열 서열이나 이에 제한되지 않음)를 갖는 독립체를 포함한다. 야생형 유전자 및 폴리펩티드는 종종 여러 상이한 형태(예를 들어, 대립유전자)로 존재한다.

[0046] 용어 "변이체"는 집단에서 가장 널리 퍼진 서열과 상이한 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 하나의 뉴클레오티드에 의한 것이나 이에 제한되지 않음) 또는 집단에서 가장 널리 퍼져 있는 서열과 상이한 단백질 서열(예를 들어, 하나의 아미노산에 의한 것이나 이에 제한되지 않음)을 지칭한다.

[0047] 용어 "단편"은 단백질을 언급할 때 전장의 단백질보다 짧거나 아미노산이 적은 단백질을 의미한다. 용어 "단편"은 핵산을 언급할 때 전장 핵산보다 더 짧거나 더 적은 수의 뉴클레오티드를 갖는 핵산을 의미한다. 단백질 단편의 비제한적인 예는 N-말단 단편(즉, 단백질의 C-말단 일부의 제거), C-말단 단편(즉, 단백질의 N-말단 일부의 제거), 또는 내부 단편(즉, 단백질의 내부 부분의 일부 제거)을 포함할 수 있다.

[0048] 2개의 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에서 "서열 동일성" 또는 "동일성"은 지정된 비교 창에 걸쳐 최대 대응을 위해 정렬될 때 동일한 2개 서열의 잔기를 지칭한다. 서열 동일성의 백분율이 단백질과 관련하여 사용될 때, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환에 의해 종종 상이하며, 여기서 아미노산 잔기는 유사한 화학적 특성(예를 들어, 전하 또는 소수성이나 이에 제한되지 않음)을 갖는 다른 아미노산 잔기로 치환되고, 따라서 분자의 기능적 특성을 변경하지 않는다. 서열의 보존적 치환이 상이한 경우, 치환의 보존적 특성을 수정하기 위해 서열 동일성 퍼센트를 상향 조정할 수 있다. 이러한 보존적 치환에 의해 상이한 서열은 "서열 유사성" 또는 "유사성"을 갖는다고 한다. 이러한 조정을 위한 수단은 잘 알려져 있다. 전형적으로, 이것은 완전한 불일치가 아닌 부분적인 것으로 보존적 치환을 점수를 매김(scoring)으로써 서열 동일성 백분율을 증가시키는 단계를 포함한다. 따라서, 비제한적인 예로서, 동일한 아미노산에 1의 점수가 주어지고 비보존적 치환에 0의 점수가 주어지는 경우, 보존적 치환은 0과 1 사이의 점수가 주어진다. 보존적 치환의 점수는 예를 들어 프로그램 PC/GENE (Intelligenetics, Mountain View, California)에서 구현된 바와 같이 계산된다.

[0049] "서열 동일성 백분율"은 비교 창에 걸쳐 2개의 최적으로 정렬된 서열 (완전히 매칭된 잔기의 가장 큰 수)을 비교함으로써 결정된 값을 포함하고, 여기서 비교 창 내의 폴리뉴클레오티드 서열의 부분은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 참조 서열 (부가 또는 결실을 포함하지 않음)과 비교하여 부가 또는 결실 (즉, 갭)을 포함할 수 있다. 백분율은 두 서열에서 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 발생하는 위치의 수를 측정하여 매칭된 위치의 수가 산출되도록 하고, 매칭된 위치 수를 비교 창에서 위치의 총 수로 나누고, 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산된다. 달리 명시되지 않는 한(예를 들어, 더 짧은 서열에는 연결된 이중 서열이 포함됨), 비교 창은 비교되는 두 서열 중 더 짧은 서열의 전장이다.

- [0050] 달리 명시되지 않는 한, 서열 동일성/유사성 값은 하기 파라미터를 사용하여 GAP 버전 10을 사용하여 수득된 값을 포함한다: 50의 GAP 중량 및 3의 길이 중량, 및 nwsgapdna.cmp 점수화 매트릭스를 사용하는 뉴클레오티드 서열에 대한 % 동일성 및 % 유사성; 8의 Gap 중량 및 2의 길이 중량을 사용하는 아미노산 서열, 및 BLOSUM62 점수화 매트릭스에 대한 % 동일성 및 % 유사성; 또는 그의 임의의 동등한 프로그램. "동등한 프로그램"은 논의되는 임의의 두 서열에 대해 GAP 버전 10에 의해 생성된 상응하는 정렬과 비교할 때 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기 일치 및 동일한 백분율 서열 동일성을 갖는 정렬을 생성하는 모든 서열 비교 프로그램을 포함한다.
- [0051] "시험관 내"라는 용어는 인공 환경 및 인공 환경(예를 들어, 시험관 또는 분리된 세포 또는 세포주이나 이에 제한되지 않음) 내에서 발생하는 과정 또는 반응을 포함한다. 용어 "생체내"는 자연 환경(예를 들어, 유기체 또는 신체 또는 유기체 또는 신체 내의 세포 또는 조직이지만, 이에 제한되지 않음) 및 자연 환경 내에서 발생하는 과정 또는 반응을 포함한다. 용어 "생체외"는 개체의 신체에서 제거된 세포 및 이러한 세포 내에서 발생하는 과정 또는 반응을 포함한다.
- [0052] 용어들 "주요 조직적합성 복합체" 및 "MHC"는 용어 "인간 백혈구 항원" 또는 "HLA" (후자의 2개는 일반적으로 인간 MHC 분자용으로 지정됨), 자연 발생 MHC 분자, MHC 분자의 개별 사슬(예를 들어, MHC 클래스 I α (무거운) 사슬, β 2 마이크로글로불린, MHC 클래스 II α 사슬, 및 MHC 클래스 II β 사슬이나 이에 제한되지 않음), MHC의 이러한 사슬의 개별 서브유닛 분자(예를 들어, MHC 클래스 I α 사슬의 α 1, α 2, 및/또는 α 3 서브유닛, MHC 클래스 II α 사슬의 α 1- α 2 서브유닛, MHC 클래스 II β 사슬의 β 1- β 2 서브유닛이나 이에 제한되지 않음) 뿐만 아니라 부분(예를 들어, 펩티드 결합 부분, 예컨대 펩티드 결합 홈이나 이에 제한되지 않음), 그의 돌연변이체, 및 다양한 유도체(융합 단백질 포함)를 포괄하고, 이러한 부분, 돌연변이체, 및 유도체는 T 세포 수용체 (TCR)(예를 들어, 항원 특이적 TCR로 제한되지 않음)에 의한 인식을 위해 항원성 펩티드를 표시하는 능력을 보유한다. MHC 클래스 I 분자는 약 8-10개 아미노산의 펩티드를 담을 수 있는 무거운 α 사슬의 α 1 및 α 2 도메인에 의해 형성된 펩티드 결합 홈을 포함한다. 두 클래스의 MHC가 펩티드 내에서 약 9개 아미노산(예를 들어, 5 내지 17개 아미노산이나 이에 제한되지 않음)의 코어에 결합한다는 사실에도 불구하고, MHC 클래스 II 펩티드 결합 홈(클래스 II MHC β 폴리펩티드의 β 1 도메인과 회합된 클래스 II MHC α 폴리펩티드의 α 1 도메인)의 개방형 특성은 더 넓은 범위의 펩티드 길이를 허용한다. MHC 클래스 II에 결합하는 펩티드는 일반적으로 길이가 13 내지 17개 사이의 아미노산으로 다양하지만 더 짧거나 더 긴 길이가 드문 것은 아니다. 결과적으로, 펩티드는 MHC 클래스 II 펩티드 결합 홈 내에서 이동하여, 임의의 주어진 시간에 홈 내에 직접 위치하는 9-mer 서열을 변경할 수 있다. 특이적 MHC 변이체의 기존 식별이 본원에 사용된다.
- [0053] 용어 "항원"은 면역적격 숙주 내로 도입될 때 숙주의 면역계에 의해 인식되고 숙주에 의해 면역 반응을 유발하는 임의의 작용제(예를 들어, 단백질, 펩티드, 폴리사카라이드, 당단백질, 당지질, 뉴클레오티드, 그의 부분, 또는 그의 조합이나 이에 제한되지 않음)를 지칭한다. TCR은 면역학적 시냅스의 일부로 MHC의 맥락에서 제시된 펩티드를 인식한다. 펩티드-MHC(pMHC) 복합체는 상호작용의 특이성을 제공하는 펩티드(항원 결정인자) 및 TCR 개체특이형과 함께 TCR에 의해 인식된다. 따라서, 용어 "항원"은 MHC(예를 들어, 펩티드-MHC 복합체 또는 pMHC 복합체로 제한되지 않음)의 맥락에서 제시된 펩티드를 포괄한다. MHC에 표시되는 펩티드는 "에피토프" 또는 "항원 결정인자"로도 지칭될 수 있다. 용어들 "펩티드", "항원 결정인자", "에피토프" 등은 항원 제시 세포(APC)에 의해 자연적으로 제공된 것을 포괄할 뿐만 아니라 또한 면역 세포에 의해 인식되는 한(예를 들어, 면역계의 세포에 적절하게 제시되는 경우이나 이에 제한되지 않음) 임의의 원하는 펩티드일 수 있다.
- [0054] "펩티드-MHC 클래스 II 복합체", "pMHC 클래스 II 복합체", "펩티드-인-홈", 등은 (i) MHC 클래스 II 분자(예를 들어, 인간 MHC 클래스 II 분자이나 이에 제한되지 않음) 또는 그의 부분(예를 들어, 그의 펩티드 결합 홈 또는 그의 세포의 부분이나 이에 제한되지 않음), 및 (ii) 항원성 펩티드를 포함하고, MHC 클래스 II 분자 및 항원성 펩티드는, pMHC 클래스 II 복합체가 T 세포 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는 방식으로 복합체화될 수 있다. pMHC 클래스 II 복합체는 세포 표면 발현 pMHC 클래스 II 복합체 및 가용성 pMHC 클래스 II 복합체를 포괄한다. 항원성 pMHC 클래스 II 복합체(예를 들어, 비제한적으로, 펩티드, 예컨대 pMHC 클래스 II 복합체가 투여되는 동물에게 외래인 펩티드와 복합체화된 MHC 클래스 II 분자를 포함하는 복합체)를 동물에게 투여할 때, 동물은 항원성 pMHC 클래스 II 복합체에 대한 항체 반응을 생성하고/하거나 항원성 pMHC 클래스 II 복합체에 대한 T 세포 반응을 생성할 수 있다(즉, pMHC 클래스 II 복합체에 대해 특이적인 T 세포 수용체 생성함). 그런 다음 이러한 특이적 항원-결합 단백질은 단리되어 항원성 pMHC 클래스 II 복합체와 특이적 T 세포 수용체 상호작용을 특이적으로 조절하기 위한 치료제로서 사용될 수 있다. 일부 경우에, MHC 클래스 II 분자와 복합체화된 펩티드(예를 들어, pMHC 클래스 II 복합체가 투여되는 숙주 동물에 외래인 펩티드이나 이에 제한되지 않음)를 포함하는 가용성 pMHC 클래스 II 복합체는 투여된 pMHC 클래스 II 복합체의 가용성 성질로 인해 T 세포 면역 반

응을 유도하지 않을 수 있지만, 이러한 가용성 pMHC 클래스 II 복합체는 여전히 항원성인 것으로 간주될 수 있는데, 이는 가용성 pMHC 클래스 II 복합체에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질을 생성하는 B-세포-매개 면역 반응을 유도할 수 있다는 점에서 그러하다.

[0055] 본원에 사용된 용어 "유효량"은 원하는 결과(예를 들어, 면역 반응을 유도하거나 조절하기에 충분하지만 이에 제한되지 않음)를 달성하기 위해 필요한 복용량 및 기간 동안 효과적인 양을 포함한다. 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 유효량은 질환 상태, 연령 및 대상체의 체중과 같은 인자, 및 대상체에서 원하는 반응을 유도하는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 능력에 따라 달라질 수 있다. 복용 요법(regimens)은 조정되어 최적의 반응을 제공할 수 있다. 유효량은 또한 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 임의의 독성 또는 해로운 효과 (예를 들어, 비제한적으로, 부작용)가 임의의 치료학적으로 유익한 효과를 능가한다.

[0056] "선택적" 또는 "선택적으로"는 이후에 설명된 이벤트 또는 상황이 발생할 수도 있고 발생하지 않을 수도 있고 설명은 이벤트 또는 상황이 발생하는 경우와 발생하지 않는 경우를 포함한다는 것을 의미한다.

[0057] 값 범위 지정은 범위 내 또는 범위를 한정하는 모든 정수와 범위 내의 정수로 정의된 모든 하위 범위를 포함한다.

[0058] 맥락으로부터 달리 명백하지 않는 한, 용어 "약"은 명시된 값의 ± 5 값을 포괄한다.

[0059] "및/또는"이라는 용어는 대안 ("또는")으로 해석될 때 조합의 결여뿐만 아니라 연관된 나열된 항목 중 하나 이상의 모든 가능한 조합을 지칭하고 포괄한다.

[0060] "또는"이라는 용어는 특이적 목록의 한 구성원을 나타낸다.

[0061] 단수 형태 관사 ("a", "an", 및 "the")는 문맥이 명백하게 달리 지시하지 않는 한 복수 지시 대상을 포함한다. 예를 들어, 용어 "단백질" 또는 "적어도 하나의 단백질"은 이들의 혼합물을 비롯한 복수의 단백질을 포함할 수 있다.

[0062] 통계적으로 유의하다는 것은 $p \leq 0.05$ 를 의미한다.

[0063] **상세한 설명**

[0064] **I. 개요**

[0065] MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함하는 조성물이 본원에서 제공된다. 본 발명의 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함할 수 있다. 조성물의 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 펩티드 링커에 의해 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된다. MHC 리간드 펩티드 또는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함할 수 있고, 그리고 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 제2 시스테인을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제1 시스테인 및 제2 시스테인은 이어서 MHC 리간드 펩티드가 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에 의해 형성된 펩티드 결합 홈에서 결합되도록 디설파이드 결합을 형성할 수 있다. 또한, 이러한 조성물을 코딩하는 핵산 및 대상체에서 면역 반응을 유도하기 위해 이러한 조성물을 사용하는 방법이 제공된다.

[0066] 가용성 펩티드-MHC I 단백질 작제물은 이전에 기재되었다. 이러한 작제물은 설치류(예를 들어, VELOCIMMUNE[®] 설치류에 제한되지 않음)를 면역화하여 항-펩티드-인-홈 항체를 생성하거나 펩티드-MHC I 단백질에 특이적인 T 세포 수용체를 생성하는 단계를 비롯한 다양한 적용에 사용할 수 있다. 이제 MHC II 분자의 α 및 β 사슬이 홈에 있는 펩티드에 함께 고정되어 있는 펩티드-MHC II 단백질 구조를 설계하였다. 이들은 다양한 적용, 예를 들어 비제한적으로, 면역원으로서 작용하는 가용성 MHC II 작제물의 생성 뿐만 아니라 MHC 클래스 II-펩티드 특이적 TCR을 발현하는 T 세포의 동원을 포함하는 다른 적용을 위한 막-고정된 MHC II 단백질에 사용될 수 있다.

[0067] **II. 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물**

[0068] 본 발명의 일부 구현예에서, 다양한 펩티드-MHC 클래스 II 복합체(pMHC 복합체)가 제공된다. 항원성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 예를 들어 pMHC 특이적 항원-결합 단백질을 생성하기 위해 사용될 수 있다. 일부 이러한 복합체는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하는 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된 MHC 리간드 펩티드를 포함한다. 복합체의 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 펩티드 링커에 의해 MHC 클래스 II 분자에 공유 부착된다. MHC 리

간드 펩티드 또는 펩티드 링커는 제1 시스테인을 포함할 수 있고, 그리고 MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)는 제2 시스테인을 포함할 수 있고, 그리고 제1 시스테인 및 제2 시스테인은, MHC 리간드 펩티드가 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에 의해 형성된 펩티드 결합 홈에서 결합되도록 디설파이드 결합을 형성한다.

[0069] 일부 구현예에서, 항원성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부로서 유용한 MHC 클래스 II 분자는 MHC 클래스 II α 사슬의 적어도 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬의 적어도 부분 또는 단편 또는 변이체 (예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬의 세포외 도메인의 적어도 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬의 세포외 도메인의 적어도 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음)을 포함할 수 있고, 이로써 MHC 클래스 II α 사슬의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬의 부분 또는 단편 또는 변이체는 MHC 리간드 펩티드에 결합할 수 있는 펩티드 결합 홈을 형성한다. 비제한적 예로서, 항원성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부로서 유용한 MHC 클래스 II 분자는 자연 발생 전장 MHC 뿐만 아니라 MHC의 개별 사슬 (예를 들어, 그러나 MHC 클래스 II α 사슬 및 MHC 클래스 II β 사슬로 제한되지 않음), MHC의 이러한 사슬의 개별 서브유닛 (예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬의 $\alpha 1$ - $\alpha 2$ 서브유닛 및 MHC 클래스 II β 사슬의 $\beta 1$ - $\beta 2$ 서브유닛, 또는 MHC 클래스 II α 사슬의 $\alpha 1$ 서브유닛 및 MHC 클래스 II β 사슬의 $\beta 1$ 서브유닛이나 이에 제한되지 않음) 뿐만 아니라 그의 단편, 돌연변이체, 및 유도체 (융합 단백질 포함)를 포함할 수 있고, 이러한 단편, 돌연변이체 및 유도체는 항원 특이적 T 세포 수용체(TCR)에 의한 인식을 위한 항원 결정인자를 표시하는 능력을 보유한다. MHC 클래스 II 분자 및 항원성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부로서 유용한 MHC 클래스 II 분자는 본원의 다른 곳에서 더 상세히 설명되어 있다.

[0070] 복합체의 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자의 적어도 하나의 사슬 (예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음) 및 MHC 리간드 펩티드는 융합 단백질로서 회합된다. 비제한적 예로서, MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음) 및 MHC 리간드 펩티드는 링커를 통해 연결될 수 있다. MHC 리간드 펩티드에 대한 MHC 클래스 II 분자의 연결 및 그렇게 하기 위한 적합한 링커는 하기에 더 상세히 설명되어 있다.

[0071] 복합체의 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 또는 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자(또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)의 적어도 하나의 사슬에 연결하는 링커는 디설파이드 브릿지를 통해 부착된다. 디설파이드 브릿지는 한 쌍의 산화된 시스테인 사이에 연장되는 디설파이드 결합이다. MHC 리간드 펩티드 또는 MHC 리간드 펩티드를 디설파이드 브릿지를 통해 MHC 클래스 II 분자(또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)의 적어도 하나의 사슬에 연결하는 링커의 연결은 하기에 더 상세히 설명되어 있다.

[0072] 본원의 일부 구현예에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 막-결합되거나 가용성일 수 있다. MHC 클래스 II 분자는 자연적으로 막-고정된 이종이량체이다. α 및 β 사슬의 소수성 막관통 영역은 이종이량체의 조립을 용이하게 한다. 본원에서 펩티드-MHC 클래스 II 복합체 중 일부는 막-결합되어 있다. 비제한적 예로서, 이러한 막-결합 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 막관통 도메인을 포함하거나 막관통 및 세포질 도메인을 포함하는 MHC 클래스 II 분자를 포함할 수 있다. 비제한적인 예로서, 복합체 내의 MHC 클래스 II 분자는 막관통 도메인을 포함하거나 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하는 α 사슬을 포함할 수 있고/있거나 MHC 클래스 II 분자는 막관통 도메인을 포함하거나 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하는 β 사슬을 포함할 수 있다.

[0073] 일부 구현예에서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 가용성일 수 있다(즉, 막-결합되지 않음). 비제한적 예로서, 이러한 가용성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 막관통 도메인을 포함하지 않거나 막관통 및 세포질 도메인을 포함하지 않는 MHC 클래스 II 분자를 포함할 수 있다. 비제한적 예로서, 복합체 내의 MHC 클래스 II 분자는 막관통 도메인을 포함하지 않거나 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하지 않는 α 사슬을 포함할 수 있고/있거나 MHC 클래스 II 분자는 막관통 도메인을 포함하지 않거나 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하지 않는 β 사슬을 포함할 수 있다.

[0074] 일부 구현예에서, 가용성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 다른 성분을 추가로 포함하여 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체와 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 사이의 사슬 쌍형성을 안정화할 수 있다. 일부 구현예에서, 사슬 쌍형성을 안정화하기 위한 메커니즘의 비제한적인 예

는 Jun-Fos 지퍼에 대한 연결, 면역글로불린 스캐폴드에 대한 연결, 면역글로불린 Fc 영역에 대한 연결 (예를 들어, 면역글로불린 Fc 힌지 영역이나 이에 제한되지 않음), 면역글로불린 Fc 노-인트루-홀 돌연변이, 정전기 공학 예컨대 면역글로불린 Fc 전하 돌연변이 (전하 역전 돌연변이를 포함하지만 이에 제한되지 않음), 직접 링커 (예를 들어, 공유 결합 예컨대 펩티드 링커이나 이에 제한되지 않음), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 이들 메커니즘 각각의 상세한 설명 및 비제한적인 예는 본원의 다른 곳에서 제공된다. 그러나 사슬 쌍형성을 위한 다른 적절한 수단을 사용할 수 있다.

[0075] **A. MHC 클래스 II 분자**

[0076] 본 발명의 일부 구현예에서, 임의의 적합한 MHC 클래스 II 분자는 본원에 설명된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용될 수 있다. MHC 분자는 일반적으로 클래스 I 및 클래스 II MHC 분자의 두 가지 범주로 분류된다. MHC 클래스 II 분자 또는 MHC 클래스 II 단백질은 비공유 결합으로 1개의 α 사슬과 1개의 β 사슬을 포함하는 이중 이량체 내재성 막 단백질이다. α 사슬은 2개의 세포외 도메인($\alpha 1$ 및 $\alpha 2$) 및 2개의 세포내 도메인(TM 도메인 및 CYT 도메인)을 갖는다. β 사슬은 2개의 세포외 도메인($\beta 1$ 및 $\beta 2$) 및 2개의 세포내 도메인(TM 도메인 및 CYT 도메인)을 갖는다.

[0077] 클래스 II MHC 분자의 도메인 조직화는 MHC 분자의 항원 결정인자 결합 부위(예를 들어, 펩티드-결합 부분 또는 펩티드-결합 홈)를 형성한다. 펩티드-결합 홈은 펩티드(예를 들어, 항원 결정기)가 결합할 수 있는 공동을 형성하는 MHC 단백질의 부분을 지칭한다. 펩티드 결합 홈의 형태는 펩티드 결합 시 변경되어 펩티드-MHC(pMHC) 복합체에 대한 TCR 결합에 중요한 아미노산 잔기의 적절한 정렬을 가능하게 할 수 있다.

[0078] 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자는 펩티드 결합 홈을 형성하기에 충분한 클래스 II MHC 사슬의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함한다. 클래스 II 단백질의 펩티드-결합 홈은 2개의 β -주름 시트 및 2개의 α 나선을 형성할 수 있는 $\alpha 1$ 및 $\beta 1$ 도메인의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함할 수 있다. $\alpha 1$ 도메인의 제1 부분은 제1 β -주름 시트를 형성하고 $\alpha 1$ 도메인의 제2 부분은 제1 α 나선을 형성한다. $\beta 1$ 도메인의 제1 부분은 제2 β -주름 시트를 형성하고 $\beta 1$ 도메인의 제2 부분은 제2 α 나선을 형성한다. 단백질의 결합 홈에 결합된 펩티드를 갖는 클래스 II 단백질의 X-선 결정학적 구조는 결합된 펩티드의 한 쪽 또는 양쪽 말단이 MHC 단백질을 넘어 돌출할 수 있음을 나타낸다. 예를 들어, 문헌[Brown 등 (1993) *Nature* 364(6432):33-39]를 참조하고, 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 따라서 클래스 II의 $\alpha 1$ 및 $\beta 1$ α 나선의 말단은 결합 홈에 결합된 펩티드의 말단이 공동에 묻히지 않도록 열린 공동을 형성한다.

[0079] 많은 인간 및 포유동물 MHC가 알려져 있다. 일부 구현예의 비제한적 예로서, 인간 MHC II α 또는 β 폴리펩티드는 HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR, HLA-DM, 또는 HLA-DO 유전자 좌위, 또는 이들의 조합 중 임의의 것에 의해 코딩된 기능적 인간 HLA 분자의 α 또는 β 폴리펩티드로부터 유래될 수 있다. 일반적으로 사용되는 HLA 항원 및 대립유전자 목록과 HLA 명명법에 대한 간략한 설명은 문헌[Shankarkumar 등, "The Human Leukocyte Antigen (HLA) System," *Int. J. Hum. Genet.* 4(2):91-103, (2004)]에 설명되어 있고, 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. HLA 명명법 및 다양한 HLA 대립유전자에 관한 추가 정보는 문헌[Holdsworth 등 (2009) *Tissue Antigens* 73(2):95-170 and Marsh (2019) *Int. J. Immunogenet.* 46(5):346-418]에 설명되어 있으며, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0080] 일 예시적인 구현예에서, MHC는 HLA-DP, HLA-DR, HLA-DQ, 및 이들의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 세포-표면 발현 인간 HLA 분자와 같은 인간 MHC 클래스 II 분자이다. 비제한적 예로서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 하나 이상의 MHC 클래스 II α 사슬 또는 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 (예를 들어, 하나 이상의 인간 MHC 클래스 II α 사슬 또는 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)를 포함할 수 있다. 비제한적인 예시적인 구현예로서, 클래스 II α 사슬은 HLA-DPA, HLA-DQA, 또는 HLA-DRA일 수 있다. 마찬가지로, 일부 구현예에서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 하나 이상의 MHC 클래스 II β 사슬 또는 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 (예를 들어, 하나 이상의 인간 MHC 클래스 II β 사슬 또는 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음)를 포함할 수 있다. 비제한적인 예시적인 구현예로서, 클래스 II β 사슬은 HLA-DPB, HLA-DQB, 또는 HLA-DRB일 수 있다.

[0081] 일부 구현예에서, 다수의 인간 질환 (예를 들어, 인간 자가면역 질환으로 제한되지 않음)과 관련된 것으로 공지된 다형성 인간 HLA 대립유전자가 특히 관심의 대상이다. 류마티스성 관절염, I형 당뇨병, 하시모토 갑상선염, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 그레이브스병, 전신 홍반성 낭창, 셀리악병, 크론병, 췌양성 대장염, 및 다른 자가면역 장애의 발병과 상관관계가 있는 HLA 유전자 좌위의 특이적 다형성이 확인되었다. 예를 들어, 문헌[de Bakker (2006) *Nat. Genet.* 38(10):1166-1172; Wong and Wen (2004) *Diabetologia* 47(9):1476-1487; Taneja

and David (1998) *J. Clin. Invest.* 101(5):921-926; and International MHC and Autoimmunity Genetics Network (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106(44):18680-18685]를 참조하고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 일부 구현예에서, 인간 MHC II 폴리펩티드는 특이적 질병(예를 들어, 자가면역 질병이나 이에 제한되지 않음)과 연관된 것으로 알려진 인간 HLA 분자로부터 유래될 수 있다.

[0082] 일 예시적인 구현예에서, 인간 MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, 인간 MHC II α 및 β 폴리펩티드 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음)은 인간 HLA-DR (예를 들어, HLA-DR2이나 이에 제한되지 않음)로부터 유래된다. 일반적으로 HLA-DR α 사슬은 단일형이다(예를 들어, HLA-DR 단백질의 α 사슬은 HLA-DR α^*01 유전자와 같은 HLA-DRA 유전자에 의해 코딩된다). 한편, HLA-DR β 사슬은 다형성이다. 따라서, HLA-DR2는 HLA-DRA 유전자에 의해 코딩되는 α 사슬 및 HLA-DRA β^*1501 유전자에 의해 코딩되는 β 사슬을 포함한다. 임의의 적합한 HLA-DR 서열, 예컨대 인간 집단에서 나타나는 다형성 변이체, 하나 이상의 보존적 또는 비보존적 아미노산 변형을 갖는 서열 등이 본원에 포함된다.

[0083] 또 다른 예시적인 구현예에서, 인간 MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, 인간 MHC II α 및 β 폴리펩티드 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음)은 인간 HLA-DQ (예를 들어, HLA-DQ2이나 이에 제한되지 않음)로부터 유래된다. HLA-DQ2는 DQ β -사슬의 $\beta 2$ 서브세트의 항체 인식에 의해 결정된 혈청형 그룹이다. DQ의 β -사슬은 HLA-DQB1 유전자 좌위에 의해 코딩되고 DQ2는 HLA-DQB1 *02 대립 유전자 그룹에 의해 코딩된다. 이 그룹은 두개의 공통 대립형질인 DQB1 *0201 및 DQB1 *0202 를 함유한다. DQ2 β -사슬은 유전적으로 연결된 HLA-DQA1 대립유전자에 의해 코딩된 α -사슬과 결합하여 시스-일배체형 이소형을 형성한다. DQ2.2 및 DQ2.5로 명명된 이들 이소형은 각각 DQA1 *0201 및 DQA1 *0501 유전자에 의해 코딩된다. DQ2.5는 자가면역 질환에 가장 소인성 인자 중 하나이다. DQ2.5는 종종 자가면역 질환과 같은 많은 질환과 연관된 일배체형에 의해 코딩된다. 이 일배체형인 HLA A1-B8-DR3-DQ2는 HLA-DQ2가 의심되는 관련 질병과 연관이 있다. 예를 들어, DQ2는 셀리악병에 직접 관련된다.

[0084] 또 다른 구현예에서, 인간 MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, 인간 MHC II α 및 β 폴리펩티드 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음)은 인간의 일반적인 질병과 관련이 있는 것으로 알려져 있는 HLA 대립유전자의 뉴클레오티드 서열, 또는 이의 부분 또는 단편에 의해 코딩될 수 있다. 이러한 HLA 대립유전자는 HLA-DRB1 *0401 , HLA-DRB1 *0301 , HLA-DQA1 *0501 , HLA-DQB1 *0201 , HLA-DRB1 *1501 , HLA-DRB1 *1502 , HLA-DQB1 *0602 , HLA-DQA1 *0102 , HLA-DQA1 *0201 , HLA-DQB1 *0202 , HLA-DQA1 *0501 , 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. HLA 대립유전자/질병 연관성에 대한 요약은 문헌[de Bakker (2006) *Nat. Genet.* 38(10):1166-1172]에 제공되고, 이 문헌은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 일반적인 질병과 연관된 HLA 대립유전자의 추가 비제한적 예는 B *0801 /DRB1 *0301 /DQA1 *0501 /DQB1 *0201 (그레이브스병 또는 중증 근무력증), DRB1 *1501 /DQB1 *0602 (다발성 경화증), DQA1 *0102 (다발성 경화증), C *0602 (건선), DQA1 *0201 /DQB1 *0202 (DQ2.2) (셀리악병), DQA1 *0501 /DQB1 *0201 (DQ2.5) (셀리악병), DRB1 *1501 (전신 홍반성 낭창 (SLE)), DRB1 *0301 (1형 당뇨병 또는 SLE), 및 B *5701 (아바카비르 과민증)을 포함한다.

[0085] 일부 구현예에서, 항원성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부로서 유용한 MHC 클래스 II 분자는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 (예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인으로 제한되지 않음)을 포함하고, 이로써 상기 MHC 클래스 II α 사슬 및 β 사슬 (또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)은 MHC 리간드 펩티드에 결합할 수 있는 펩티드 결합 홈을 형성한다. 비제한적 예로서, 항원성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부로서 유용한 MHC 클래스 II 분자는 자연 발생 전장 MHC 뿐만 아니라 MHC의 개별 사슬 (예를 들어, 그러나 MHC 클래스 II α 사슬 및 MHC 클래스 II β 사슬이나 이에 제한되지 않음), MHC의 이러한 사슬의 개별 서브유닛 (예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬의 $\alpha 1$ - $\alpha 2$ 서브유닛 및 MHC 클래스 II β 사슬의 $\beta 1$ - $\beta 2$ 서브유닛, 또는 MHC 클래스 II α 사슬의 $\alpha 1$ 서브유닛 및 MHC 클래스 II β 사슬의 $\beta 1$ 서브유닛이나 이에 제한되지 않음) 뿐만 아니라 그의 부분, 단편, 돌연변이체, 및 다양한 유도체 (융합 단백질 포함)를 포함하고, 이러한 부분, 단편, 돌연변이체 및 유도체는 항원 특이적 TCR에 의해 인식을 위한 항원 결정인자를 표시하는 능력을 보유한다. 일 예시적인 구현예에서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 포함된 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및

MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 MHC 리간드 펩티드에 대한 펩티드-결합 홈을 형성하는 데 필요한 영역 또는 최소 영역을 포함한다. 일 예시적인 구현예에서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 포함된 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 MHC 리간드 펩티드에 대한 펩티드 결합 홈을 형성하는 데 필요한 영역 또는 최소 영역으로 본질적으로 구성된다. 일 예시적인 구현예에서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 포함된 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 MHC 리간드 펩티드에 대한 펩티드 결합 홈을 형성하는 데 필요한 영역 또는 필요한 최소 영역으로 구성된다.

[0086] 본원의 일부 구현예에 개시된 펩티드-MHC 복합체 내의 MHC 클래스 II 분자는 막-결합되거나 가용성일 수 있다. MHC 클래스 II 분자는 자연적으로 막-고정된 이중이량체이다. α 및 β 사슬의 소수성 막관통 영역은 이중이량체의 조립을 용이하게 한다. 본원의 일부 구현예에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체 내의 MHC 클래스 II 분자 중 일부는 막-결합된다. 비제한적 예로서, 이러한 막-결합 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 막관통 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하거나 막관통 및 세포질 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하는 MHC 클래스 II 분자를 포함할 수 있다. 비제한적 예로서, 복합체 내의 MHC 클래스 II 분자는 막관통 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하거나 막관통 도메인 및 세포질 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하는 α 사슬을 포함할 수 있고/있거나 MHC 클래스 II 분자는 막관통 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하거나 막관통 도메인 및 세포질 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하는 β 사슬을 포함할 수 있다.

[0087] 일부 구현예에서, 본원의 일부 구현예에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체 내의 MHC 클래스 II 분자는 가용성일 수 있다(즉, 막 결합되지 않음). 예시적인 구현예에서, 이러한 가용성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 막관통 도메인을 포함하지 않거나 막관통 및 세포질 도메인을 포함하지 않는 MHC 클래스 II 분자를 포함할 수 있다. 또 다른 예시적인 구현예에서, 복합체 내의 MHC 클래스 II 분자는 막관통 도메인을 포함하지 않거나 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하지 않는 α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함할 수 있고/있거나, MHC 클래스 II 분자는 막관통 도메인을 포함하지 않거나 막관통 도메인 및 세포질 도메인을 포함하지 않는 β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함할 수 있다.

[0088] 일 구현예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 C-말단 상의 막관통 도메인에 대한 C-말단의 막관통 도메인 또는 영역을 포함하지 않는 전장 α 사슬의 단편을 포함한다. 또 다른 구현예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 N-말단 상의 신호 펩티드를 포함하지 않고 C-말단 상의 막관통 도메인 또는 막관통 도메인에 대한 영역 C-말단을 포함하지 않는 전장 α 사슬의 단편을 포함한다. 비제한적인 예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 상이한 신호 펩티드에 작동가능하게 연결될 수 있다. 예시적인 구현예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 서열번호: 49, 서열번호: 53, 서열번호: 54, 서열번호: 55, 서열번호: 56, 또는 서열번호: 57의 아미노산 잔기 24-216 또는 서열번호: 49, 서열번호: 53, 서열번호: 54, 서열번호: 55, 서열번호: 56, 또는 서열번호: 57의 아미노산 잔기 24-216에 상응하는 전장 α 사슬의 단편을 포함한다 (예를 들어, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체가 유래된 전장 α 사슬이 서열번호: 49, 서열번호: 53, 또는 서열번호: 54, 서열번호: 55, 서열번호: 56, 또는 서열번호: 57과 최적으로 정렬되는 경우). 또 다른 구현예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 서열번호: 51의 아미노산 잔기 29-222 또는 서열번호: 51의 아미노산 잔기 29-222에 상응하는 전장 α 사슬의 단편을 포함한다 (예를 들어, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체가 유래된 전장 α 사슬이 서열번호: 51와 최적으로 정렬되는 경우). 또 다른 구현예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 서열번호: 52 또는 58의 아미노산 잔기 26-216 또는 서열번호: 52 또는 58의 아미노산 잔기 26-216에 상응하는 전장 α 사슬의 단편을 포함한다 (예를 들어, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체가 유래된 전장 α 사슬이 서열번호: 52 또는 58과 최적으로 정렬되는 경우). 또 다른 구현예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 서열번호: 59 및 61-68 중 어느 하나에 제시된 서열을 포함한다.

[0089] 일 구현예에서, β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 C-말단 상의 막관통 도메인에 대한 C-말단의 막관통 도메인 또는 영역을 포함하지 않는 전장 β 사슬의 단편을 포함한다. 또 다른 구현예에서, β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 N-말단 상의 신호 펩티드를 포함하지 않고 C-말단 상의 막관통 도메인 또는 막관통 도메인의 영역 C-말단을 포함하지 않는 전장 β 사슬의 단편을 포함한다. 비제한적인 예에서, β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 상이한 신호 펩티드에 작동가능하게 연결될 수 있다. 예시적인 구현예에서, β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 서열번호: 50의 아미노산 잔기 33-230 또는 서열번호:

50의 아미노산 잔기 33-230에 상응하는 전장 β 사슬의 단편을 포함한다 (예를 들어, β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체가 유래된 전장 β 사슬이 서열번호: 50 과 최적으로 정렬되는 경우). 또 다른 예시적인 구현예에서, β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 서열번호: 60 에 제시된 서열을 포함한다.

[0090] 일부 구현예에서, 가용성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체 내의 MHC II 분자는 다른 성분을 추가로 포함하여 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체와 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 사이의 사슬 쌍형성을 안정할 수 있다. 일부 구현예에서, 사슬 쌍형성을 안정화하기 위한 메커니즘의 비제한적인 예는 Jun-Fos 지퍼에 대한 연결, 면역글로불린 스캐폴드에 대한 연결, 면역글로불린 Fc 영역에 대한 연결 (예를 들어, 면역글로불린 Fc 힌지 영역이나 이에 제한되지 않음), 면역글로불린 Fc 늑-인투-홀, 정전기 공학 예컨대 면역글로불린 Fc 전하 돌연변이 (전하 역전 돌연변이를 포함하지만 이에 제한되지 않음), 직접 링커 (예를 들어, 공유 결합 예컨대 펩티드 링커이나 이에 제한되지 않음), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 그러나 사슬 쌍형성을 위한 다른 적절한 수단을 사용할 수 있다.

[0091] 일 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 Jun-Fos 지퍼에 의해 연결된다. Fos 및 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프의 합성 펩티드는 안정한 가용성 이중이량체로 조립되는 것으로 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Kalandadze 등 (1996) *J. Biol. Chem.* 271:20156-20162 및 Gauthier 등 (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95:11828-11833]를 참조하고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 류신 지퍼는 7번째 잔기마다 주기적으로 간격을 둔 5개의 류신이 특징이다(헵타드 반복부). 각 헵타드 반복부는 알파 나선의 두 회전에 기여한다. 류신 잔기는 류신 지퍼 이량체화에서 특별한 기능을 가지며 꼬인 코일의 두 알파-나선 사이의 계면을 형성한다. Jun/Fos 이중이량체는 꼬인 코일의 외부 표면에 전하를 띤 잔기로 인해 가용성이다. 일 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 (예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단이나 이에 제한되지 않음)는 전사 인자 Fos 및 Jun으로부터의 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결될 수 있고, 이는 가용성이며, 엄격하게 패키징된 꼬인 코일 구조로서 조립된다. 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 및 MHC 클래스 II β 사슬의 소수성 막관통 영역은 전사 인자 Fos 및 Jun으로부터의 류신 지퍼 이량체화 모티프로 대체된다. 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II α1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II α1 및 α2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)는 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결될 수 있고 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합), 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II β1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β1 및 β2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)는 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결될 수 있다 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합). 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II α1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II α1 및 α2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결될 수 있고 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합), 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II β1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β1 및 β2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)는 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프에 연결될 수 있다 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합). 연결 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합)은 예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인의 C-말단 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인의 C-말단에 있을 수 있다. Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프 및/또는 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프를 MHC 클래스 II 분자에 연결하기 위한 적절한 링커는 본원의 다른 곳에 더 자세히 개시되어 있다. 선택적으로, 비제한적인 예에서, 링커는 SGGGGG(서열번호: 1)를 포함한다. 선택적으로, 비제한적인 예에서, 링커는 SGGGGG(서열번호: 1)로 본질적으로 구성된다. 선택적으로, 비제한적인 예에서, 링커는 SGGGGG(서열번호: 1)로 구성된다.

[0092] 일부 구현예에서, Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프 및 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프에 대한 예시적인 서열은 각각 서열번호: 23 및 24에 제시된다.

[0093] 비제한적인 예로서, 본원의 일부 구현예에 개시된 조성물에 사용된 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호:

서열번호: 23에 제시된 서열과 94% 내지 96% 동일할 수 있다.

[0096]

일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 90% 내지 100% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 92% 내지 100% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 94% 내지 100% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 96% 내지 100% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 98% 내지 100% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 90% 내지 98% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 90% 내지 94% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 90% 내지 92% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 92% 내지 98% 동일할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 조성물에 사용된 Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프는 서열번호: 24에 제시된 서열과 94% 내지 96% 동일할 수 있다.

[0097]

또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 면역글로불린 스캐폴드 (예를 들어, IgG 스캐폴드이나 이에 제한되지 않음)를 사용하여 연결된다. 일 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 각각 면역글로불린 가벼운 사슬 가변 영역 및 면역글로불린 무거운 사슬 가변 영역에 연결되거나 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 예를 들어, 문헌[Hamad 등 (1998) *J. Exp. Med.* 188(9):1633-1640]를 참조하고, 이 문헌은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬의 소수성 막관통 영역 및 MHC 클래스 II β 사슬의 소수성 막관통 영역은 각각 면역글로불린 가벼운 사슬 가변 영역 및 면역글로불린 무거운 사슬 가변 영역으로 대체되거나, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II α 1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II α 1 및 α 2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)는 면역글로불린 가벼운 사슬 가변 영역에 연결될 수 있고 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합), 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II β 1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 1 및 β 2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)는 면역글로불린 무거운 사슬 가변 영역에 연결될 수 있다 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합). 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II α 1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II α 1 및 α 2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)는 면역글로불린 무거운 사슬 가변 영역에 연결될 수 있고 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합), 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, 비제한적으로, MHC 클래스 II β 1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 1 및 β 2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)는 면역글로불린 가벼운 사슬 가변 영역에 연결될 수 있다 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합). 연결 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합)은 예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단의 세포외 도메인 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단의 세포외 도메인에 있을 수 있다. 적합한 링커는 본원의 다른 곳에서 보다 상세하게 개시되어 있다.

[0098]

일부 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및/또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 면역글로불린 단편 결정화가능 (Fc) 영역 또는 단편 (예를 들어, IgG2a Fc 도메인, 예컨대 뮤린 IgG2a Fc 도메인이나 이에 제한되지 않음)에 연결될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Arnold 등 (2002) *J. Immunol. Methods* 271(1-2):137-151 and Appel 등 (2000) *J. Biol. Chem.* 275(1):312-321]을 참조하고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 일부 구현예에서, Fc 영역 또는 단편은 정제의 용이함을 위해 데이비스-바디(Davis-body) 변형(예를 들어, 단백질 A에 대한 Fc의 차등 결합을 허용하는 CH3 변형)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제8,586,713호를 참조하고, 이 특허는

모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 비제한적인 예로서, 사용된 Fc 분절은 힌지, C_H2, 및 C_H3 도메인 (예를 들어, 비제한적으로, 항체의 F(ab) 아암을 대체하는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 힌지 영역은 C_H2 및 C_H3 도메인을 포함하는 Fc 분절에 비해 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및/또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 이동성을 증가시킬 수 있다. 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 및/또는 MHC 클래스 II β 사슬의 소수성 막관통 영역은 면역글로불린 Fc 영역 또는 단편으로 대체된다. 하나의 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II α1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II α1 및 α2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음)는 면역글로불린 Fc 영역 또는 단편에 연결될 수 있고/있거나 (예를 들어, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합이나 이에 제한되지 않음), 그리고 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II β1 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β1 및 β2 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음)는 면역글로불린 Fc 영역 또는 단편에 연결될 수 있다 (예를 들어, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합이나 이에 제한되지 않음). 연결 (예를 들어, 프레임 내 또는 링커를 통한 융합이나 이에 제한되지 않음)은 예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단의 세포외 도메인 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단의 세포외 도메인에 있을 수 있다. 적합한 링커는 본원의 다른 곳에서 보다 상세하게 개시되어 있다.

[0099] 선택적으로, 일부 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및/또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 면역글로불린 단편 결정화가능 (Fc) 영역 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에 추가로 연결될 수 있다(예를 들어, 2가 분자의 생성을 허용하지만 이에 제한되지 않음). 예를 들어, 문헌[Arnold 등 (2002) *J. Immunol. Methods* 271(1-2):137-151 and Appel 등 (2000) *J. Biol. Chem.* 275(1):312-321]을 참조하고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 비제한적인 예로서, 사용된 Fc 분절은 힌지, C_H2 및 C_H3 도메인을 포함할 수 있다. 일 예시적인 구현예에서, 면역글로불린 Fc 영역 또는 단편은 Fos 류신 지퍼 이량체화 모티프의 C-말단에 연결될 수 있고/있거나 (예를 들어, 비제한적으로 융합되거나 링커를 통해), Jun 류신 지퍼 이량체화 모티프의 C-말단에 연결될 수 있다. 적합한 링커는 본원의 다른 곳에 개시되어 있다.

[0100] 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 늑-인투-홀 전략을 사용하여 연결된다. 늑-인투-홀은 늑 및 홀 변이체가 파트너 사슬 또는 도메인 상의 적절하게 설계된 홀에 삽입되는 늑 덕분에 이중이량체화되도록 설계된 이중이량체화 전략이다. 예를 들어, 문헌[Ridgway 등 (1996) *Protein Engineering* 9(7):617-621]을 참조하고, 이는 그 전체 내용이 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다. 비제한적 예로서, 늑 및 홀은 면역글로불린 Fc 영역 또는 단편(예를 들어, C_H3 도메인)에서 설계될 수 있다. 다른 비제한적 예로서, 늑은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에 대해 설계되어 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 상응하는 홀에 삽입되거나 또는 그 반대일 수 있다. 늑은 작은 결사슬을 가진 아미노산을 큰 결사슬을 가진 아미노산으로 대체하여 작제되었다. 늑과 크기가 같거나 비슷한 홀은 이 경우 큰 결사슬을 가진 아미노산을 작은 결사슬을 갖는 아미노산으로 대체하여 만들 수 있다. 비제한적인 예로서, 작은 결사슬을 갖는 아미노산을 티로신 또는 트립토판으로 대체하여 늑을 작제할 수 있고, 큰 결사슬을 갖는 아미노산을 알라닌 또는 트레오닌으로 대체하여 상응하는 홀을 작제할 수 있다.

[0101] 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 전하 돌연변이에 기초하여 연결된다. MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체와 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 사이의 접촉 잔기는 하전된 아미노산 또는 중성인 아미노산일 수 있다. 하전된 아미노산은 전기적으로 하전된 결사슬이 있는 아미노산 잔기이다. 이들은 아르기닌(Arg, R), 히스티딘(His, H) 및 라이신(Lys, K)에 존재하는 단계과 같이 양으로 하전된 결사슬일 수 있거나 아스파르트산(Asp, D) 및 글루탐산(Glu, E)에 존재하는 단계과 같이 음으로 하전된 결사슬일 수 있다. 중성 아미노산은 전기적으로 하전된 결사슬을 보유하지 않는 임의의 다른 아미노산이다. 이러한 중성 잔기는 세린(Ser, S), 트레오닌(Thr, T), 아스파라긴(Asn, N), 글루타민(Glu, Q), 시스테인(Cys, C), 글리신(Gly, G), 프롤린(Pro, P), 알라닌(Ala, A), 발린(Val, V), 이소류신(Ile, I),

류신 (Leu, L), 메티오닌 (Met, M), 페닐알라닌 (Phe, F), 티로신 (Tyr, Y), 및 트립토판 (Trp, T)을 포함한다. 비제한적인 예로서, 하나 이상의 양으로 하전된 아미노산은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 조작되어 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에서 하나 이상의 음으로 하전된 아미노산과 상호작용할 수 있거나 그 반대일 수 있다. 또 다른 비제한적인 예로서, 하나 이상의 음으로 하전된 아미노산은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 조작되어 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에서 하나 이상의 양으로 하전된 아미노산과 상호작용할 수 있거나 그 반대일 수 있다. 또 다른 비제한적인 예로서, 하나 이상의 음으로 하전된 아미노산은 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 조작되어 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 조작된 하나 이상의 양으로 하전된 아미노산과 상호작용할 수 있거나 그 반대일 수 있다. 일부 구현예에서, 하전된 아미노산은 중성 아미노산 잔기를 하전된 아미노산 잔기로 치환함으로써 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 조작될 수 있다. 일부 구현예에서, 하전된 아미노산은 반대로 하전된 아미노산 잔기를 하전된 아미노산 잔기로 치환함으로써 (예를 들어, 음으로 하전된 아미노산 잔기를 양으로 하전된 아미노산 잔기로 치환하거나 양으로 하전된 아미노산 잔기를 음으로 하전된 아미노산 잔기로 치환함으로써) MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 조작될 수 있다. 일 구현예에서, MHC는 상이하게 하전된 돌연변이를 포함하는 면역글로불린 Fc 영역에 연결될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제9,358,286호를 참조하고, 이 특허는 모든 목적을 위해 그 전체가 참고로 포함된다.

[0102] 또 다른 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 (예를 들어, 비제한적으로 링커 예컨대 펩티드 링커에 의해) 공유 연결될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Burrows 등 (1999) *Protein Eng.* 12(9):771-778]을 참조하고, 이는 그 전체 내용이 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다. 이러한 MHC 클래스 II 분자는 단일 사슬 MHC 융합일 수 있다. 일 예시적인 구현예에서, 단쇄 MHC 융합체는 $\alpha 1$ 및 $\beta 1$ 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체만을 포함하는 (또는 $\alpha 2$ 및 $\beta 2$ 도메인을 포함하지 않고 α 및 β 사슬의 막관통 또는 세포질 도메인을 포함하지 않는) 최소 TCR 결합 단위일 수 있다. 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 및 MHC 클래스 II β 사슬의 소수성 막관통 영역은 펩티드 링커와 같은 링커에 의해 대체된다. 일 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II $\alpha 1$ 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II $\alpha 1$ 및 $\alpha 2$ 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하지만 이에 제한되지 않음)는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 세포외 도메인 (예를 들어, MHC 클래스 II $\beta 1$ 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II $\beta 1$ 및 $\beta 2$ 도메인 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)에 연결될 수 있다 (예를 들어, 비제한적으로, 프레임 내 또는 링커를 통해 융합된다). 적합한 링커는 본원의 다른 곳에서 설명된다. 일 예시적인 구현예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 N-말단은 β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단에 연결된다. 일부 구현예에서, α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단 또는 β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 N-말단에 연결될 수 있다. 적합한 링커는 본원의 다른 곳에서 보다 상세하게 개시되어 있다.

[0103] **B. MHC 리간드 펩티드 및 MHC 클래스 II 분자에 대한 연결**

[0104] 펩티드-MHC 클래스 II 복합체 내의 MHC 리간드 펩티드는, 본 발명의 일부 구현예에서, MHC-펩티드 복합체가 T 세포 수용체 (TCR)에 결합할 수 있고 T 세포 반응(즉, 항원성 펩티드)에 영향을 미치는 방식으로 MHC 단백질에 결합할 수 있는 임의의 펩티드를 포함할 수 있다. 항원성 펩티드의 특징, 예컨대 길이, 아미노산 조성 등은 펩티드 결합 홈 내에 들어맞는 펩티드의 능력, 실험 조건, 및 관심 항원을 포함하지만 이에 제한되지 않는 여러 인자에 의존할 수 있다. 이러한 인자는 Protean II™(Proteus) 및 SPOT™과 같은 상용 컴퓨터 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다. MHC 펩티드 결합 홈에 대한 펩티드의 결합은 TCR에 의해 인식되는 펩티드 아미노산 잔기 및/또는 MHC 또는 동물에 의해 생성된 pMHC 결합 단백질의 공간적 배열을 제어할 수 있다. 이러한 공간 제어는 부분적으로 펩티드와 MHC 단백질 사이에 형성된 수소 결합에 기인한다. 펩티드가 다양한 MHC에 결합하는 방법에 대한 지식을 바탕으로 주요 MHC 앵커 아미노산과 상이한 펩티드 간에 변화하는 표면 노출 아미노산을 결정할 수 있다. MHC 클래스 II 분자에 대한 펩티드 결합은 소수성 고정 및 수소 결합 형성에 의해 안정화된다. 펩티드는 결합 홈과 상호 작용할 때 유형 II 폴리프롤린 나선을 채택한다. 이론에 얽매이지 않고, 이러한 형태는 MHC II 단백질의 다형성 포켓에서 펩티드 결합의 격리와 함께 펩티드는 특이적인 방식으로 끼이게 하는 단계로 믿어진다. 예를 들어, 문헌[Ferrante and Gorski (2007) *J. Immunol.* 178:7181-7189]를 참조하고, 이 문헌은 모든

목적에 의해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 이론에 얽매이지 않고, 일반적으로 이들 포켓은 P1, P4, P6 및 P9 위치에서 펩티드 잔기의 결사슬을 수용하고 주요 앵커로 확인된 것으로 여겨진다. 이러한 크게 용매에 접근할 수 없는 상호작용 외에도 P2, P3, P7 및 P10 잔기를 수용하는 결합 부위에 더 작은 포켓 또는 선반(shelve)이 있는 위치는 부(minor) 또는 보조 앵커로 인식된다.

[0105] 일부 구현예에서, 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P12 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-3 내지 P12 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-3 내지 P12 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P11 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-2 내지 P11 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P11 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P10 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-1 내지 P10 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P10 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P1 내지 P9 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P9 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P1 내지 P9 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다.

[0106] 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P12 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P12 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P12 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P1 내지 P12 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P11 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P11 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P11 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P1 내지 P11 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P10 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P10 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P10 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P1 내지 P10 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P9 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P9 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P9 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P1 내지 P9 잔기를 포함하는 펩티드를 포함한다.

[0107] 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-3 내지 P12 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-2 내지 P12 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-1 내지 P12 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P12 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-3 내지 P11 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-2 내지 P11 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-1 내지 P11 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P11 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-3 내지 P10 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-2 내지 P10 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-1 내지 P10 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P10 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P10 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다.

내지 P9 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P12 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P11 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P10 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P9 잔기로 본질적으로 구성된 펩티드를 포함한다.

[0111] 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P12 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P11 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P10 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-3 내지 P9 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P12 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P11 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P-2 내지 P10 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-2 내지 P9 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P12 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P11 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P10 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P-1 내지 P9 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P12 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P1 내지 P11 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적인 예는 P1 내지 P10 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 적합한 MHC 리간드 펩티드의 비제한적 예는 P1 내지 P9 잔기로 구성된 펩티드를 포함한다.

[0112] 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P1 내지 P12 잔기를 포함한다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P1 내지 P12 잔기로 본질적으로 구성된다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P1 내지 P12 잔기로 구성된다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-1 내지 P11 잔기를 포함한다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-1 내지 P11 잔기로 본질적으로 구성된다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-1 내지 P11 잔기로 구성된다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-1 내지 P9 잔기를 포함한다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-1 내지 P9 잔기로 본질적으로 구성된다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-1 내지 P9 잔기로 구성된다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-3 내지 P9 잔기를 포함한다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-3 내지 P9 잔기로 본질적으로 구성된다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 P-3 내지 P9 잔기로 구성된다.

[0113] 일부 구현예에서, 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 항원성 펩티드의 비제한적 예는 자가항원, 종양-연관 항원, 감염원, 독소, 알러지항원, 또는 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 항원 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함하는 펩티드를 포함한다. 일 예시적인 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 자가면역 장애와 연관된 인간 자가 단백질의 적어도 부분 또는 단편 또는 변이체(예를 들어, 항원 결정인자로 제한되지 않음)를 포함한다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 감염원 (예를 들어, 박테리아, 바이러스, 또는 기생 유기체이나 이에 제한되지 않음)의 단백질의 적어도 부분 또는 단편 또는 변이체 (예를 들어, 항원 결정인자로 제한되지 않음)를 포함한다. 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 알러지 항원의 적어도 부분 또는 단편 또는 변이체(예를 들어, 항원 결정인자로 제한되지 않음)를 포함한다. 또 다른 예시적인 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 종양 연관 단백질의 적어도 부분 또는 단편 또는 변이체(예를 들어, 항원 결정인자로 제한되지 않음)를 포함한다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 T 세포-매개 질환 (예를 들어, T 세포-매개 자가면역 질환 예컨대 1형 진성 당뇨병, 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 셀리악병, 애디슨병, 및 갑상선기능저하증이나 이에 제한되지 않음)과 연관된다. 일 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 글리아딘 펩티드 또는 글리아딘 유래 펩티드일 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드(예를 들어, 글리아딘 펩티드 또는 글리아딘 유래 펩티드)는 QLQPFQPPELPY (서열번호: 44), PQPELPYPQPQL (서열번호: 46), 또는 FPQPEQFPWQP (서열번호: 45)을 포함할 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드(예를 들어, 글리아딘 펩티드 또는 글리아딘 유래 펩티드)는 QLQPFQPPELPY (서열번호: 44), PQPELPYPQPQL (서열번호: 46), 또는 FPQPEQFPWQP (서열번호: 45)로 본질적으로 구성될 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드(예를 들어, 글리아딘 펩티드 또는 글리아딘 유래 펩티드)는 QLQPFQPPELPY (서열번호: 44), PQPELPYPQPQL (서열번호: 46), 또는 FPQPEQFPWQP (서열번호: 45)로 구성될 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드(예를 들어, 글리아딘 펩티드 또는 글리아딘 유래 펩티드)는 QLQPFQPPELPY (서열번호: 44), PQPELPYPQPQL (서열번호: 46), 또는 FPQPEQFPWQP (서열번호: 45)로 구성될 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드(예를 들어, 글리아딘 펩티드 또는 글리아딘 유래 펩티드)는 QLQPFQPPELPY (서열번호: 44), PQPELPYPQPQL (서열번호: 46), 또는 FPQPEQFPWQP (서열번호: 45)로 구성될 수 있다.

FPQPEQFPWQP (서열번호: 45), QPFPQPELPYPQ (서열번호: 69), QPFPQPEQFPW (서열번호: 70), QPFPQPELPY (서열번호: 71), FPQPELPYPQ (서열번호: 72), 또는 FPQPEQFPW (서열번호: 73)를 포함할 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드(예를 들어, 글리아딘 펩티드 또는 글리아딘 유래 펩티드)는 QLQFPQPELPY (서열번호: 44), PQPELPYPQQL (서열번호: 46), FPQPEQFPWQP (서열번호: 45), QPFPQPELPYPQ (서열번호: 69), QPFPQPEQFPW (서열번호: 70), QPFPQPELPY (서열번호: 71), FPQPELPYPQ (서열번호: 72), 또는 FPQPEQFPW (서열번호: 73)로 본질적으로 구성될 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드(예를 들어, 글리아딘 펩티드 또는 글리아딘 유래 펩티드)는 QLQFPQPELPY (서열번호: 44), PQPELPYPQQL (서열번호: 46), FPQPEQFPWQP (서열번호: 45), QPFPQPELPYPQ (서열번호: 69), QPFPQPEQFPW (서열번호: 70), QPFPQPELPY (서열번호: 71), FPQPELPYPQ (서열번호: 72), 또는 FPQPEQFPW (서열번호: 73)로 구성될 수 있다.

[0114] 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 MHC-펩티드 복합체가 TCR에 결합하고 T 세포 반응에 영향을 미칠 수 있도록 하는 방식으로 MHC 단백질에 결합하기에 적합한 임의의 길이일 수 있다. MHC 리간드 펩티드 길이는 예를 들어, 약 5 내지 약 40개의 아미노산 (예를 들어, 약 6 내지 약 30개의 아미노산, 약 8 내지 약 20개의 아미노산, 약 10 내지 약 18개의 아미노산, 약 12 내지 약 18개의 아미노산, 약 13 내지 약 18개의 아미노산, 약 9 내지 약 11개의 아미노산, 또는 전체의 정수 증분 (즉, 5, 6, 7, 8, 9 ... 40)을 5 내지 40개의 아미노산 길이의 임의의 크기 펩티드로 제한되지 않음)에서 변할 수 있다. 자연적으로 MHC-클래스-II 결합 펩티드는 약 9 내지 약 40개의 아미노산으로 다양하지만, 거의 모든 경우에 펩티드는 MHC 결합 활성 또는 T 세포 인식의 손실 없이 9-11개의 아미노산 코어로 말단절단될 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 5 내지 약 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 10 내지 약 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 15 내지 약 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 20 내지 약 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 25 내지 약 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 30 내지 약 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 35 내지 약 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 5 내지 약 35개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 5 내지 약 30개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 5 내지 약 25개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 5 내지 약 20개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 5 내지 약 15개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 5 내지 약 10개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 10 내지 약 35개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 15 내지 약 30개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 20 내지 약 25개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 9 내지 약 11개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 그 길이가 약 10 내지 약 18개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 약 9 내지 약 15개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 약 9 내지 약 14개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 약 9 내지 약 13개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 약 9 내지 약 12개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 약 10 내지 약 15개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 약 10 내지 약 14개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 약 10 내지 약 13개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 약 10 내지 약 12개의 아미노산일 수 있다.

[0115] 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 MHC-펩티드 복합체가 TCR에 결합하고 T 세포 반응에 영향을 미칠 수 있도록 하는 방식으로 MHC 단백질에 결합하기에 적합한 임의의 길이일 수 있다. MHC 리간드 펩티드 길이는 예를 들어, 5 내지 40개의 아미노산 (예를 들어, 6 내지 30개의 아미노산, 8 내지 20개의 아미노산, 10 내지 18개의 아미노산, 12 내지 18개의 아미노산, 13 내지 18개의 아미노산, 9 내지 11개의 아미노산, 또는 전체의 정수 증분 (즉, 5, 6, 7, 8, 9 ... 40)으로 5 내지 40개의 아미노산 길이의 임의의 크기 펩티드이나 이에 제한되지 않음)으로 변할 수 있다. 자연적으로 MHC-클래스-II 결합 펩티드는 9 내지 약 40개의 아미노산으로 다양하지만, 거의 모든 경우에 펩티드는 MHC 결합 활성 또는 T 세포 인식의 손실 없이 9-11개의 아미노산 코어로 말단절단될 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 5 내지 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 10 내지 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 15 내지 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 20 내지 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 25 내지 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 30 내지 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 35 내

지 40개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 5 내지 35개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 5 내지 30개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 5 내지 25개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 5 내지 20개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 5 내지 15개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 5 내지 10개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 10 내지 35개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 15 내지 30개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 20 내지 25개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 9 내지 11개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 길이는 10 내지 18개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 9 내지 15개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 9 내지 14개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 9 내지 13개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 9 내지 12개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 10 내지 15개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 10 내지 14개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 10 내지 13개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 10 내지 12개의 아미노산일 수 있다.

[0116] (1) 링커

[0117] 복합체의 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자 및 MHC 리간드 펩티드의 적어도 하나의 사슬 또는 부분 또는 단편 또는 변이체는 융합 단백질로서 회합된다. 예시적인 구현예에서, MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체이나 이에 제한되지 않음) 및 MHC 리간드 펩티드는 링커 (예를 들어, 펩티드 링커에 의해 공유적으로 연결되지만 이에 제한되지 않음)를 통해 연결될 수 있다. 비제한적 예로서, MHC 리간드 펩티드는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 N-말단, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 N-말단, 또는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 C-말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 예시적인 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 N-말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 비제한적인 예로서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 아미노에서 카복시 말단까지 MHC 리간드 펩티드, 링커, 및 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체를 포함할 수 있다. 비제한적 예로서, 링커는 MHC 리간드 펩티드의 C-말단으로부터 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 N-말단까지 연장될 수 있다. 링커는 연결된 MHC 리간드 펩티드가 MHC 클래스 II 분자의 결합 홈으로 접히도록 하여 기능적 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 생성하도록 구조화될 수 있다. 가요성 링커를 통해 MHC 클래스 II 분자에 펩티드를 부착하는 단계는 펩티드가 생합성, 수송 및 표시 동안 MHC를 차지하고 계속 회합되도록 하는 이점이 있다.

[0118] MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 링커의 길이는 임의의 적합한 길이일 수 있다. 예시적인 구현예에서, 링커는 MHC 리간드 펩티드가 MHC 클래스 II 분자의 펩티드 결합 홈에 도달하여 결합할 수 있을 정도로 충분히 길고 링커가 MHC 리간드 펩티드와 MHC 클래스 II 분자의 펩티드 결합 홈 사이의 결합을 실질적으로 억제하지 않도록 충분히 짧을 수 있다. 링커 길이는 알려진 구조 정보(예를 들어, 알려진 삼차 구조 정보에 제한되지 않음)를 기초로 연결되는 N-말단과 C-말단 사이의 거리를 초과하도록 설계될 수 있다. 링커의 적합한 크기 및 서열은 또한 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 예측된 삼차 구조를 기초로 하는 통상적인 컴퓨터 모델링 기술에 의해 결정될 수 있다. 비제한적인 예로서, PDB 코드 1S9V로 기탁된 HLA-DQ 구조로부터, MHC 리간드 펩티드 C-말단의 C-알파 원자와 MHC α 서브유닛 또는 MHC β 서브유닛의 N-말단의 C-알파 원자의 길이는 약 30 Å이다. 예를 들어, 문헌[Kim 등 (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101(12):4175-4179]을 참조하고, 이는 그 전체 내용이 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다. 따라서, MHC 리간드 펩티드의 C-말단이 MHC 클래스 II β 사슬 또는 부분 또는 도메인 또는 단편 또는 그의 변이체 또는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 부분 또는 도메인 또는 단편 또는 그의 변이체의 N-말단에 연결을 통해 연결된다면, 링커의 길이는, MHC 리간드 펩티드가 MHC 클래스 II 분자의 펩티드 결합 홈 내에 위치하는 경우 MHC 리간드 펩티드의 C-말단과 MHC 클래스 II α 또는 β 사슬 또는 부분 또는 도메인 또는 단편 또는 그의 변이체의 N-말단 사이의 거리를 초과하도록 설계될 수 있다. 상기의 측정에서, 예를 들어, 30 Å(아미노산 잔기당 3.5 Å = 9개의 아미노산)을 초과하는 링커는 측정 거리에 걸쳐 필요할 수 있다. 링커가 두 연결 지점 사이의 단백질 분자 표면을 피할 수 있도록 추가 아미노산이 포함될 수도 있다.

[0119] 비제한적 예로서, 링커는 그 길이가 적어도 약 9개의 아미노산, 적어도 약 10개의 아미노산, 적어도 약 11개의

일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 15개의 아미노산 내지 30개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 15개의 아미노산 내지 25개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 15개의 아미노산 내지 20개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 10개의 아미노산 내지 50개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 15개의 아미노산 내지 50개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 20개의 아미노산 내지 50개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 25개의 아미노산 내지 50개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 30개의 아미노산 내지 50개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 35개의 아미노산 내지 50개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 40개의 아미노산 내지 50개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 45개의 아미노산 내지 50개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 10개의 아미노산 내지 20개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 11개의 아미노산 내지 19개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 12개의 아미노산 내지 18개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 13개의 아미노산 내지 17개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 그 길이가 14개의 아미노산 내지 16개의 아미노산일 수 있다. 일부 구현예에서, 전체의 정수 증분 (즉, 9, 10, 11, 12, 13 ... 50)으로 9 내지 50개의 아미노산 길이의 임의의 크기 펩티드일 수 있다. 예시적인 구현예에서, 링커는 그 길이가 15개의 아미노산일 수 있다.

[0121] 임의의 적합한 아미노산이 링커에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 가요성 링커, 강성 링커, 및 절단 가능한 링커를 포함하는 적합한 링커의 비제한적인 예는 예를 들어 문헌[Chen 등 (2013) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 65(10):1357-1369]에서 검토되고, 이는 그 전체 내용이 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다. PDB 데이터베이스는 또한 다음 사이트 ibi.vu.nl/programs/linkerdbwww에 있는 Center for Integrative Bioinformatics, University of Amsterdam의 서버에서 입증된 바와 같이 단백질 분절 또는 도메인 사이의 정의된 거리에 걸쳐 있을 수 있는 아미노산 서열을 검색할 수 있다.

[0122] 본원의 일부 구현예에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용되는 링커는 하기 특징 중 하나 이상 또는 모두를 가질 수 있다: 링커는 가요성이고, 링커는 비면역원성이고, 링커는 하전된 아미노산을 포함하지 않고, 링커는 극성 아미노산 및 이들의 조합을 포함한다. 가요성은 MHC 리간드 펩티드가 자유롭게 결합하고 MHC 클래스 II 분자의 자연 펩티드 결합 홈에 조립되도록 할 수 있다. 가요성은 예를 들어, 작거나 친수성 아미노산 (예를 들어, 글리신 및 세린로 제한되지 않음)이 풍부한 링커를 사용하여 달성할 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 또는 적어도 약 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 또는 적어도 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 40% 내지 약 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 40% 내지 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 50% 내지 약 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 50% 내지 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 60% 내지 약 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 60% 내지 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 70% 내지 약 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 70% 내지 80%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 40% 내지 약 70%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 40% 내지 70%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 40% 내지 약 60%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 40% 내지 60%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 40% 내지 약 50%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 40% 내지 50%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 50% 내지 약 70%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 50% 내지 70%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 약 55% 내지 약 65%는 글리신일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 중 아미노산의 55% 내지 65%는 글리신일 수 있다. 극성 아미노산을 포함하면 용해도를 개선하는 데 도움이 될 수 있다. 일부 구현예에서, 극성 아미노산의 비제한적 예는 Arg, Asn, Asp, Glu, Gln, His, Lys, Ser, Thr, 및 Tyr을 포함한다. 예시적인 구현예에서, 하나 이상의 세린이 링커에 포함된다. 하전된 아미노산(예를 들어, Lys, Arg, Glu 및 Asp로 제한되지 않음)을 생략하면 다른 아미노산 결사 슬과의 정전기적 상호작용을 피할 수 있다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 가요성이며 하나 이상의 극성 아미노산을 포함한다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 가요성이고(예를 들어, Gly와 같은 가요성 아미노산을 포함하지만 이에 제한되지는 않음), 임의의 하전된 아미노산을 포함하지 않는다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 가요성 및 비면역원성이다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 하

나 이상의 극성 아미노산을 포함하고 임의의 하전된 아미노산을 포함하지 않는다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 비-면역원성이고 하나 이상의 극성 아미노산을 포함한다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 비-면역원성이며 임의의 하전된 아미노산을 포함하지 않는다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 가요성이고, 하나 이상의 극성 아미노산을 포함하고, 임의의 하전된 아미노산을 포함하지 않는다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 비-면역원성이고, 하나 이상의 극성 아미노산을 포함하고, 임의의 하전된 아미노산을 포함하지 않는다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 가요성이고, 비면역원성이며, 하나 이상의 극성 아미노산을 포함한다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 가요성이고, 비면역원성이고, 하전된 아미노산을 포함하지 않는다. 본원에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 링커는 가요성이고, 비면역원성이고, 하나 이상의 극성 아미노산을 포함하고, 임의의 하전된 아미노산을 포함하지 않는다.

[0123] 일부 구현예에서, 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 링커는 절단 부위를 포함하는 절단 가능한 링커이다. 비제한적인 예로서, 링커는 담배 식각 바이러스(TEV) 프로테아제 절단 부위 ENLYFQ(서열번호: 22)를 포함할 수 있다. 그러나, 다른 절단 부위가 또한 사용될 수 있다(예를 들어, 예를 들어, 트롬빈-민감한 절단 부위, 퓨린-민감한 절단 부위, 리노바이러스 3C 프로테아제 절단 부위, 또는 엔테로펩티다제 절단 부위이나 이에 제한되지 않음). 예를 들어, 문헌[Waugh (2011) *Protein Expr. Purif.* 80(2):283-293]을 참조하고, 이는 그 전체 내용이 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다.

[0124] 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 일부 링커는 주로 작은 결사슬을 갖는 아미노산, 예컨대 글리신, 알라닌, 및 세린 (예를 들어, 글리신 및 세린이나 이에 제한되지 않음)을 포함한다. 일부 구현예에서, 예시적인 링커는 글리신 폴리머 (G)_n, 글리신-세린 폴리머 (예를 들어, (GS)_n, (GSGGS)_n (서열번호: 2), (GGGS)_n (서열번호: 3), 및 (GGGGS)_n (서열번호: 4)을 포함하되, 여기서 n은 적어도 1의 정수임), 글리신-알라닌 폴리머, 알라닌-세린 폴리머, 및 잘 알려진 다른 가요성 링커를 포함한다. (GGGGS)_n (서열번호: 4) 링커는 용해도를 향상시키는 수소 결합을 형성할 수 있는 가요성 아미노산(Gly)과 극성 아미노산(Ser)을 모두 포함하기 때문에 특히 적합하다. 적합한 링커는 (GSGGS)_n (서열번호: 2), (GGGS)_n (서열번호: 3), 및 (GGGGS)_n (서열번호: 4) 중 임의의 것을 포함할 수 있다. 적합한 링커는 (GSGGS)_n (서열번호: 2), (GGGS)_n (서열번호: 3), 및 (GGGGS)_n (서열번호: 4) 중 임의의 것으로 본질적으로 구성될 수 있다. 적합한 링커는 (GSGGS)_n (서열번호: 2), (GGGS)_n (서열번호: 3), 및 (GGGGS)_n (서열번호: 4) 중 임의의 것으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 펩티드 링커 (예를 들어, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커)는 서열번호: 4에 제시된 서열의 약 2 내지 약 4개의 반복부를 포함한다. 일부 구현예에서, 펩티드 링커 (예를 들어, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커)는 서열번호: 4에 제시된 서열의 2 내지 4개의 반복부를 포함한다. 일부 구현예에서, 펩티드 링커 (예를 들어, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커)는 서열번호: 4에 제시된 서열의 약 2 내지 약 4개의 반복부를 포함하고, 반복부 하나 내의 하나의 아미노산은 시스테인으로 돌연변이된다. 일부 구현예에서, 펩티드 링커 (예를 들어, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 펩티드 링커)는 서열번호: 4에 제시된 서열의 2 내지 4개의 반복부를 포함하고, 반복부 하나 내의 하나의 아미노산은 시스테인으로 돌연변이된다. 비제한적인 예로서, 시스테인은 링커의 제1, 제2, 제3, 또는 제4 아미노산 (예를 들어, 링커의 제2 아미노산이나 이에 제한되지 않음)일 수 있다. 글리신 및 글리신-세린 폴리머를 사용할 수 있다. 글리신 및 세린은 모두 상대적으로 구조화되지 않고, 따라서 구성 요소 사이의 중성 테더(tether) 역할을 할 수 있다. 글리신은 알라닌보다 더욱 더 많은 파이-프사이(phi-psi) 공간에 접근하고 더 긴 결사슬을 가진 잔기보다 훨씬 덜 제한적이다. 일부 구현예에서, 예시적인 링커는 GGSG (서열번호: 5), GGS GG (서열번호: 6), GSGSG (서열번호: 7), GSGGG (서열번호: 8), GGGSG (서열번호: 9), GSSSG (서열번호: 10), SGGGG (서열번호: 11), GCGASGGGGSGGGGS (서열번호: 12), GCGASGGGGSGGGGS (서열번호: 13), GGGSGGGGS (서열번호: 14), GGGASGGGGSGGGGS (서열번호: 15), GGGSGGGGS (서열번호: 16), 또는 GGGASGGGS (서열번호: 17), GGGSGGGGS (서열번호: 18), GGGSGGGGS (서열번호: 19), GCGGS (서열번호: 20), GCGSGGGGS (서열번호: 21), GGGSENLYFQGGGS (서열번호: 47), 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 예시적인 링커는 GGSG (서열번호: 5), GGS GG (서열번호: 6), GSGSG (서열번호: 7), GSGGG (서열번호: 8), GGGSG (서열번호: 9), GSSSG (서열번호: 10), SGGGG (서열번호: 11), GCGASGGGGSGGGGS (서열번호: 12), GCGASGGGGSGGGGS (서열번호: 13), GGGSGGGGS (서열번호: 14), GGGASGGGGSGGGGS (서열번호: 15), GGGSGGGGS (서열번호: 16), 또는 GGGASGGGS (서열번호: 17),

GGGSGGGSGGGGS (서열번호: 18), GGGSGGGSGGGSGGGGS (서열번호: 19), GCGGS (서열번호: 20), GCGSGGGSGGGGS (서열번호: 21), GGGSENLYFQGGGS (서열번호: 47), 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 아미노산 서열로 본질적으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 예시적인 링커는 GSGG (서열번호: 5), GSGG (서열번호: 6), GSGG (서열번호: 7), GSGG (서열번호: 8), GGGG (서열번호: 9), GSSG (서열번호: 10), SGGGG (서열번호: 11), GCGASGGSGGGGS (서열번호: 12), GCGASGGSGGGGS (서열번호: 13), GGGSGGGGS (서열번호: 14), GGGASGGSGGGGS (서열번호: 15), GGGSGGGSGGGGS (서열번호: 16), 또는 GGGASGGGS (서열번호: 17), GGGSGGGSGGGGS (서열번호: 18), GGGSGGGSGGGSGGGGS (서열번호: 19), GCGGS (서열번호: 20), GCGSGGGSGGGGS (서열번호: 21), GGGSENLYFQGGGS (서열번호: 47), 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 아미노산 서열로 구성될 수 있다. 예시적인 구현예에서, 링커(예를 들어, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 링커)는 GCGSGGGSGGGGS (서열번호: 21)를 포함한다. 예시적인 구현예에서, 링커(예를 들어, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 링커)는 GCGSGGGSGGGGS (서열번호: 21)로 본질적으로 구성된다. 예시적인 구현예에서, 링커(예를 들어, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 링커)는 GCGSGGGSGGGGS (서열번호: 21)로 구성된다.

[0125] 링커의 일부 구현예에서, 링커 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 분자에 존재하는 시스테인 잔기와의 디설파이드 결합을 형성할 수 있는 시스테인 잔기를 포함한다. 예시적인 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에 존재하는 시스테인 잔기와의 디설파이드 결합을 형성할 수 있는 시스테인 잔기를 포함할 수 있다. 비제한적인 예로서, 시스테인은 링커의 제1, 제2, 제3, 또는 제4 아미노산 (예를 들어, 링커의 제2 아미노산이지만 이에 제한되지 않음)일 수 있다.

[0126] 상기 링커는 MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음) 및 MHC 리간드 펩티드를 연결하기 위해 설계되지만, 이들 링커는 또한 링커가 사용되는 본원에 설명된 임의의 다른 맥락에서 사용될 수 있다.

[0127] **(2) 디설파이드 브릿지**

[0128] 복합체의 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 또는 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 링커는 디설파이드 브릿지(즉, 산화된 시스테인 쌍 사이에서 MHC 클래스 II 분자 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 적어도 하나의 사슬로 연장되는 디설파이드 결합)를 통해 부착된다. 예시적인 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 제1 시스테인을 포함할 수 있거나 링커는 제1 시스테인을 포함할 수 있고, MHC 클래스 II 분자는 복합체의 삼차 구조에서 제1 시스테인에 대한 근위 위치에 제2 시스테인을 포함할 수 있고, 이로써 디설파이드 브릿지가 형성되고 MHC 클래스 II 분자의 펩티드-결합 홈에서 MHC 리간드 펩티드를 연결한다. 삼차 구조는 단백질의 접힘 및 공유 가교 결합으로 인한 삼차원 구조를 지칭한다. 근접성은 예를 들어 이용 가능한 결정 구조를 기초로 결정될 수 있다. 이러한 디설파이드 결합은 MHC 클래스 II 분자의 펩티드 결합 홈에 MHC 리간드 펩티드를 위치시키는 데 도움이 될 수 있다. 선택적으로, 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 제1 시스테인을 포함하고 다른 시스테인은 포함하지 않을 수 있거나, 링커는 제1 시스테인을 포함하고 다른 시스테인을 포함하지 않을 수 있다. 선택적으로, 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드가 제1 시스테인을 포함하는 경우, 링커는 임의의 다른 시스테인을 포함하지 않는다. 임의로, 일부 구현예에서, 링커는 제1 시스테인을 포함하는 경우, MHC 리간드 펩티드는 임의의 다른 시스테인을 포함하지 않는다. 선택적으로, 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자는 제2 시스테인만을 포함하고 다른 시스테인을 포함하지 않거나 다른 쌍을 이루지 않은 시스테인을 포함하지 않는다(예를 들어, MHC 클래스 II 분자 내에서 디설파이드 결합을 형성할 수 있는 Cys 없음). 선택적으로, 일부 구현예에서, 제2 시스테인이 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에 있는 경우, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 임의의 다른 시스테인 또는 임의의 다른 쌍을 이루지 않은 시스테인을 포함하지 않는다 (예를 들어, MHC 클래스 II 분자 내에서 디설파이드 결합을 형성할 수 있는 Cys 없음). 선택적으로, 일부 구현예에서, 제2 시스테인이 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체에 있는 경우, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체는 임의의 다른 시스테인 또는 임의의 다른 쌍을 이루지 않은 시스테인을 포함하지 않는다 (예를 들어, MHC 클래스 II 분자 내에서 디설파이드 결합을 형성할 수 있는 Cys 없음). MHC 클래스 II 분자 내의 시스테인은 자연 발생 시스테인(즉, 비변형(즉, 야생형) MHC 클래스 II 분자에 존재)이거나 비변형(즉, 야생형) MHC 클래스 II 분자에 대한 돌연변이(침가 또는 치환)일 수 있다. 마찬가지로, 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 내의 시스테인은 자연 발생 시스테인일 수 있거나 MHC 리간드 펩티드 내의 돌연변이(부가 또는 치환)일 수 있다. 그것이 MHC 리간드 펩티드 내의

돌연변이인 경우, 바람직하게는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 의해 형성된 에피토프로부터 멀어지는 방향을 향하고 있다. 링커가 연결된(즉, 공유 결합된) MHC 클래스 II 분자의 사슬(또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 및 디설파이드 브릿지를 형성하는 MHC 클래스 II 분자의 사슬(또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)은 MHC 클래스 II 분자의 동일한 사슬이거나 상이한 사슬일 수 있다. 예시적인 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II 분자의 β 사슬(즉, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)에 연결될 수 있고, 디설파이드 브릿지는 MHC 리간드 펩티드 또는 링커 내의 시스테인 및 MHC 클래스 II 분자의 α 사슬(즉, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 사이에 형성될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II 분자의 α 사슬(즉, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)에 연결될 수 있고, 디설파이드 브릿지는 MHC 리간드 펩티드 또는 링커 내의 시스테인 및 MHC 클래스 II 분자의 β 사슬(즉, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 사이에 형성될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II 분자의 α 사슬(즉, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)에 연결될 수 있고, 디설파이드 브릿지는 MHC 리간드 펩티드 또는 링커 내의 시스테인 및 MHC 클래스 II 분자의 α 사슬(즉, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 사이에 형성될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II 분자의 β 사슬(즉, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체)에 연결될 수 있고, 디설파이드 브릿지는 MHC 리간드 펩티드 또는 링커 내의 시스테인 및 MHC 클래스 II 분자의 β 사슬(즉, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 사이에 형성될 수 있다.

[0129] 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자의 비변형된(즉, 야생형) α 사슬(즉, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 또는 MHC 클래스 II 분자의 비변형된(즉, 야생형) β 사슬(즉, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 내의 시스테인이 아닌 잔기는 MHC 리간드 펩티드 또는 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 링커 내의 시스테인에 대한 복합체의 삼차 구조에서의 근접성에 기초한 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 일부 구현예에서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, 시스테인 잔기는 MHC 리간드 펩티드 또는 MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 링커 내의 시스테인에 대한 복합체의 삼차 구조에서의 근접성에 기초한 MHC 클래스 II 분자의 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 내에 삽입될 수 있다. 즉, 복합체 내의 MHC 클래스 II 분자는 복합체의 삼차 구조에서 제1 시스테인에 근접한 위치(즉, MHC 리간드 펩티드 또는 링커)에 제2 시스테인을 포함하도록 상응하는 야생형 MHC 클래스 II 분자에 비해 돌연변이될 수 있다. 근접성은 예를 들어 이용 가능한 결정 구조에 기초하여 결정될 수 있다. 예시적인 구현예에서, 서열 번호: 49 또는 서열 번호: 55 또는 56에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치는 시스테인(R101C)으로 돌연변이될 수 있다. 이 위치가 시스테인으로 돌연변이된 MHC 클래스 II α 사슬 서열의 비제한적인 예는 서열번호: 53, 서열번호: 54, 및 서열번호: 57에 제시되어 있다. 일부 구현예에서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다(예를 들어, 도 3에서 HLA-DPA1, HLA-DQA1, 및 HLA-DRA1 전장 서열의 정렬에서 DQA1 R101로 표지된 위치에 상응하는 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다). 예를 들어, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 51와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 51 내의 107번 위치 또는 서열번호: 51 내의 107번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 52와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 52 내의 101번 위치 또는 서열번호: 52 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 59와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 59 내의 78번 위치 또는 서열번호: 59 내의 78번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 61와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 61 내의 79번 위치 또는 서열번호: 61 내의 79번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 62와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 62 내의 76번 위치 또는 서열번호: 62 내의 76번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 다른 구현예로서, 서열번호: 52(HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DR 알파 사슬; NCBI 수탁번호 P01903.1)에 설명된 MHC 클래스 II

α 사슬 서열 내의 79번 위치는 시스테인(F79C)으로 돌연변이될 수 있다. 이 위치가 시스테인으로 돌연변이된 MHC 클래스 II α 사슬 서열의 비제한적 예는 서열번호: 58에 제시되어 있다. 일부 구현예에서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 52와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 52에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 79번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다 (예를 들어, 도 3에서 HLA-DPA1, HLA-DQA1, 및 HLA-DRA1 전장 서열의 정렬에서 DRA1 F79로 표시된 위치에 상응하는 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다). 예를 들어, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49 내의 79번 위치 또는 서열번호: 49 내의 79번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 51와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 51 내의 85번 위치 또는 서열번호: 51 내의 85번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 59와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 59 내의 56번 위치 또는 서열번호: 59 내의 56번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 61와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 61 내의 57번 위치 또는 서열번호: 61 내의 57번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 62와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 62 내의 54번 위치 또는 서열번호: 62 내의 54번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 시스테인으로 돌연변이될 수 있다.

[0130]

캡티드-MHC 클래스 II 복합체의 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자의 비변형된 (즉, 야생형) α 사슬 (즉, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 또는 MHC 클래스 II 분자의 비변형된 (즉, 야생형) β 사슬 (즉, MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체) 내의 시스테인인 잔기는 디설파이드 스크림블링을 최소화하기 위해 비-시스테인 잔기로 돌연변이될 수 있다 (즉, 사용하고자 하는 단계과 다른 시스테인 잔기 사이에 디설파이드 결합이 형성됨). 시스테인에 대해 치환된 아미노산은 MHC 복합체의 적절한 폴딩을 허용하도록 선택될 수 있다. 이는 예를 들어 이용 가능한 결정 구조를 기초로 하거나 밀접하게 관련된 MHC 서열의 서열 정렬 검사에 의해 결정될 수 있다. 일 예시적인 구현예에서, 시스테인은 최소 결사슬을 갖고 따라서 입체적으로 가장 파괴적이기 때문에 알라닌으로 돌연변이된다. 일 예시적인 구현예에서, 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 70번 위치에서의 시스테인 (HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬; NCBI 수탁 번호 P01909.1)는 돌연변이될 수 있다. 비제한적 예로서, 이는 Ala, Trp, Arg 또는 Gln으로 돌연변이될 수 있다 (DQA1*0501 내의 쌍을 이루지 않은 Cys는 서열 정렬을 기초로 하는 다른 종으로부터의 가장 가까운 MHC 서열 내의 Trp, Arg 또는 Gln으로 치환됨). 예시적인 구현예에서, 서열번호: 49 또는 53에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 70번 위치에서의 시스테인은 알라닌(C70A)으로 돌연변이될 수 있다. 이 위치가 알라닌으로 돌연변이된 MHC 클래스 II α 사슬 서열의 비제한적인 예는 서열번호: 56 및 54에 제시되어 있다. 예시적인 구현예에서, 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 70번 위치에서의 시스테인은 글루타민 (C70Q)으로 돌연변이될 수 있다. 이 위치가 글루타민으로 돌연변이된 MHC 클래스 II α 사슬 서열의 비제한적인 예는 서열번호: 55 및 57에 제시되어 있다. 일부 구현예에서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 70번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 서열 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 시스테인은 돌연변이될 수 있다 (예를 들어, 알라닌 또는 글루타민이나 이에 제한되지 않음) (예를 들어, 도 3에서 HLA-DPA1, HLA-DQA1, 및 HLA-DRA1 전장 서열의 정렬에서 DQA1 C70로 표시된 위치에 상응하는 위치는 돌연변이될 수 있다). 예를 들어, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 51와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 51 내의 75번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 52와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 52 내의 69번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 59와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 59에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 47번 위치 또는 서열번호: 59 내의 47번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단

편 또는 변이체의 위치에서의 시스템은 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 61와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 61 내의 47번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 돌연변이될 수 있다. 또 다른 예로서, 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 62와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 62 내의 44번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 위치는 돌연변이될 수 있다.

[0131] 예시적인 구현예에서, MHC 리간드 펩티드를 MHC 클래스 II 분자에 연결하는 링커는 제1 시스템을 포함할 수 있고, 그리고 MHC 클래스 II 분자는 근위 위치에 제2 시스템을 포함할 수 있고, 이로써 디설파이드 브릿지가 형성되고 MHC 클래스 II 분자의 펩티드-결합 홈에서 MHC 리간드 펩티드를 연결한다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치는 시스템 (R101C)으로 돌연변이될 수 있거나, 또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치는 시스템으로 돌연변이될 수 있다. 임의로, 일부 구현예에서, 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 70번 위치에서의 시스템은 돌연변이될 수 있거나 (예를 들어, Ala, Trp, Arg, 또는 Gln 로 제한되지 않음), 또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 70번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치는 시스템은 돌연변이될 수 있다 (예를 들어, 알라닌 또는 글루타민로 제한되지 않음). 선택적으로, 일부 구현예에서, 링커는 제1 3 또는 4 잔기, 예컨대 제1 잔기, 제2 잔기, 제3 잔기, 또는 제4 잔기 내의 시스템을 포함하고 (그리고 선택적으로, 일부 구현예에서, 임의의 추가의 시스템을 포함하지 않는다). 예시적인 구현예에서, 링커는 3번 위치에서의 시스템을 포함할 수 있다. 또 다른 예시적인 구현예에서, 링커는 2번 위치에서의 시스템을 포함할 수 있다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 101번 위치 (또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치)에 대한 디설파이드 연결에 대한 Cys를 포함하는 15개의 아미노산 (예컨대 GCGSGGGSGGGGS (서열번호: 21))을 포함한다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 101번 위치 (또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치)에 대한 디설파이드 연결에 대한 Cys를 포함하는 15개의 아미노산 (예컨대 GCGSGGGSGGGGS (서열번호: 21))으로 본질적으로 구성된다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 101번 위치 (또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치)에 대한 디설파이드 연결에 대한 Cys를 포함하는 15개의 아미노산 (예컨대 GCGSGGGSGGGGS (서열번호: 21))로 구성된다. 선택적으로, 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, HLA-DQ2이나 이에 제한되지 않음), HLA-DR MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, HLA-DR2이나 이에 제한되지 않음), 또는 HLA-DP MHC 클래스 II 분자이다.

[0132] 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 제1 시스템을 포함할 수 있고, 그리고 MHC 클래스 II 분자는 근위 위치에 제2 시스템을 포함할 수 있고, 이로써 디설파이드 브릿지가 형성되고 MHC 클래스 II 분자의 펩티드-결합 홈에서 MHC 리간드 펩티드를 연결한다. 일 예시적인 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 내의 P1 앵커 위치는 시스템일 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 내의 P4 앵커 위치는 시스템일 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 내의 P6 앵커 위치는 시스템일 수 있다. 또 다른 구현예에서, MHC 리간드 펩티드 내의 P9 앵커 위치는 시스템일 수 있다. 임의로, 일부 구현예에서, 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 70번 위치에서의 시스템은 돌연변이될 수 있거나 (예를 들어, Ala, Trp, Arg, 또는 Gln 로 제한되지 않음), 또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 70번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치는 시스템은 돌연변이될 수 있다 (예를 들어, 알라닌 또는 글루타민이나 이에 제한되지 않음). 선택적으로, 일부 구현예에서, MHC 리간드 펩티드는 제1 3 또는 4 잔기, 예컨대 제1 잔기, 제2 잔기, 제3 잔기, 또는 제4 잔기 내의 시스템을 포함하고

(그리고 선택적으로, 일부 구현예에서, 임의의 추가의 시스테인을 포함하지 않는다). 선택적으로, 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 101번 위치 (또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치에 대한 디설펜아이드 연결에 대한 Cys를 포함하는 15개의 아미노산 (예컨대 GCGGSGGGSGGGGS (서열번호: 21))을 포함한다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 101번 위치 (또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치에 대한 디설펜아이드 연결에 대한 Cys를 포함하는 15개의 아미노산 (예컨대 GCGGSGGGSGGGGS (서열번호: 21))으로 본질적으로 구성된다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 링커는 MHC 클래스 II α 사슬 101번 위치 (또는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열이 서열번호: 49와 최적으로 정렬될 때 서열번호: 49에 제시된 MHC 클래스 II α 사슬 서열 내의 101번 위치에 상응하는 대상 MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체의 서열 내의 위치에 대한 디설펜아이드 연결에 대한 Cys를 포함하는 15개의 아미노산 (예컨대 GCGGSGGGSGGGGS (서열번호: 21))로 구성된다. 선택적으로, 일부 구현예에서, MHC 클래스 II 분자는 HLA-DQ MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, HLA-DQ2이나 이에 제한되지 않음), HLA-DR MHC 클래스 II 분자 (예를 들어, HLA-DR2 로 제한되지 않음), 또는 HLA-DP MHC 클래스 II 분자이다.

[0133] C. 다른 구성요소

[0134] 본 발명의 일부 구현예에서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물은 또한 다른 구성요소를 포함할 수 있다. 비제한적 예로서, 조성물은 또한 T 헬퍼 세포를 자극할 수 있는 하나 이상의 펩티드 또는 하나 이상의 다른 분자를 포함할 수 있거나 또한 면역 반응을 촉진할 수 있는 하나 이상의 면역자극성 분자를 또한 포함할 수 있다. 이러한 T 헬퍼 세포 에피토프 또는 면역자극성 분자는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 연결될 수 있거나 (예를 들어, 비제한적으로, 공유적으로 연결), 펩티드-MHC 클래스 II 복합체와 물리적으로 연결되지 않은 조성물에서 혼합될 수 있다. 예시적인 구현예에서, 이러한 T 헬퍼 세포 에피토프 또는 면역자극성 분자는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체 (예를 들어, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체의 C-말단으로 제한되지 않음)에 연결될 수 있다 (예를 들어, 비제한적으로, 공유적으로 연결). 비제한적인 예로서, T 헬퍼 세포 에피토프 또는 면역자극성 분자는 MHC 클래스 II 분자의 C-말단 (예를 들어, MHC 클래스 II α 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체 및/또는 MHC 클래스 II β 사슬 또는 이의 부분 또는 단편 또는 변이체로 제한되지 않음)에 간접적으로 또는 직접적으로 연결될 수 있다. 공유 연결은 직접적이거나 펩티드 링커와 같은 링커를 통해 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 링커의 비제한적 예는 본원의 다른 곳에 설명되어 있다.

[0135] 일부 구현예의 비제한적 예로서, 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 T 헬퍼 세포 에피토프는 대부분의 HLA-DR (인간 MHC 클래스 II) 분자에 대한 결합 활성을 기초로 설계된 팬-DR 결합 에피토프 (PADRE) 펩티드 또는 분자이다. PADRE는 문헌[Alexander 등 (2000) *J. Immunol.* 164(3):1625-1633]에 설명된 바와 같이 마우스 MHC I-A^b 일배체형에 의해 제시되는 "범용" MHC-II 에피토프를 제공하는 단계를 기초로 하여 면역 반응을 향상시키는 데 사용되는 마우스 MHC-II 결합 서열인 "팬-DR-결합 에피토프"이고, 상기 문헌은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 이는 면역화에 사용된 항원의 말단에 융합될 수 있고, 항원 제시 세포에 의한 그의 흡수 및 MHC-II에 의한 제시를 전체 면역 반응을 개선시킨다. 예를 들어, 문헌[US 6,413,935; US 5,736,142; and Alexander 등(1994) *Immunity* 1(9):751-761]을 참조하고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 이 펩티드는 항원에 대한 다양한 면역 반응의 생성을 돕는 것으로 밝혀졌다. 일부 구현예에서, PADRE 펩티드는 AKFVAAWTLKAAA (서열번호: 25)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, PADRE 펩티드는 AKFVAAWTLKAAA (서열번호: 25)로 본질적으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, PADRE 펩티드는 AKFVAAWTLKAAA (서열번호: 25)로 구성될 수 있다.

[0136] PADRE와 마찬가지로, 림프구성 맥락수막염 바이러스(LCMV)(예를 들어, LCMV 당단백질(GP), 핵단백질(NP) 또는 아연 결합 단백질(Z))의 펩티드는 면역 반응을 높이는데 사용될 수 있는 대체 MHC-II 결합 작은 폴리펩티드이다. 일부 구현예에서, 이러한 펩티드는 PADRE에 추가로 또는 PADRE에 대한 대안으로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 사용된 LCMV 펩티드는 LCMV 특이적 MHC 클래스 II 제한된 CD4+ T 세포 에피토프일 수 있다. 일부 구현예에서, 사용된 LCMV 펩티드는 하기 서열 중 하나 이상을 포함할 수 있다: TMFEALPHIIDEVIN (에피토프 GP₆₋₂₀; 서열번호: 26); GIKAVYNFATCGIFA (에피토프 GP₃₁₋₄₅; 서열번호: 27); DIYKGVYQFKSVEFD (에피토프

GP₆₆₋₈₀; 서열번호: 28); TSAFNKKTFDHTLMS (에피토프 GP₁₂₆₋₁₄₀; 서열번호: 29); DAQSAQSQCRTRFRGR (에피토프 GP₁₇₆₋₁₉₀; 서열번호: 30); TFRGRVDMFRTAFG (에피토프 GP₁₈₆₋₂₀₀; 서열번호: 31); CDMLRLIDYNKAALS (에피토프 GP₃₁₆₋₃₃₀; 서열번호: 32); IEQEADNMITEMLRK (에피토프 GP₄₀₉₋₄₂₃; 서열번호: 33); EVKSFQWTQALRREL (에피토프 NP₆₋₂₀; 서열번호: 34); KNVLKVGRLSAEELM (에피토프 NP₈₆₋₁₀₀; 서열번호: 35); SERPQASGVYMGNT (에피토프 NP₁₁₆₋₁₃₀; 서열번호: 36); PSLTMACMAKQSQTP (에피토프 NP₁₇₆₋₁₉₀; 서열번호: 37); EGWPYIACRTSIVGR (에피토프 NP₃₁₁₋₃₂₅; 서열번호: 38); SQNRKDIKLIDVEMT (에피토프 NP₄₆₆₋₄₈₀; 서열번호: 39); GWLCKMHTGIVRDKK (에피토프 NP₄₉₆₋₅₁₀; 서열번호: 40); 및 SCKSCWQKFDLSVRC (에피토프 Z₃₁₋₄₅; 서열번호: 41). 일부 구현예에서, 사용된 LCMV 펩티드는 하기 서열 중 하나 이상으로 본질적으로 구성될 수 있다: TMFEALPHIIDEVIN (에피토프 GP₆₋₂₀; 서열번호: 26); GIKAVYNFATCGIFA (에피토프 GP₃₁₋₄₅; 서열번호: 27); DIYKGVYQFKSVEFD (에피토프 GP₆₆₋₈₀; 서열번호: 28); TSAFNKKTFDHTLMS (에피토프 GP₁₂₆₋₁₄₀; 서열번호: 29); DAQSAQSQCRTRFRGR (에피토프 GP₁₇₆₋₁₉₀; 서열번호: 30); TFRGRVDMFRTAFG (에피토프 GP₁₈₆₋₂₀₀; 서열번호: 31); CDMLRLIDYNKAALS (에피토프 GP₃₁₆₋₃₃₀; 서열번호: 32); IEQEADNMITEMLRK (에피토프 GP₄₀₉₋₄₂₃; 서열번호: 33); EVKSFQWTQALRREL (에피토프 NP₆₋₂₀; 서열번호: 34); KNVLKVGRLSAEELM (에피토프 NP₈₆₋₁₀₀; 서열번호: 35); SERPQASGVYMGNT (에피토프 NP₁₁₆₋₁₃₀; 서열번호: 36); PSLTMACMAKQSQTP (에피토프 NP₁₇₆₋₁₉₀; 서열번호: 37); EGWPYIACRTSIVGR (에피토프 NP₃₁₁₋₃₂₅; 서열번호: 38); SQNRKDIKLIDVEMT (에피토프 NP₄₆₆₋₄₈₀; 서열번호: 39); GWLCKMHTGIVRDKK (에피토프 NP₄₉₆₋₅₁₀; 서열번호: 40); 및 SCKSCWQKFDLSVRC (에피토프 Z₃₁₋₄₅; 서열번호: 41). 일부 구현예에서, 사용된 LCMV 펩티드는 하기 서열 중 하나 이상으로 구성될 수 있다: TMFEALPHIIDEVIN (에피토프 GP₆₋₂₀; 서열번호: 26); GIKAVYNFATCGIFA (에피토프 GP₃₁₋₄₅; 서열번호: 27); DIYKGVYQFKSVEFD (에피토프 GP₆₆₋₈₀; 서열번호: 28); TSAFNKKTFDHTLMS (에피토프 GP₁₂₆₋₁₄₀; 서열번호: 29); DAQSAQSQCRTRFRGR (에피토프 GP₁₇₆₋₁₉₀; 서열번호: 30); TFRGRVDMFRTAFG (에피토프 GP₁₈₆₋₂₀₀; 서열번호: 31); CDMLRLIDYNKAALS (에피토프 GP₃₁₆₋₃₃₀; 서열번호: 32); IEQEADNMITEMLRK (에피토프 GP₄₀₉₋₄₂₃; 서열번호: 33); EVKSFQWTQALRREL (에피토프 NP₆₋₂₀; 서열번호: 34); KNVLKVGRLSAEELM (에피토프 NP₈₆₋₁₀₀; 서열번호: 35); SERPQASGVYMGNT (에피토프 NP₁₁₆₋₁₃₀; 서열번호: 36); PSLTMACMAKQSQTP (에피토프 NP₁₇₆₋₁₉₀; 서열번호: 37); EGWPYIACRTSIVGR (에피토프 NP₃₁₁₋₃₂₅; 서열번호: 38); SQNRKDIKLIDVEMT (에피토프 NP₄₆₆₋₄₈₀; 서열번호: 39); GWLCKMHTGIVRDKK (에피토프 NP₄₉₆₋₅₁₀; 서열번호: 40); 및 SCKSCWQKFDLSVRC (에피토프 Z₃₁₋₄₅; 서열번호: 41). 예를 들어, 문헌[Botten 등 (2010) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74(2):157-170 and Mothe 등 (2007) *J. Immunol.* 179(2):1058-1067]을 참조하고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 일부 구현예에서, 펩티드는 SERPQASGVYMGNT (서열번호: 36)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 펩티드는 SERPQASGVYMGNT (서열번호: 36)로 본질적으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 펩티드는 SERPQASGVYMGNT (서열번호: 36)로 구성될 수 있다.

[0137]

일부 구현예에서, 하나의 T 세포 에피토프(예를 들어, LCMV 펩티드)는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가된다. 일부 구현예에서, 복수의 T 세포 에피토프 (예를 들어, 2개의 T 세포 에피토프, 3개의 T 세포 에피토프, 4개의 T 세포 에피토프, 5개의 T 세포 에피토프, 6개의 T 세포 에피토프, 7개의 T 세포 에피토프, 8개의 T 세포 에피토프, 9개의 T 세포 에피토프, 또는 10개의 T 세포 에피토프이나 이에 제한되지 않음)은 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가된다. 일부 구현예에서, 약 1 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 2 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 3 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 4 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 5 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 6 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 7 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 8 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 약 9 내지 약 10개의 T 세포 에피토프는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물에 첨가될 수 있다. 일부

부 구현예에서, 복수의 T 세포 에피토프 각각은 LCMV 펩티드일 수 있지만 이에 제한되지 않으며, 여기서 각각의 LCMV 펩티드는 상기 열거된 임의의 서열을 본질적으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 복수의 T 세포 에피토프 각각은 LCMV 펩티드일 수 있지만 이에 제한되지 않으며, 여기서 각각의 LCMV 펩티드는 상기 열거된 임의의 서열로 구성될 수 있다.

[0139] 일부 구현예에서, 다른 펩티드 또는 분자가 또한 면역 반응을 개선하기 위해 본원에 제공된 조성물에 사용될 수 있다. 비제한적 예는 면역화 숙주(예를 들어, 마우스 또는 랫트이나 이에 제한되지 않음)의 다중 일배체형에 의해 교차 제시되는 면역자극성 제제 예컨대 열쇠구멍 샷샷조개 헤모시아닌 (KLH) 또는 폴리펩티드를 포함한다. 이러한 펩티드 분자는, 예를 들어 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 융합되거나 별도로 제공될 수 있다(예를 들어, 동일한 조성물에 혼합되지만 이에 제한되지 않음).

[0140] 일부 구현예에서, 펩티드 또는 다른 태그는 조성물에 또한 사용되어, 예를 들어 정제를 용이하게 할 수 있다. 일부 구현예에서, 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 사용하기에 적합한 태그의 비제한적 예는 대장균 (*E. coli*) 바이오틴 리가제 (BirA), myc-myc-히스티딘 (mmH), 글루타티온-s-트랜스퍼라제 (GST), 말토스 결합 단백질 (MBP), 키틴 결합 단백질 (CBP), FLAG, 및 1D4 (즉, 소 로돕신의 C-말단에서 유래된 9개의 아미노산 1D4 에피토프)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, BirA 태그의 서열은 GLNDIFEAQKIEWHE (서열번호: 42)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, BirA 태그의 서열은 GLNDIFEAQKIEWHE (서열번호: 42)로 본질적으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, BirA 태그의 서열은 GLNDIFEAQKIEWHE (서열번호: 42)로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, mmH 태그의 서열은 EQKLISEEDLEQKLISEEDLHHHHHHH (서열번호: 43) 또는 EQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHHH (서열번호: 48)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, mmH 태그의 서열은 EQKLISEEDLEQKLISEEDLHHHHHHH (서열번호: 43) 또는 EQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHHH (서열번호: 48)로 본질적으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, mmH 태그의 서열은 EQKLISEEDLEQKLISEEDLHHHHHHH (서열번호: 43) 또는 EQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHHH (서열번호: 48)로 구성될 수 있다.

[0141] **III. 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 코딩하는 핵산**

[0142] 또한, 본원에서 본 발명의 일부 구현예에 개시된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 코딩하는 핵산이 제공된다. 이러한 핵산은 데옥시리보핵산(DNA), 리보핵산(RNA), 또는 DNA 또는 RNA의 하이브리드 또는 유도체일 수 있다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 코딩하는 핵산은 특이적 세포 또는 유기체에서 단백질로의 효율적인 번역을 위해 코돈 최적화될 수 있다. 비제한적인 예로서, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 코딩하는 핵산은 자연 발생 폴리뉴클레오티드 서열과 비교하여 인간 세포, 포유동물 세포, 설치류 세포, 마우스 세포, 랫트 세포, 또는 관심 임의의 다른 숙주 세포에서 더 높은 사용 빈도를 갖는 코돈을 치환하도록 변형될 수 있다. 핵산 분자의 임의의 부분 또는 단편은 다음을 통해 생성할 수 있다: (1) 자연 환경에서 분자를 단리하는 단계; (2) 재조합 DNA 기술(예를 들어, PCR 증폭 또는 클로닝으로 제한되지 않음)을 사용하는 단계; 또는 (3) 화학적 합성 방법을 사용하는 단계. 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 코딩하는 핵산은 개선된 안정성 또는 감소된 면역원성을 위한 변형을 포함할 수 있다. 변형의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: (1) 포스포디에스테르 골격 연결에서 비-연결 포스페이트 산소 중 하나 또는 둘 다 및/또는 연결 포스페이트 산소 중 하나 이상의 변경 또는 대체; (2) 리보스 당의 2' 하이드록실의 변경 또는 대체와 같은 리보스 당의 구성성분의 변경 또는 대체; (3) 포스페이트 모이어티를 테포스포 링커로 대체; (4) 자연 발생 핵염기의 변형 또는 대체; (5) 리보스-포스페이트 골격의 대체 또는 변형; (6) 올리고뉴클레오티드의 3' 말단 또는 5' 말단의 변형(예를 들어, 말단 포스페이트 기의 제거, 변형 또는 대체 또는 모이어티의 접합이나 이에 제한되지 않음); 및 (7) 당의 변형.

[0143] 일부 구현예에서, 핵산은 본원의 다른 곳에서 정의된 바와 같은 발현 작제물의 형태일 수 있다. 비제한적인 예로서, 핵산은 핵산 분자의 발현을 제어하는 조절 영역(예를 들어, 전사 또는 번역 제어 영역, 그러나 이에 제한되지 않음), 전장 또는 부분 코딩 영역, 및 이들의 조합을 포함할 수 있다. 비제한적 예로서, 핵산은 관심 있는 세포 또는 유기체에서 활성인 프로모터에 작동가능하게 연결될 수 있다. 이러한 발현 작제물에 사용될 수 있는 프로모터는 예를 들어, 진핵 세포, 예컨대 포유동물 세포 (예를 들어, 비-인간 포유동물 세포 또는 인간 세포), 예컨대 설치류 세포 (예를 들어, 마우스 세포, 또는 랫트 세포이나 이에 제한되지 않음) 중 하나 이상에서 프로모터 활성을 포함한다. 이러한 프로모터는 예를 들어 조건부 프로모터, 유도성 프로모터, 구성적 프로모터, 또는 조직 특이적 프로모터일 수 있다.

[0144] 일부 구현예에서, 핵산은, 삽입, 결실, 치환 및/또는 역전과 같은 변형이 본원의 다른 곳에 설명된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체 (예를 들어, T 세포 수용체에 의해 인식될 수 있는 것)를 포함하는 조성물을 형성할 수 있는 단백질을 코딩하기 위한 핵산 분자의 능력을 실질적으로 방해하지 않는 방식으로 뉴클레오티드가, 삽입, 결실,

치환 및/또는 역전되는 자연 대립유전자 변이체 및 변형된 핵산 분자를 포함하지만 이에 제한되지 않는 MHC 분자 또는 펩티드를 코딩하는 자연 핵산 분자의 기능적 등가물을 포함할 수 있다.

[0145] **IV. 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 사용하는 방법**

[0146] 또한, 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같은 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 포함하는 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 유도하는 방법이 제공된다.

[0147] 본 발명의 일부 구현예에서, 대상체는 예를 들어 임의의 유형의 동물 또는 포유동물을 포함할 수 있다. 포유동물은, 예를 들어, 인간, 비-인간 포유동물, 비-인간 영장류, 원숭이, 유인원, 고양이, 개, 말, 황소, 사슴, 들소, 양, 토끼, 설치류 (예를 들어, 마우스, 랫트, 햄스터, 및 기니아 피그가나 이에 제한되지 않음), 및 가축 (예를 들어, 소 중 예컨대 소 및 거세 숫소; 양 중 예컨대 양 및 염소; 및 돼지(porcine) 중 예컨대 돼지(pig) 및 수퇘지이나 이에 제한되지 않음)을 포함할 수 있다. 새에는 예를 들어 닭, 칠면조, 타조, 거위 및 오리가 포함된다. 사육 동물과 농업용 동물도 포함된다. 용어 "비-인간 포유동물"은 인간을 제외한다. 비-인간 포유동물의 특이적인 비제한적 예는 마우스 및 랫트와 같은 설치류를 포함한다.

[0148] 용어 투여는 대상체 또는 시스템(예를 들어, 세포, 기관, 조직, 유기체, 또는 이들의 관련 구성요소 또는 그 구성요소 세트에 제한되지는 않음)에 조성물을 투여하는 단계를 지칭한다. 투여 경로는 예를 들어 조성물이 투여되는 대상체 또는 시스템, 조성물의 성질, 투여 목적 등에 따라 달라질 수 있다. 용어 "투여" 또는 "투여하는"은 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 대상체에게 도입하여 의도된 기능(예를 들어, 면역 반응을 유도하거나 조절하지만 이에 제한되지 않음)을 수행하는 경로를 포함하도록 의도된다. 일부 구현예에서, 사용될 수 있는 투여 경로의 비제한적인 예는 주사(피하, 정맥내, 비경구, 복강내, 척추강내), 경구, 흡입, 직장 및 경피를 포함한다. 비제한적인 예로서, 대상체(예를 들어, 인간 또는 설치류이나 이에 제한되지 않음)에 대한 투여는 기관지 (기관지 점적주입에 의한 것 포함), 협측, 장관, 진피간, 동맥내, 진피내, 위내, 골수내, 근육내, 비강내, 복강내, 척추강내, 정맥내, 뇌실내, 점막, 비강, 경구, 직장, 피하, 설하, 국소, 기관 (기관내 점적에 의한 것 포함), 경피, 질 및/또는 유리체일 수 있다. 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 정제 또는 캡슐 형태로 (예를 들어, 주사, 흡입, 눈 로션, 연고, 좌약, 등으로 제한되지 않음), 국소적으로 로션 또는 연고에 의해, 또는 직장으로 좌약에 의해 투여될 수 있다. 투여는 볼러스(bolus) 형태이거나 연속 주입에 의한 것일 수 있다. 투여는 적어도 선택된 기간 동안 간헐적 투여 또는 연속 투여(예를 들어, 관류로 제한되지 않음)를 수반할 수 있다. 투여 경로에 따라, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 의도된 기능을 수행하는 능력에 해로운 영향을 미칠 수 있는 자연 조건으로부터 보호하기 위해 선택된 물질로 코팅되거나 배치될 수 있다. 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 단독으로, 또는 다른 제제(예를 들어, 면역자극제이나 이에 제한되지 않음) 또는 약학적으로 허용되는 담체, 또는 둘 모두와 함께 투여될 수 있다. 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 다른 제제의 투여 전에, 제제와 동시에, 또는 제제의 투여 후에 투여될 수 있다. 또한, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체는 *생체 내에서* 활성 대사산물 또는 보다 활성인 대사 산물로 전환되는 형태로 투여될 수도 있다.

[0149] 또한, 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같이 비-인간 동물을 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 면역화하는 단계, 비-인간 동물이 펩티드 MHC 클래스 II 복합체에 대한 면역 반응을 일으키도록 하는 단계, 및 세포 (예를 들어, 림프구로 제한되지 않음) 또는 핵산을 비-인간 동물로부터 단리하는 단계를 포함하는, 항원-결합 단백질의 제조 방법이 제공되고, 상기 세포 또는 핵산은 펩티드-MHC-클래스 II에 특이적으로 결합하는 항원-결합 단백질을 포함하거나 코딩한다. 비제한적 예로서, 항원 결합 도메인은 (예를 들어, 비제한적으로 마이크로몰, 나노몰, 또는 피코몰 범위의 평형 해리 상수 (KD)로) 펩티드-MHC 클래스 II의 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단백질은 (예를 들어, 환자에서 사용하기 위한) 치료 항원-결합 단백질 또는 항체일 수 있다.

[0150] 일 예시적인 구현예에서, 세포는 B 세포이고 비-인간 동물로부터 단리되고, 방법은 쌍을 이룰 때 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 무거운 사슬 및 가벼운 사슬 가변 도메인을 코딩하는 면역글로불린 무거운 사슬 및 가벼운 사슬 가변 영역 핵산 서열을 확인하는 단계를 추가로 포함한다. 이러한 방법은 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 결합하는 무거운 사슬 및 가벼운 사슬 가변 도메인의 이량체를 포함하는 항원-결합 단백질을 형성하기 위해 항원-결합 단백질을 발현하기에 적합한 발현 시스템에서 핵산 서열을 발현시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0151] 또 다른 구현예에서, 방법은 비-인간 동물로부터 핵산을 단리하는 단계 및 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 특이적으로 결합하는 항체 면역글로불린 무거운 사슬 가변 도메인 및/또는 면역글로불린 가벼운 사슬 가변 도메인을 각각 코딩하는 면역글로불린 무거운 사슬 가변 영역 서열 및/또는 면역글로불린 가벼운 사슬 가변 영역 서열을

수득하는 단계를 포함한다. 이러한 방법은 면역글로불린 무거운 사슬 가변 영역 서열 및/또는 면역글로불린 가벼운 사슬 가변 영역 서열을 이용하여 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 결합하는 항체를 생성하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0152] 방법의 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, B 세포)는 비-인간 동물(예를 들어, 비장 또는 림프절로부터이나 이에 제한되지 않음)로부터 회수된다. 세포는 골수종 세포주와 융합되어 불멸 하이브리도마 세포주를 제조할 수 있으며, 이러한 하이브리도마 세포주는 스크리닝되고 선택되어 면역화에 사용되는 항원에 특이적인 하이브리드 무거운 사슬을 함유하는 항체를 생산하는 하이브리도마 세포주를 식별한다.

[0153] 방법의 일부 구현예에서, 면역화는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 비-인간 동물을 프라이밍(priming) (예를 들어, 비제한적으로, 이에 투여하는 단계)하는 단계, 비-인간 동물이 일정 기간 동안 휴식하도록 허용하는 단계, 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 비-인간 동물을 재면역화하는 단계(예를 들어, 비제한적으로 면역 반응을 촉진하는 단계)를 포함한다. 방법의 일부 구현예에서, 방법은 예를 들어, 팬 DR T 헬퍼 에피토프 (PADRE)이나 이에 제한되지 않는 헬퍼 T 세포 에피토프와 함께 비-인간 동물을 면역화하고/하거나 촉진하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 문헌[US 특허 번호 제6,413,935호 및 Alexander 등 (1994) *Immunity* 1:751-61]을 참고하고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 방법의 일부 구현예에서, 방법은 비-인간 동물을 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 프라이밍하는 단계, PADRE로 제한되지 않는 헬퍼 T 세포 에피토프에 연결된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 면역화된 동물을 촉진하는 단계를 포함한다. 방법의 일부 구현예에서, 방법은 헬퍼 T 세포 에피토프에 연결된 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 비-인간 동물을 프라이밍하고 촉진하는 단계를 둘 다 포함한다. PADRE로 프라이밍하고/하거나 촉진하는 단계를 포함하는 방법에서, 비-인간 동물은 C57/BL6 유전적 배경을 포함하는 마우스일 수 있다. 일부 구현예에서, C57BL 균주의 마우스는 C57BL/A, C57BL/An, C57BL/GrFa, C57BL/KaLwN, C57BL/6, C57BL/6J, C57BL/6ByJ, C57BL/6NJ, C57BL/10, C57BL/10ScSn, C57BL/10C, 및 C57BL/01a로부터 선택될 수 있거나 상기 언급된 C57BL/6 균주 및 또 다른 균주 (예를 들어, 129, BALB, 등이나 이에 제한되지 않음)의 혼합물일 수 있다. 방법의 일부 구현예에서, 비-인간 동물을 프라이밍하는 단계와 비-인간 동물을 촉진하는 단계 사이의 기간은 며칠, 적어도 1주, 적어도 2주, 적어도 3주, 적어도 4주, 또는 적어도 1개월이다.

[0154] 방법의 일부 구현예에서, 비-인간 동물은 인간 또는 인간화 면역글로불린 무거운 사슬 및/또는 가벼운 사슬 유전자 좌위를 포함할 수 있고, 이로써 비-인간 동물은 인간 또는 인간화된 항원 결합 도메인 (예를 들어, 인간 또는 인간화 가변 도메인으로 제한되지 않음)을 포함하는 인간 또는 인간화 항원-결합 단백질을 제공할 수 있다. 인간 가변 영역 유전자 분절을 포함하는 면역글로불린 유전자 좌위는 당업계에 공지되어 있으며, 비제한적인 예로서, 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함되어 있는 미국 특허 번호 5,633,425; 5,770,429; 5,814,318; 6,075,181; 6,114,598; 6,150,584; 6,998,514; 7,795,494; 7,910,798; 8,232,449; 8,502,018; 8,697,940; 8,703,485; 8,754,287; 8,791,323; 8,809,051; 8,907,157; 9,035,128; 9,145,588; 9,206,263; 9,447,177; 9,551,124; 9,580,491 및 9,475,559, 뿐만 아니라 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함되어 있는 미국 특허 공개 번호 20100146647, 20110195454, 20130167256, 20130219535, 20130326647, 20130096287, 및 20150113668, 및 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함되어 있는 PCT 공개 번호 WO2007117410, WO2008151081, WO2009157771, WO2010039900, WO2011004192, WO2011123708 및 WO2014093908에서 발견될 수 있다. 비제한적인 예로서, 비-인간 동물은 그의 게놈에서, 재배열되지 않거나 재배열된 인간 또는 인간화 면역글로불린 무거운 유전자 좌위 및/또는 재배열되지 않거나 재배열된 인간 또는 인간화 면역글로불린 가벼운 사슬 유전자 좌위를 포함할 수 있고, 이로써 비-인간 동물은 인간 또는 인간화 항원 결합 도메인 (예를 들어, 인간 또는 인간화 면역글로불린 가변 도메인으로 제한되지 않음)을 포함하는 인간 또는 인간화 항원-결합 단백질을 제공할 수 있고, 선택적으로, 일부 구현예에서, 인간 또는 인간화 면역글로불린 무거운 유전자 좌위 및/또는 인간 또는 인간화 면역글로불린 가벼운 사슬 유전자 좌위 중 적어도 하나는 재배열되지 않는다.

[0155] 일부 구현예에서, 이러한 방법은 프레임 내에서 인간 무거운 사슬 또는 가벼운 사슬 가변 영역 서열 (이는 또한 또는 독립적으로 범용 가벼운 사슬 가변 도메인일 수 있는, 히스티딘 변형된 인간 무거운 사슬 가변 도메인 및/또는 히스티딘 변형된 인간 가벼운 사슬 가변 도메인을 코딩할 수 있음)을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 인간 무거운 사슬 불변 영역 (CH) 또는 가벼운 사슬 불변 영역 (CL)을 코딩하는 유전자로 클로닝하여, 인간 결합 단백질 서열을 형성하는 단계, 및 적합한 세포에서 인간 결합 단백질 서열을 발현하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0156] 또한, 항원성 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 대한 특이성으로 T 세포를 확인하는 방법이 제공되고, 방법은 비-인간 동물을 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같은 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 면역화하는 단계, 비-인간 동물이 펩티드 MHC 클래스 II 복합체에 대한 면역 반응을 일으키도록 하는 단계, 및 펩티드

또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 반응하는 T 세포를 단리하는 단계를 포함한다.

[0157] 또한 TCR 가변 도메인(예를 들어, TCR α 및/또는 β 가변 도메인)을 코딩하는 핵산 서열을 제조하는 방법이 제공된다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같은 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 비-인간 동물을 면역화하는 단계, 비-인간 동물이 펩티드 MHC 클래스 II 복합체에 대한 면역 반응을 일으키도록 하는 단계 및 이로부터 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 결합하는 인간 TCR 가변 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 수득하는 단계를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 방법은 TCR 불변 영역에 작동가능하게 연결된 TCR 가변 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 제조하는 단계를 추가로 포함할 수 있으며, 이는 T 세포를 본원의 비-인간 동물로부터 단리하고, 그리고 이로부터 TCR 불변 영역에 연결된 TCR 가변 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 수득하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 비-인간 동물은 인간화 T 세포 수용체 가변 유전자 좌위를 포함할 수 있고, 방법은 T 세포에 의해 발현되는 인간 TCR 가변 영역의 핵산 서열을 결정하는 단계 및 인간 TCR 가변 영역이 인간 TCR 불변 영역에 작동가능하게 연결되도록 인간 TCR 불변 영역의 핵산 서열을 포함하는 뉴클레오티드 작제물로 인간 TCR 가변 영역을 클로닝하는 단계를 포함할 수 있다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 방법은 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 특이적인 인간 TCR을 작제물로부터 (예를 들어, 세포에서) 발현시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0158] 또한, 항원성 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 특이적인 T 세포 수용체 (TCR)를 제조하는 방법이 제공되고, 방법은 비-인간 동물을 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같은 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 면역화하는 단계, 비-인간 동물이 펩티드 MHC 클래스 II 복합체에 대한 면역 반응을 일으키도록 하는 단계, 및 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 반응하는 T 세포를 단리하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 T 세포에 의해 발현된 TCR 가변 영역의 핵산 서열을 결정하고, TCR 가변 영역이 TCR 불변 영역로 작동가능하게 연결되도록 TCR 불변 영역의 핵산 서열을 포함하는 뉴클레오티드 작제물로 TCR 가변 영역을 클로닝하는 단계 및 선택적으로 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 특이적인 TCR을 작제물 (예를 들어, 이는 세포에서 발현함)로부터 발현하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 비-인간 동물은 인간화 T 세포 수용체 가변 유전자 좌위를 포함할 수 있고, 방법은 T 세포에 의해 발현되는 인간 TCR 가변 영역의 핵산 서열을 결정하는 단계 및 인간 TCR 가변 영역이 인간 TCR 불변 영역에 작동가능하게 연결되도록 인간 TCR 불변 영역의 핵산 서열을 포함하는 뉴클레오티드 작제물로 인간 TCR 가변 영역을 클로닝하는 단계를 포함할 수 있다. 선택적으로, 일부 구현예에서, 방법은 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 특이적인 인간 TCR을 (예를 들어, 세포에서) 작제물로부터 발현시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0159] 일부 구현예에서, 항원성 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 특이적인 확인된 T 세포 또는 TCR은 대상체에서 요법(예를 들어, 입양 T 세포 요법)을 위해 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 이러한 방법은 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같은 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 비-인간 동물을 면역화하는 단계, 비-인간 동물이 펩티드 MHC 클래스 II 복합체에 대한 면역 반응을 일으키도록 하는 단계, 펩티드 또는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 반응하는 T 세포 (즉, 항원 특이적 T 세포)를 단리하는 단계, T 세포에 의해 발현된 TCR의 핵산 서열을 결정하는 단계, TCR의 핵산 서열을 발현 벡터 (예를 들어, 레트로바이러스 벡터)로 클로닝하는 단계, T 세포가 항원 특이적 T 세포 수용체를 발현하도록 대상체로부터 유래된 T 세포에 벡터를 도입하는 단계 및 T 세포를 상기 대상체로 주입하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원 특이적 T 세포 집단은 대상체에 주입하기 전에 확장된다. 일부 구현예에서, 대상체의 면역 세포 집단은 항원 특이적 T 세포의 주입 전에 면역고갈된다.

[0160] 방법의 일부 구현예에서, 비-인간 동물은 인간화 T 세포 수용체를 발현할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 제9,113,616호를 참조하고, 이 특허는 모든 목적을 위해 그 전체가 참고로 포함된다. 비제한적 예로서, 방법의 일부 구현예에서, 비-인간 동물은 인간화 T 세포 수용체 가변 유전자 좌위를 포함할 수 있다. 비제한적 예로서, 비-인간 동물은 인간화 TCR α 및 β 폴리펩티드 (및/또는 인간화 TCR δ 및 TCR γ 폴리펩티드)를 발현할 수 있다. 일 구현예에서, 비-인간 동물은 재배열되지 않은 인간 TCR 가변 유전자 좌위를 그의 게놈에 포함한다.

[0161] 방법의 일부 구현예에서, 비-인간 동물은 적어도 하나의 빈 인간 또는 인간화 MHC 클래스 II 분자, 또는 적어도 그의 빈 인간 펩티드-결합 홈에 내성화되지만, 항원성 (예를 들어, 이중성이나 이에 제한되지 않음) 펩티드와 복합체화될 때 인간(조직화) MHC 분자에 대한 항원-결합 단백질 (예를 들면, 인간 또는 인간화된 가변 도메인을 포함하는 항원-결합 단백질로 제한되지 않음)을 생성할 수 있다. 방법의 일부 구현예에서, 비-인간 동물을 빈 인간(화) MHC 클래스 II 분자에 내성화하는 단계는 인간(화) MHC 분자, 또는 그의 적어도 인간 펩티드 결합 홈을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 그것의 게놈에 포함하기 위해 비-인간 동물을 유전적으로 변형시킴으로써 달성되고, 이로써 비-인간 동물은 빈 인간(화) MHC 분자, 또는 그의 빈 인간 펩티드 결합 홈으로서 인간(화) MHC

분자, 또는 그의 적어도 인간 펩티드 결합 홈을 발현한다. 인간(화) MHC 분자를 코딩하는 뉴클레오티드를 포함하도록 유전적으로 변형된 동일한 동물은 인간 또는 인간화 항원-결합 단백질 (예를 들어, 인간 또는 인간화 가변 도메인을 갖는 항원-결합 단백질이나 이에 제한되지 않음)을 발현하는 인간화 면역글로불린 무거운 사슬 및/또는 가벼운 사슬 유전자 좌위를 포함하도록 추가 변형될 수 있고/있거나 인간화 T 세포 수용체 가변 유전자 좌위를 포함하도록 추가로 변형될 수 있다. 방법의 일부 구현예에서, 비-인간 동물은 인간 또는 인간화 MHC II 알파 폴리펩티드 및/또는 인간 또는 인간화 MHC II 베타 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 포함한다. 예를 들어, US 2019/0292263을 참조하고, 이 특허는 모든 목적을 위해 그 전체가 참고로 포함된다. MHC II 뉴클레오티드 서열은 완전 인간인 MHC II 단백질 (예를 들어, 인간 HLA 클래스 II 분자로 제한되지 않음) 또는 부분적으로 인간이고 부분적으로 비-인간인 인간화 MHC 클래스 II 단백질 (예를 들어, 키메라 인간/비-인간 MHC II α 및 β 폴리펩티드를 포함하는 키메라 인간/비-인간 MHC II 단백질로 제한되지 않음)를 코딩할 수 있다. 인간화 (예를 들어, 키메라 인간/비-인간으로 제한되지 않음) MHC II 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 그의 게놈 내에 (예컨대, 비제한적으로 내인성 유전자 좌위에) 포함하는 유전적으로 변형된 비-인간 동물은 미국 특허 번호 8,847,005 및 9,043,996에 개시되어 있고, 각각의 간행물은 모든 목적을 위해 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0162] 키메라 인간/비-인간 MHC 분자의 인간 펩티드 결합 도메인에 대한 내성화가 내인성 MHC 유전자 좌위로부터의 발현에 의해 달성될 수 있지만, 일부 구현예에서 이러한 내성화는 또한 인간 MHC 클래스 II 분자 (또는 이의 기능적 펩티드 결합 도메인)를 이소성 유전자 좌위로부터 발현하는 비-인간 동물에서 일어날 수 있다. 추가로, 일부 구현예에서, 이소성 유전자 좌위로부터 빈 인간 MHC 클래스 II 분자 (또는 그의 빈 펩티드-결합 도메인)를 발현하고 그에 대해 내성화된 비-인간 동물은 인간 HLA 분자 (또는 그의 펩티드 결합 도메인, 또는 그의 유도체)에 대한 특이적 면역 반응을 발생시킬 수 있고, 그로부터 비-인간 동물이 항원성 펩티드 (예를 들어, 비-인간 동물에 이중인 펩티드로 제한되지 않음)와 복합체화된 인간 HLA 분자 (또는 그의 펩티드 결합-도메인 및/또는 그의 유도체)에 의해 면역화될 때 발현된 인간 MHC 클래스 II 분자가 유래된다. 이론에 얽매이지 않고, 비-인간 동물의 내성화는 인간 또는 인간화된 MHC 클래스 II 분자의 발현 시에 발생하는 단계로 믿어진다. 이와 같이, 인간 또는 인간화 MHC 클래스 II 분자가 내인성 유전자 좌위로부터 발현될 필요는 없다.

[0163] 일부 구현예에서, 이러한 방법은 내인성 펩티드에 대한 내성을 파괴하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 특이적 펩티드-MHC-클래스-II-결합 단백질 및 펩티드-MHC-클래스를 얻기 위한 항원성 펩티드-MHC 클래스 II 복합체로 비-인간 동물(예를 들어, 설치류, 예컨대 마우스 또는 랫트이나 이에 제한되지 않음)의 면역화는 비-인간 동물에서의 내인성 단백질과, 비-인간 동물의 면역계가 비-자체 (즉, 외래)로서 펩티드-MHC 클래스 II 복합체를 인식할 수 있도록 제시된 이중 단백질 사이의 서열 차이에 의존한다. 자가-펩티드-MHC 클래스 II 복합체와 고도의 상동성을 갖는 펩티드-MHC 클래스 II 복합체에 대한 항체 및 T 세포/TCR의 생성은 일부 경우에 자가-펩타이드-MHP 클래스 II 복합체의 면역학적 내성으로 인해 어려운 작업일 수 있다. 관심 펩티드와 상동인 자가 펩티드에 대한 내성을 파괴하는 방법은 잘 알려져 있다. 예를 들어, 미국 공보 번호 20170332610을 참조하고, 이 특허는 모든 목적을 위해 그 전체가 참고로 포함된다. 이러한 방법의 일부 구현예에서, 내인성 펩티드에 대한 내성을 파괴하는 방법은 관심 펩티드와 고도의 상동성을 갖는 자가-펩티드의 결실 (예를 들어, 녹아웃 돌연변이이나 이에 제한되지 않음)을 포함하도록 본원의 비-인간 동물을 변형시키는 단계를 포함한다.

[0164] 본원의 일부 구현예에 개시된 방법에서 비-인간 동물은 예를 들어 포유동물과 같은 임의의 유형의 비-인간 동물을 포함할 수 있다. 포유동물은, 예를 들어, 인간, 비-인간 포유동물, 비-인간 영장류, 원숭이, 유인원, 고양이, 개, 말, 황소, 사슴, 들소, 양, 토끼, 설치류 (예를 들어, 마우스, 랫트, 햄스터, 및 기니아 피그로 제한되지 않음), 및 가축 (예를 들어, 소 중 예컨대 소 및 거세 숫소; 양 중 예컨대 양 및 염소; 및 돼지 중 예컨대 돼지 및 수태지로 제한되지 않음)을 포함할 수 있다. 새에는 예를 들어 닭, 칠면조, 타조, 거위 및 오리 포함된다. 사육 동물과 농업용 동물도 포함된다. 용어 "비-인간 포유동물"은 인간을 제외한다. 비-인간 포유동물의 특이적인 비제한적 예는 마우스 및 랫트와 같은 설치류를 포함한다.

[0165] 상기 또는 하기 인용된 모든 특허 출원, 웹사이트, 다른 공보, 수탁 번호 등은 각각의 개별 항목이 참조로 포함되는 것으로 구체적이고 개별적으로 명시된 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전문이 참고로 포함된다. 본 발명의 임의의 특징, 단계, 요소, 구현예 또는 양태는 달리 구체적으로 나타내지 않는 한 임의의 다른 것과 조합되어 사용될 수 있다. 본 발명이 명확성 및 이해의 목적을 위해 예시 및 실시예에 의해 일부 상세하게 기술되었지만, 특이적 변화 및 변형이 첨부된 청구범위의 범주 내에서 실시될 수 있음이 명백할 것이다.

[0166] **서열의 간단한 설명**

[0167]

첨부된 서열 목록에 나열된 뉴클레오티드 및 아미노산 서열은 뉴클레오티드 염기에 대한 표준 문자 약어 및 아미노산에 대한 세 글자 코드를 사용하여 표시된다. 뉴클레오티드 서열은 서열의 5' 말단에서 시작하여 3' 말단까지 앞으로(즉, 각 줄에서 왼쪽에서 오른쪽으로) 진행되는 표준 관례를 따른다. 각 뉴클레오티드 서열의 한 가닥만 표시되지만 상보적 가닥은 표시된 가닥에 대한 참조에 의해 포함되는 것으로 이해된다. 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 제공되는 경우, 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 그의 코돈 축퇴 변이체도 제공되는 것으로 이해된다. 아미노산 서열을 코딩하는 DNA 서열이 제공될 때, 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 RNA 서열도 (티민을 우라실로 대체함으로써) 제공되는 것으로 이해된다. 아미노산 서열은 서열의 아미노 말단에서 시작하여 카복시 말단까지 앞으로(즉, 각 줄에서 왼쪽에서 오른쪽으로) 진행되는 표준 관례를 따른다.

표 1. 서열의 설명.

서열번호	유형	설명
1	단백질	링커 v1
2	단백질	링커 v2
3	단백질	링커 v3
4	단백질	링커 v4
5	단백질	링커 v5
6	단백질	링커 v6
7	단백질	링커 v7
8	단백질	링커 v8
9	단백질	링커 v9
10	단백질	링커 v10
11	단백질	링커 v11
12	단백질	링커 v12
13	단백질	링커 v13
14	단백질	링커 v14
15	단백질	링커 v15
16	단백질	링커 v16
17	단백질	링커 v17
18	단백질	링커 v18
19	단백질	링커 v19
20	단백질	링커 v20
21	단백질	링커 v21
22	단백질	TEV 프로테아제 절단 부위
23	단백질	Fos 류신 지퍼 모티프
24	단백질	Jun 류신 지퍼 모티프
25	단백질	PADRE
26	단백질	LCMV 에피토프 GP ₆₋₂₀
27	단백질	LCMV 에피토프 GP ₃₁₋₄₅
28	단백질	LCMV 에피토프 GP ₆₆₋₈₀
29	단백질	LCMV 에피토프 GP ₁₂₆₋₁₄₀
30	단백질	LCMV 에피토프 GP ₁₇₆₋₁₉₀
31	단백질	LCMV 에피토프 GP ₁₈₆₋₂₀₀
32	단백질	LCMV 에피토프 GP ₃₁₆₋₃₃₀
33	단백질	LCMV 에피토프 GP ₄₀₉₋₄₂₃
34	단백질	LCMV 에피토프 NP ₆₋₂₀
35	단백질	LCMV 에피토프 NP ₈₆₋₁₀₀
36	단백질	LCMV 에피토프 NP ₁₁₆₋₁₃₀
37	단백질	LCMV 에피토프 NP ₁₇₆₋₁₉₀

[0168]

서열번호	유형	설명
38	단백질	LCMV 에피토프 NP ₃₁₁₋₃₂₅
39	단백질	LCMV 에피토프 NP ₄₆₆₋₄₈₀
40	단백질	LCMV 에피토프 NP ₄₉₆₋₅₁₀
41	단백질	LCMV 에피토프 Z ₃₁₋₄₅
42	단백질	BirA tag
43	단백질	mmH tag
44	단백질	QLQ 펩티드
45	단백질	FPQ 펩티드
46	단백질	PQP 펩티드
47	단백질	링커 v22
48	단백질	mmH tag v2
49	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬 (UniProt 수탁 번호 P01909-1)
50	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 베타 1 사슬 (NCBI 수탁 번호 NP_001230891.1)
51	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DP 알파 1 사슬 (UniProt 수탁 번호 P20036-1)
52	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DR 알파 사슬 (UniProt 수탁 번호 P01903-1)
53	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—R101C
54	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—C70A_R101C
55	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—C70Q
56	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—C70A
57	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—C70Q_R101C
58	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DR 알파 사슬—F79C
59	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬 세포외 도메인
60	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 베타 1 사슬 세포외 도메인
61	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DP 알파 1 사슬 세포외 도메인
62	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DR 알파 사슬 세포외 도메인
63	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—R101C 세포외 도메인
64	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—C70A_R101C 세포외 도메인
65	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—C70Q 세포외 도메인
66	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—C70A 세포외 도메인

[0169]

서열번호	유형	설명
67	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DQ 알파 1 사슬—C70Q_R101C 세포외 도메인
68	단백질	HLA 클래스 II 조직적합성 항원, DR 알파 사슬—F79C 세포외 도메인
69	단백질	글리아딘 αII 에피토프
70	단백질	글리아딘 ω2 에피토프
71	단백질	글리아딘 αI 에피토프 P-1 내지 P9
72	단백질	글리아딘 αII 에피토프 P-1 내지 P9
73	단백질	글리아딘 ω2 에피토프 P-1 내지 P9

[0170]

[0171]

실시예

[0172]

실시예 1. 펩티드-MHC II 단백질 작제물의 설계

[0173]

가용성 펩티드-MHC I 단백질 작제물의 예들이 이전에 설명된 바 있다. 이러한 작제물은 다양한 적용에 사용될 수 있는데, 예컨대 VELOCIMMUNE[®] 설치류를 면역화하여 흡 내 항-펩티드 항체들을 생성하는 데 사용될 수 있다.

본 실시예는 MHC II 분자의 알파 및 베타 사슬이 그것의 홈의 펩티드에 함께 고정된 펩티드-MHC II 단백질 작제물의 설계를 설명한다. 이들은 다양한 적용, 예컨대 MHC 클래스 II-펩티드 특이적 T 세포 수용체(TCR)를 발현하는 T 세포의 동원을 비롯한 다른 적용을 위한 막-고정 MHC II 단백질 뿐만 아니라 면역원으로 작용하는 가용성 MHC II 작제물의 생성에 사용될 수 있다. 가용성 또는 막-고정 MHC II 단백질은 또한 상이한 질환 설정에서 활성 또는 생존력을 조절하기 위해 MHC 클래스 II-펩티드 특이적 T 세포 수용체 (TCR)를 발현하는 T 세포의 특이적 표적화를 위해 사용될 수 있다.

[0174] 다양한 가용성 펩티드-MHC II 작제물은 도 1에서 나타난 바와 같이 설계하였다. 가용성 펩티드-MHC II 작제물의 설계를 표 2에 제공하였다. 작제물 중 일부에는 대장균 바이오틴 리가제(BirA) 및 myc-myc-히스티딘(mmH) 태그가 포함되나, 다른 태그(예를 들어, 비제한적으로, 글루타티온-s-트랜스퍼라제(GST), 말토스 결합 단백질(MBP), 키틴 결합 단백질(CBP), FLAG, 또는 1D4)도 사용될 수 있다. 작제물(C70Q 돌연변이 또는 R101C 및 C70A 돌연변이 둘 모두)에 사용된 전장 DQ2 알파 사슬 분절의 정렬은 도 2에 도시되어 있다. C70 돌연변이와 관련하여, 넘버링은 주어진 작제물에 대한 참조 서열 또는 선택된 신호 서열을 기초로 달라질 수 있다. C70은 UniProt 등록 번호 P01909-1(서열번호: 49)로 지정된 전장 HLA-II DQ 알파 1 사슬 서열 내의 위치이다. C70Q 돌연변이가 있는 전장 HLA-II DQ 알파 1 사슬 서열의 버전은 서열번호: 55에 제시되었고, R101C 및 C70A 돌연변이가 둘 다 있는 전장 HLA-II DQ 알파 1 사슬 서열의 버전은 서열번호: 54에 제시되었다. 하기에 테스트된 가용성 HLA-DQ2 작제물에 포함된 전장 HLA-II DQ 알파 1 사슬의 부분들은 서열번호: 49(R101 또는 C70 돌연변이 없음), 서열번호: 55(C70Q 돌연변이), 또는 서열번호: 54의 잔기 24~216(R101C 및 C70A 돌연변이)을 포함하였다. 전장 HLA-II DQ 베타 1 사슬 서열의 버전은 NCBI 등록 번호 NP_001230891.1(서열번호: 50)로 지정하였다. 하기에 테스트된 가용성 HLA-DQ2 작제물에 포함된 전장 HLA-II DQ 베타 1 사슬의 부분들은 서열번호: 50의 잔기 33~230을 포함하였다. 상이한 HLA 클래스 II 대립유전자의 전장 알파 사슬 분절의 정렬은 도 3에 도시되어 있다.

표 2. 가용성 HLA-DQ2 작제물

작제물	설명
A	<ul style="list-style-type: none"> - Jun/Fos 지퍼에 연결된 MHC 클래스 IIα 및 β 세포의 도메인 <ul style="list-style-type: none"> o SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 Fos 지퍼에 연결된 쌍을 이루지 않은 Cys 돌연변이(C70Q)를 가진 MHC 클래스 II α 세포의 도메인 o SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 Jun 지퍼에 연결된 MHC 클래스 IIβ 세포의 도메인 - 펩티드는 디설파이드-스테인플드가 아님(링커에 Cys 없음) - QLQ 펩티드로 생산됨(정제 수율 14 mg/L)
B	<ul style="list-style-type: none"> - Jun/Fos 지퍼에 연결된 MHC 클래스 IIα 및 β 세포의 도메인 <ul style="list-style-type: none"> o Fos 지퍼에 연결된 α 의 돌연변이(C70A, R101C)를 갖는 MHC 클래스 IIα 세포의 도메인 o SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 Jun 지퍼에 연결된 MHC 클래스 IIβ 세포의 도메인 - 펩티드-β 링커 중 Cys 와 α 의 R101C 돌연변이 사이의 디설파이드 스테이플 - QLQ, FPQ, 및 PQP 펩티드로 생산됨(각각, 정제 수율 204, 36, 및 0.9 mg/L)
C	<ul style="list-style-type: none"> - 단백질 A 에 대한 Fc 의 차등 결합을 허용하는 데이비스(Davis)-바더 변형(*) - a CH3 변형을 포함하는 면역글로블린 Fc 도메인에 연결된 MHC 클래스 II α 및 β 세포의 도메인(예를 들어, 미국 특허 번호 제 8,586,713 호 참고, 본원에 모든 목적을 위해 전체적으로 참조로 포함됨) - 온전한 MHC 클래스 IIα 중 쌍을 이루지 않은 Cys(C70) - 펩티드는 디설파이드 스테이플드가 아님(링커 중 Cys 없음) - QLQ 펩티드로 생산됨(정제 수율 2.4 mg/L)

[0175] 작제물 A-C에서 양성 수율을 관찰하였다. 친화성 및 크기 배제 크로마토그래피를 비롯한 표준 절차를 사용하여 단백질을 정제하였다. UV 흡광도 및 단백질의 아미노산 조성물에 기초하여 계산된 흡광 계수에 의해, 정제 후 수득된 최종 단백질 양을 결정하였다. 정제된 단백질의 질량을 배양 배지의 부피로 나눔으로써, 생산 수율을 계산하였다. 작제물 A는 QLQFPQPPELPY(서열번호: 44, "QLQ" 펩티드) 펩티드에 공유 결합되었을 때, 정제 수율 14 mg/L를 생산하였다. 작제물 C는 QLQ 펩티드(서열번호: 44)에 공유 결합되었을 때, 정제 수율 2.4 mg/L를 생산하였다. 작제물 B는 QLQ 펩티드(서열번호: 44), FPQPEQPFPWQP(서열번호: 45; "FPQ" 펩티드), 및 PQPELPYPQQL(서열번호: 46; "PQP" 펩티드)에 별도로 공유 결합되었고, 각각 정제 수율 204 mg/L, 36 mg/L, 및 0.9 mg/L을 생

산하였다. 결과의 요약을 표 3에 나타내었다.

- [0177] 하기를 함유하는 펩티드-MHC II 작제물로 측정가능하게 일관된 수율의 가용성 단백질을 생산하였다:
- [0178] (1) SGGGGG(서열번호: 1) 링커가 구비된 MHC II의 α 및 β 사슬에 연결된 C-말단에 위치한 jun/fos 지퍼;
- [0179] (2) MHC II의 α 사슬에 도입된 R101C 돌연변이;
- [0180] (3) 펩티드에 연결된 β 사슬의 N-말단에 위치한 링커로서, 추가의 Cys 돌연변이를 포함하여 링커 Cys와 MHC II의 α 사슬에 도입된 R101C 돌연변이 사이의 디설파이드 결합의 형성을 허용하는, 링커; 그리고
- [0181] (4) α 사슬에서 쌍을 이루지 않은 Cys의 제거(C70A 돌연변이).
- [0182] DQA1*0501 중 쌍을 이루지 않은 Cys는 서열 정렬에 기초하여 다른 종으로부터 가장 가까운 MHC 서열에서 Trp, Arg, 또는 Gln으로 치환되어, 이들 잔기의 돌연변이가 대신 사용될 수 있다.

표 3. 가용성 HLA-DQ2 작제물 - 정제 수율

작제물	설명 (펩티드)	αCys 돌연변이	스테이플드	펩티드 링커	액토-Jun/Fos 링커	생산됨	생산 추정 수율 (mg/L)	정제 수율 (mg/L)
C	HLA-DQ2-Fc/Fc* (QLQ)	없음	아니오	GGGGSENLYFQGGGGS (서열번호: 47)	N/A	예	12	2.4
A	HLA-DQ2-Jun/Fos (QLQ)	C70Q	아니오	GGGGSENLYFQGGGGS (서열번호: 47)	SGGGGG (서열번호: 1)	예	30	14
B	HLA-DQ2-Jun/Fos (QLQ), FPQ-, 또는 PQP-스테이플드)	C70A, R101C	예	GCGGSGGGGSGGGGGS (서열번호: 21)	SGGGGG (서열번호: 1)	예	200 (QLQ) 100 (FPQ) 10 (PQP)	204 (QLQ) 36 (FPQ) 0.9 (PQP)

- [0183]
- [0184] 2개의 상이한 Biacore 검정을 통해, MHC 클래스 II 단백질에 대한 항체들을 결합시키는 MHC 작제물의 능력을 테스트하였다. 양쪽 검정 형식 모두에서, 사용된 기기는 Octet HTX였고, 칩(chip) 유형은 항-마우스 또는 항-인간 Fc 코팅된 Octet 바이오센서 중 하나였고, 상기 검정은 25°C의 온도에서 실행하였고, 실행 완충액은 HBS-ET + 1 mg/mL BSA였으며, 포집 혼합물 및 시간은 1000 rpm 및 1분이었고, 샘플 주입 혼합물 및 시간은 1000 rpm 및 2분이었다.
- [0185] 작제물 C를 분석하여 단클론성 항체에 결합됨을 입증하였다. 제1 실험에서, 항-mFc 코팅된 Octet 바이오센서를 100 nM의 mAb를 함유한 웰에 1분 동안 담가서, ~0.8 nm의 팬-클래스 II 항-HLA mAb 또는 항-DR/DQ mAb를 포획하였다. 이어서 mAb-포획 센서를 200 nM의 작제물 C를 함유한 웰에 침지시켰다. 도 4 및 표 4에서 나타난 바와 같이, 가용성 작제물 C는 항-mFc 센서 표면에 포획된 항-클래스 II 단클론성 항체 둘 모두에 결합되었으나, 이소형 대조군 mAb에는 결합되지 않았다. 제2 실험에서, 항-hFc 코팅된 Octet 바이오센서를 200 nM의 작제물 C를 함유한 웰에 1분 동안 담가서, ~1 nm의 작제물 C를 포획하였다. 이어서, 작제물-C-포획 센서를 100 nM의 팬-클래스 II 항-HLA mAb 또는 항-DR/DQ mAb를 함유한 웰에 침지시켰다. 도 5 및 표 5에서 나타난 바와 같이, 항-hFc 센서 표면에 포획된 가용성 작제물 C는 항-클래스 II 단클론성 항체 둘 모두에 결합되었으나, 이소형 대조군 mAb에는 결합되지 않았다. 팬-클래스 II 항-HLA 항체들은 적절하게 절첩된 HLA 단백질에만 결합되어서, 생산 및 정제된 단백질의 형태적 무결성을 입증할 수 있었다.

표 4. 작제물 C가 항-mFc 센서 표면에 포획된 항-클래스 II mAbs 에 결합된다.

포획된 mAb	mAb 포획 수준 (nm)	200nM 작제물 C 결합됨 (nm)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t½ (min)	Rmax (RU)
팬-클래스 II 항-HLA mAb	0.80	0.39	2.34E+05	5.74E-03	2.45E-08	2.0	0.44
항-DR/DQ mAb	0.99	0.19	5.09E+05	1.11E-01	2.19E-07	0.1	0.45
이소타입 대조군 mAb	1.07	-0.02	NB (결합 없음)	NB	NB	NB	NB

[0186]

표 5. 항-hFc 센서 표면에 포획된 작제물 C가 항-클래스 II mAbs 에 결합된다

포획된 mAb	작제물 C 포획 수준 (nm)	결합된 100nM mAb (nm)
팬-클래스 II 항-HLA mAb	1.02	0.40
항-DR/DQ mAb	0.94	0.40
이소타입 대조군 mAb	0.98	-0.01

[0187]

[0188]

작제물 B를 분석하여 단클론성 항체에 결합됨을 입증하였다. 제1 실험에서, 항-mFc 코팅된 Octet 바이오센서를 100 nM의 mAb를 함유한 웰에 1분 동안 담가서, ~0.8 nm의 팬-클래스 II 항-HLA mAb 또는 항-DR/DQ mAb을 포획하였다. 이어서, mAb-포획 센서를 200 nM의 작제물 B를 함유한 웰에 침지시켰다. 가용성 작제물 B는 항-mFc 센서 표면에 포획된 항-클래스 II 단클론성 항체들 둘 다에 결합되었으나, 이소형 대조군 mAb에는 결합되지 않았다. 제2 실험에서, 항-hFc 코팅된 Octet 바이오센서를 200 nM의 작제물 B를 함유한 웰에 1분 동안 담가서, ~1 nm의 작제물 B를 포획하였다. 이어서, 작제물-B-포획 센서를 100 nM의 팬-클래스 II 항-HLA mAb 또는 항-DR/DQ mAb를 함유한 웰에 침지시켰다. 항-hFc 센서 표면에 포획된 가용성 작제물 B는 항-클래스 II 단클론성 항체들 둘 다에 결합되었으나, 이소형 대조군 mAb에는 결합되지 않았다. 팬-클래스 II 항-HLA 항체들은 적절하게 절접된 HLA 단백질에만 결합되어서, 생산 및 정제된 단백질의 형태적 무결성을 입증할 수 있었다.

[0189]

실시예 2. 마우스의 내성화

[0190]

빈 MHC 클래스 II 분자에 대해 내성화된 마우스를 생성 및 제공하였는데, 여기서 MHC 클래스 II 분자는 마우스에서 유래되지 않았다(예를 들어, 비제한적으로, 인간 유래). 예를 들어, 상응하는 내인성 유전자 좌위 또는, 상응하는 내인성 유전자 좌위와 다른 유전자 좌위(예를 들어, 비제한적으로, ROSA26 유전자 좌위)로부터 MHC 클래스 II 분자를 발현하는 제1 마우스를 빈 MHC 클래스 II 분자에 대해 내성화하였다. 이어서, 이들 내성화된 마우스에 면역원(예를 들어, 홈에 면역원성 펩티드를 포함하는 MHC 클래스 II 분자, 예컨대 실시예 1의 작제물 A, 작제물 B, 또는 작제물 C)을 주사하였다. 이들 면역화된 마우스는 빈 MHC 클래스 II 분자에 대해 내성화되지 않은 마우스와 비교할 때, 이와 같은 특이적 면역원에 대한 특이적 항체 역가를 생산하였다. 대신에, 대상 MHC 클래스 II 분자에 대해 내성화 및 면역화되지 않은 마우스는 상기 면역원성 펩티드를 인식할 뿐만 아니라, MHC 클래스 II 분자를 인식하는 항체들을 생성하였다. 따라서, 본원에 설명된 MHC 클래스 II 분자로 면역화된 내성화된 마우스는 MHC 클래스 II 분자 단독에 대한 항체들을 생성하지 않으면서 상기 항원에 특이적인 면역 반응을 생성할 수 있다.

[0191]

실시예 3. MHC 단백질 작제물을 이용한 내성화된 마우스의 면역화

[0192]

면역화 및 스크리닝을 위해 DNA 및 가용성 이량체 단백질로서 HLA-DQB 사슬에 테더링하는 펩티드를 선택하였다. 면역화 및 스크리닝을 위해 HLA-DQB 사슬에 테더링된 펩티드를 구비한 작제물의 예들의 개략도를 도 6a 및 6b에 나타내었다.

[0193]

마우스(예를 들어, 인간화된 면역글로불린 무거운 사슬 및/또는 가벼운 사슬 가변 영역 유전자 좌위를 포함하는 마우스)를 마우스에 항원성인 펩티드 및 마우스가 내성화된 대상인 상기 인간 또는 인간화된 MHC 클래스 II 분자를 포함하는 관심대상 펩티드-MHC(pMHC) 복합체로 면역화하였다. 추가로 그리고 선택적으로, 관심 대상의 pMHC 복합체로 마우스를 촉진하였고, 촉진제는 또한 선택적으로 헬퍼 T 세포 에피토프에 연결시켰다. 항체(예를 들어, 인간화된 면역글로불린 무거운 사슬 및/또는 가벼운 사슬 유전자 좌위에서 발현된 인간 또는 인간화된 항체)를 면역화된 마우스에서 단리하여, pMHC 복합체에 대한 결합 특이성을 테스트하였다.

[0194]

인간 MHC II 분자에 대해 내성화되고, 인간화된 면역글로불린 무거운 사슬 유전자 좌위를 코딩하는 뉴클레오티

드 서열(예를 들어, Macdonald (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111:5147-5152 참고, 이는 모든 목적을 위해 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함됨) 및 인간화된 공통 가벼운 사슬 유전자 좌위(예를 들어, 미국 특허 번호 제10,143,186호; 제10,130,081호 및 제9,969,814호; 미국 특허 공보 번호 제20120021409호, 제20120192300호, 제20130045492호, 제20130185821호, 제20130302836호, 및 제20150313193호 참고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 포함됨)를 포함하는 테스트 마우스를 제공하였다. 이들 테스트 마우스 및, 기능적(예를 들어, 뮤린) ADAM6 유전자(예를 들어, 미국 특허 번호 제8,642,835호 및 제8,697,940호 참고; 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 포함됨) 및 인간화된 면역글로불린 무거운 사슬 및 가벼운 사슬 유전자 좌위를 포함하는 내성화되지 않은 대조군 마우스를, HLA-DQ 분자의 맥락에서 제시된 홈 내 이종성 펩티드를 포함하는 pMHC 복합체로 면역화하였는데, 여기서 면역원을 단백질 면역원 또는 상기 pMHC 복합체를 코딩하는 DNA로서 투여하였다. 표준 보조제와 함께 pMHC 복합체 면역원을 사용하여, 또는 T 펩퍼 팬-DR 에피토프(PADRE) 펩티드에 연결된 pMHC 복합체 면역원을 사용하여, 다양한 시간 간격에 상이한 경로로 마우스를 촉진하였다. 면역화의 개시 전에 마우스에서 면역 전 혈청을 수집하였다. 마우스에서 주기적으로 채혈하여 각각의 항원에 대한 항-혈청 역가를 검정하였다.

[0195] ELISA를 사용하여, HLA-DQ(홈내 펩티드)의 맥락에서 제시된 무관한 항원(즉, 마우스가 경험한 적이 없고, 따라서 적정 시 유의미한 반응을 유도할 것으로 예상되지 않는 항원) 및 관련 항원에 대한 혈청의 항체 역가를 결정하였다. 포스페이트-완충 식염수(PBS, Irvine Scientific) 중 HLA-DQ의 맥락에서 제시된 관련 홈 내 펩티드 또는 무관한 항원을 포함하는 태깅된 pMHC 복합체로 96개 웰 미세적정 플레이트(Thermo Scientific)를 밤새 코팅하였다. 플레이트를 0.05% Tween 20(PBS-T, Sigma-Aldrich)을 함유한 포스페이트-완충 식염수로 세척하고, PBS 중 소 혈청 알부민(BSA, Sigma-Aldrich)으로 차단하였다.

[0196] BSA-PBS에서 면역 전 및 면역 항-혈청을 연속적으로 희석하여 상기 플레이트에 적가하였다. 플레이트를 세척하고, 항-마우스 IgG-Fc-홀스래디쉬(Horse Radish) 과산화효소(HRP)-접합 이차 항체를 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 세척하고, 제조사의 권장된 절차에 따라 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)/H2O2를 기질로 사용하여 플레이트를 현상시키고, 분광광도계(Victor, Perkin Elmer)를 사용하여 450 nm에서의 흡광도를 기록하였다. Graphpad PRISM 소프트웨어를 사용하여 항체 역가를 계산하였다. 결합 신호가 배경에 비해 2배인 보간된 혈청 희석 계수로서 항체 역가를 계산하였다.

[0197] 인간 HLA 클래스 II 분자 또는 그의 부분에 대해 마우스를 내성화하는 단계는, 인간 HLA 클래스 II 분자에 대해 내성화되지 않은 대조군 마우스와 비교하여, 관심 pMHC에 대한 특이적 항체 반응을 생성하는 마우스의 능력을 향상시켰다.

[0198] 실시예 4. 펩티드-MHC II 단백질 작제물 중 상이한 펩티드들의 테스트

[0199] 상이한 변이의 글리아딘 면역원을 구비한 다양한 가용성 펩티드-MHC II 작제물을 설계하여, MHC 리간드 펩티드에 대한 가변성 파라미터를 테스트하고 상이한 리간드 펩티드가 구비된 작제물의 발현을 확인하였다. 구체적으로, αI 글리아딘, αII 글리아딘 및 ω2 글리아딘의 변이(표 6)를 테스트하였다.

표 6. 글리아딘 에피토프

에피토프	P-3	P-2	P-1	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
αI(서열번호: 44)	Q	L	Q	P	F	P	Q	P	E	L	P	Y
αII(서열번호: 69)	Q	P	F	P	Q	P	E	L	P	Y	P	Q
ω2(서열번호: 70)	Q	P	F	P	Q	P	E	Q	P	F	P	W

[0200] 하기 테스트한 가용성 HLA-DQ2 작제물에 포함된 전장 HLA-II DQ 알파 1 사슬의 부분은 서열번호: 54의 잔기 24-216(R101C 및 C70A 돌연변이; 서열번호: 64)을 포함하였다. 하기 테스트한 가용성 HLA-DQ2 작제물에 포함된 전장 HLA-II DQ 베타 1 사슬의 부분은 서열번호: 50의 잔기 33-230(서열번호: 60)을 포함하였다. 가용성 펩티드-MHC II 작제물의 설명을 표 7에 제공하였다. 작제물의 일부가 PADRE를 포함하였으나, 다른 T 세포 에피토프도 사용할 수 있다. 표 7에 나타난 바와 같이, 모든 작제물에서 양성 수율을 관찰하였다.

표 7. 가용성 HLA-DQ2 작제물

글리아딘 펩티드	작제물 설명	수율 (mg)
αI-글리아딘, P-3 ~ P9: QLQPFQPPELPY (서열번호: 44)	Jun/Fos 지퍼에 연결된 MHC 클래스 II α 및 β 세포의 도메인 - Fos 지퍼(서열번호: 23)에 연결된 α의 돌연변이(C70A, R101C; 서열번호: 64)를 갖는 MHC 클래스 II α 세포의 도메인 - SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 Jun 지퍼(서열번호: 24)에 연결된 MHC 클래스 II β 세포의 도메인(서열번호: 60) 펩티드-β 링커(GCGGSGGGGSGGGGS; 서열번호: 21) 중 Cys와 α의 R101C 돌연변이 사이의 디설파이드 스테이플	102
αI-글리아딘, P-1 ~ P9: QPFQPPELPY (서열번호: 71)	Jun/Fos 지퍼에 연결된 MHC 클래스 II α 및 β 세포의 도메인 - Fos 지퍼(서열번호: 23)에 연결된 α의 돌연변이(C70A, R101C; 서열번호: 64)를 갖는 MHC 클래스 II α 세포의 도메인 - GGGGSGGGG(서열번호: 14) 링커에 의해 PADRE(서열번호: 25)에 추가로 연결된 Jun 지퍼(서열번호: 24)에 SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 연결된 MHC 클래스 II β 세포의 도메인(서열번호: 60) 펩티드-β 링커(GCGGSGGGGSGGGGS; 서열번호: 21) 중 Cys와 α의 R101C 돌연변이 사이의 디설파이드 스테이플	135
αII-글리아딘, P1 ~ P12: PQPELPYPQPQL (서열번호: 46)	Jun/Fos 지퍼에 연결된 MHC 클래스 II α 및 β 세포의 도메인 - Fos 지퍼(서열번호: 23)에 연결된 α의 돌연변이(C70A, R101C; 서열번호: 64)를 갖는 MHC 클래스 II α 세포의 도메인 - SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 Jun 지퍼(서열번호: 24)에 연결된 MHC 클래스 II β 세포의 도메인(서열번호: 60) 펩티드-β 링커(GCGGSGGGGSGGGGS; 서열번호: 21) 중 Cys와 α의 R101C 돌연변이 사이의 디설파이드 스테이플	0.4
αII-글리아딘, P-1 ~ P9: FPQPELPYPQ (서열번호: 72)	Jun/Fos 지퍼에 연결된 MHC 클래스 II α 및 β 세포의 도메인 - Fos 지퍼(서열번호: 23)에 연결된 α의 돌연변이(C70A, R101C; 서열번호: 64)를 갖는 MHC 클래스 II α 세포의 도메인 - GGGGSGGGG(서열번호: 14) 링커에 의해 PADRE(서열번호: 25)에 추가로 연결된 Jun 지퍼(서열번호: 24)에 SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 연결된 MHC 클래스 II β 세포의 도메인(서열번호: 60) 펩티드-β 링커(GCGGSGGGGSGGGGS; 서열번호: 21) 중 Cys와 α의 R101C 돌연변이 사이의 디설파이드 스테이플	2.1
ωII-글리아딘, P-1 ~ P11: FPQPEQFPWPQ P (서열번호: 45)	Jun/Fos 지퍼에 연결된 MHC 클래스 II α 및 β 세포의 도메인 - Fos 지퍼(서열번호: 23)에 연결된 α의 돌연변이(C70A, R101C; 서열번호: 64)를 갖는 MHC 클래스 II α 세포의 도메인 - SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 Jun 지퍼(서열번호: 24)에 연결된 MHC 클래스 II β 세포의 도메인(서열번호: 60) 펩티드-β 링커(GCGGSGGGGSGGGGS; 서열번호: 21)의 Cys와 α의 R101C 돌연변이 사이의 디설파이드 스테이플	18
ωII-글리아딘, P-1 내지 P9: FPQPEQFPWP (서열번호: 73)	Jun/Fos 지퍼에 연결된 MHC 클래스 II α 및 β 세포의 도메인 - Fos 지퍼(서열번호: 23)에 연결된 α의 돌연변이(C70A, R101C; 서열번호: 64)를 갖는 MHC 클래스 II α 세포의 도메인 - GGGGSGGGG(서열번호: 14) 링커에 의해 PADRE(서열번호: 25)에 추가로 연결된 Jun 지퍼(서열번호: 24)에 SGGGGG(서열번호: 1) 링커에 의해 연결된 MHC 클래스 II β 세포의 도메인(서열번호: 60) 펩티드-β 링커(GCGGSGGGGSGGGGS; 서열번호: 21) 중 Cys와 α의 R101C 돌연변이 사이의 디설파이드 스테이플	2

[0202]

[0203]

친화성 및 크기 배제 크로마토그래피를 비롯한 표준 절차를 사용하여 단백질을 정제하였다. UV 흡광도 및, 단백질의 아미노산 조성물에 기초하여 계산된 흡광 계수에 의해, 정제 후 수득된 최종 단백질 양을 결정하였다. 정제된 단백질의 질량을 배양 배지의 부피로 나눔으로써, 생산 수율을 계산하였다.

[0204]

2개의 상이한 Biacore 검정을 통해 MHC 클래스 II 단백질에 대한 항체를 결합시키는 펩티드-MHC 작제물의 능력을 테스트하였다. 양쪽 검정 양식 모두에서, 사용된 기기는 Octet HTX이었고, 칩(chip) 유형은 항-마우스 또는 항-인간 Fc 코팅된 Octet 바이오센서였으며, 검정은 25°C의 온도에서 실행되었고, 실행 완충액은 HBS-ET + 1 mg/mL BSA였고, 상기 포획 혼합물 및 시간은 1000 rpm 및 1 분이고, 상기 샘플 주입 혼합물 및 시간은 1000 rpm 및 2 분이었다.

[0205]

각각의 작제물을 분석하여 단클론성 항체에 결합됨을 입증하였다. 제1 실험에서, 항-mFc 코팅된 Octet 바이오센서를 100 nM의 mAb를 함유한 웰에 1분 동안 담가서, ~0.8 nm의 팬-클래스 II 항-HLA mAb 또는 항-DR/DQ mAb를 포획하였다. 이어서, mAb-포획 센서를 200 nM의 펩티드-MHC 작제물을 함유한 웰에 침지시켰다. 가용성 펩티드-MHC 작제물은 항-mFc 센서 표면에 포획된 항-클래스 II 단클론성 항체들 모두에 결합되었으나, 이소형 대조군

mAb에는 결합되지 않았다. 제2 실험에서, 항-hFc 코팅된 Octet 바이오센서를 200 nM의 펩티드-MHC 작제물을 함유한 웰에 1분 동안 담가서, ~1 nm의 펩티드-MHC 작제물을 포획하였다. 이어서, 펩티드-MHC-작제물-포획 센서를 100 nM의 팬-클래스 II 항-HLA mAb 또는 항-DR/DQ mAb를 함유하는 웰에 침지시켰다. 항-hFc 센서 표면에 포획된 가용성 펩티드-MHC 작제물은 양쪽 항-클래스 II 단클론성 항체들에 결합되었으나, 이소형 대조군 mAb에 결합되지 않았다. 팬-클래스 II 항-HLA 항체들은 적절하게 절첩된 HLA 단백질에만 결합되어서, 생산 및 정제된 단백질의 형태적 특이적을 입증할 수 있었다.

[0206] 이어서, 빈 MHC 클래스 II 분자에 대해 내성화된 마우스를 생성 또는 제공하였는데, 여기서 MHC 클래스 II 분자는 마우스에서 유래된 것이 아니다(예를 들어, 비제한적으로, 인간 유래). 예를 들어, 상응하는 내인성 유전자 좌위 또는, 상기 상응하는 내인성 유전자 좌위와 다른 유전자 좌위(예를 들어, 비제한적으로, ROSA26 유전자 좌위)에서 유래된 MHC 클래스 II 분자를 발현하는 제1 마우스를 빈 MHC 클래스 II 분자에 대해 내성화하였다. 이어서, 이들 내성화된 마우스에 면역원(예를 들어, 홈 내의 면역원성 펩티드를 포함하는 MHC 클래스 II 분자, 예컨대 실시예 4에서의 임의의 펩티드-MHC 작제물)을 주사하였다. 이들 면역화된 마우스는 빈 MHC 클래스 II 분자에 대해 내성화되지 않은 마우스와 비교할 때, 이와 같은 특이적 면역원에 대한 특이적 항체 역가를 생산하였다. 대신에, 대상 MHC 클래스 II 분자로 내성화 및 면역화되지 않은 마우스는 면역원성 펩티드를 인식할 뿐만 아니라, MHC 클래스 II 분자를 인식하는 항체들을 생성하였다. 본원에 설명된 MHC 클래스 II 분자로 면역화된 내성화된 마우스는 MHC 클래스 II 분자 단독에 대한 항체들을 생성하지 않으면서 항원에 특이적인 면역 반응을 생성할 수 있었다.

[0207] 면역화 및 스크리닝을 위해, DNA 및 가용성 이량체 단백질로서 HLA-DQB 사슬에 테더링되는 펩티드, 예컨대 실시예 4에 설명된 것들을 선택하였다.

[0208] 마우스(예를 들어, 인간화된 면역글로불린 무거운 사슬 및/또는 가벼운 사슬 가변 영역 유전자 좌위를 포함하는 마우스)를 마우스에 항원성인 펩티드와 상기 마우스가 내성화된 대상인 인간 또는 인간화된 MHC 클래스 II 분자를 포함하는 관심대상의 펩티드-MHC(pMHC) 복합체로 면역화하였다. 추가로 그리고 선택적으로, 마우스를 관심 pMHC 복합체로 촉진하였고, 촉진제 또한 헬퍼 T 세포 에피토프에 선택적으로 연결시켰다. 항체들(예를 들어, 인간화된 면역글로불린 무거운 사슬 및/또는 가벼운 사슬 유전자 좌위에서 발현된 인간 또는 인간화된 항체들)을 면역화된 마우스에서 단리하여, pMHC 복합체에 대한 결합 특이성 테스트하였다.

[0209] 인간 MHC II 분자에 대해 내성화되고, 인간화된 면역글로불린 무거운 사슬 유전자 좌위를 코딩하는 뉴클레오티드 서열(예를 들어, Macdonald (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111:5147-5152 참고, 이는 모든 목적을 위해 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함됨) 및 인간화된 공통 가벼운 사슬 유전자 좌위(예를 들어, 미국 특허 번호 제10,143,186호; 제10,130,081호 및 제9,969,814호; 미국 특허 공보 번호 제20120021409호, 제20120192300호, 제20130045492호, 제20130185821호, 제20130302836호, 및 제20150313193호 참고, 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 포함됨)을 포함하는 테스트 마우스를 제공하였다. 이들 테스트 마우스, 및 기능적(예를 들어, 뮤린) ADAM6 유전자(예를 들어, 미국 특허 번호 제8,642,835호 및 제 8,697,940호 참고; 이들 각각은 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 포함됨) 및 인간화된 면역글로불린 무거운 사슬 및 가벼운 사슬 유전자 좌위를 포함하는 내성화되지 않은 대조군 마우스를 HLA-DQ 분자의 맥락에서 제시된 홈 내 이중성 펩티드를 포함하는 pMHC 복합체로 면역화하였는데, 여기서 면역원을 단백질 면역원으로 또는 pMHC 복합체를 코딩하는 DNA로 투여하였다. 표준 보조제와 함께 pMHC 복합체 면역원을 사용하여 또는 T 헬퍼 팬-DR 에피토프(PADRE) 펩티드에 연결된 pMHC 복합체 면역원을 사용하여, 상이한 경로를 통해 가변적인 시간 간격으로 마우스를 촉진하였다. 면역화의 개시 이전에, 마우스에서 면역 전 혈청을 수집하였다. 마우스에서 주기적으로 채혈하여, 각각의 항원에 대한 항-혈청 역가를 검정하였다.

[0210] ELISA를 사용하여, HLA-DQ(홈 내 펩티드)의 맥락에서 제시된 무관한 항원(즉, 마우스가 경험한 적이 없어서 적정 시 유의미한 반응을 유도할 것이라고 예상되지 않는 항원) 및 관련 항원에 대한 혈청에서의 항체 역가를 검정하였다. 포스페이트-완충 식염수(PBS, Irvine Scientific)에서 HLA-DQ의 맥락에서 제시된 관련 홈 내 펩티드 또는 무관한 항원을 포함하는 태깅된 pMHC 복합체로 96 웰 미세적정 플레이트(Thermo Scientific)를 밤새 코팅하였다. 플레이트를 0.05% Tween 20(PBS-T, Sigma-Aldrich)을 함유한 포스페이트-완충 식염수로 세척하고, PBS 중 소 혈청 알부민(BSA, Sigma-Aldrich)으로 차단하였다.

[0211] BSA-PBS에서 면역 전 및 면역 항-혈청을 연속으로 희석하여, 플레이트에 적가하였다. 플레이트를 세척하고, 항-마우스 IgG-Fc-홀스래디쉬 과산화효소(HRP)-접합 이차 항체를 상기 플레이트에 적가하였다. 플레이트를 세척하고, 제조자의 권장된 절차에 따라 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)/H2O2를 기질로 사용하여 현상하였고, 분광

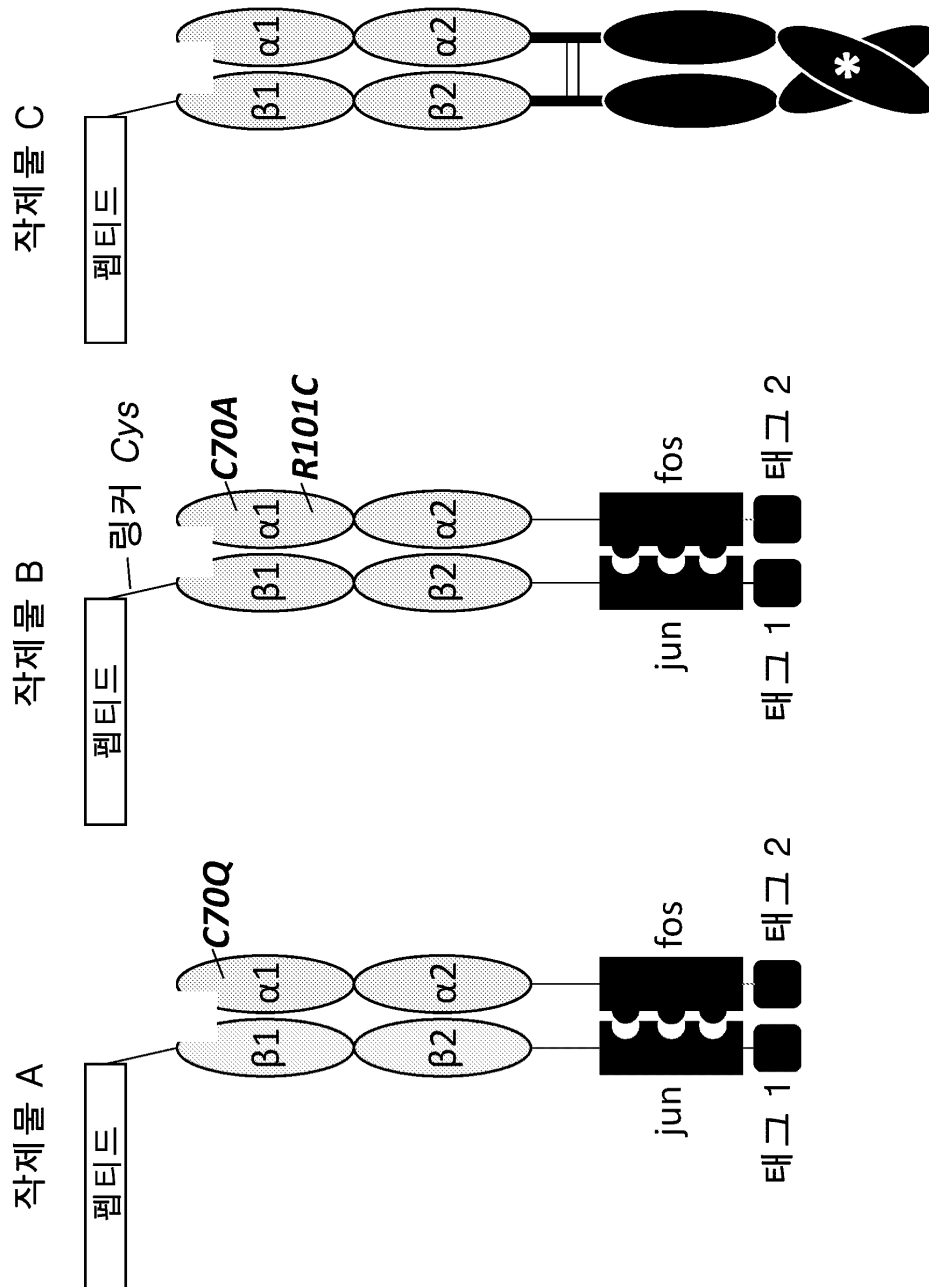
광도계(Victor, Perkin Elmer)를 사용하여, 450 nm에서의 흡광도를 기록하였다. Graphpad PRISM 소프트웨어를 사용하여 항체 역가를 계산하였다. 항체 역가를 결합 신호가 배경에 대해 2배가 되는 보간된 혈청 희석 계수로 계산하였다.

[0212]

인간 HLA 클래스 II 분자 또는 그의 부분에 대해 마우스를 내성화하는 단계는, 인간 HLA 클래스 II 분자에 대해 내성화되지 않은 대조군 마우스와 비교하여, 관심 대상의 pMHC에 특이적 항체 반응을 생성하는 마우스의 능력을 향상시켰다.

도면

도면1



도면2

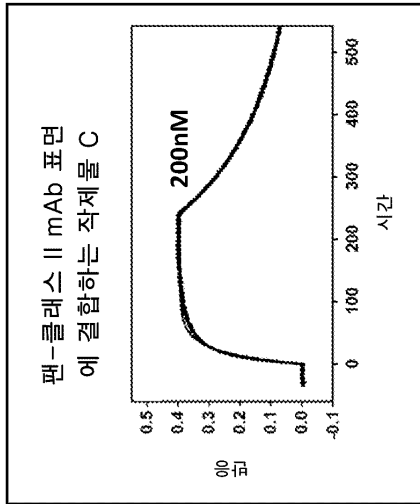
신호 펄티드

HLA DQA1*0501 FL 1	MILNKALMLGALALITVMSPCGG	EDIVADHVASYGVNLYQSYGSPSGQYTHEFDGDEQFY	59
C70Q 1	MILNKALMLGALALITVMSPCGG	EDIVADHVASYGVNLYQSYGSPSGQYTHEFDGDEQFY	59
C70A_R101C 1	MILNKALMLGALALITVMSPCGG	EDIVADHVASYGVNLYQSYGSPSGQYTHEFDGDEQFY	59
	C70A/C70Q	R101C	
HLA DQA1*0501 FL 60	VDLGRKETVWQLPVLRQFRFDPOFALTNIAVLKHNLSLIKRSNSTAAATNEVPEVTVFS	RSNSTAAATNEVPEVTVFS	118
C70Q 60	VDLGRKETVWQLPVLRQFRFDPOFALTNIAVLKHNLSLIKRSNSTAAATNEVPEVTVFS	RSNSTAAATNEVPEVTVFS	118
C70A_R101C 60	VDLGRKETVWQLPVLRQFRFDPOFALTNIAVLKHNLSLIKRSNSTAAATNEVPEVTVFS	RSNSTAAATNEVPEVTVFS	118
HLA DQA1*0501 FL 119	KSPVTLGQPNILICLVDNIFPPVNI	TWLSNGHSVTEGVSETSFLSKSDHSFFKISYLT	177
C70Q 119	KSPVTLGQPNILICLVDNIFPPVNI	TWLSNGHSVTEGVSETSFLSKSDHSFFKISYLT	177
C70A_R101C 119	KSPVTLGQPNILICLVDNIFPPVNI	TWLSNGHSVTEGVSETSFLSKSDHSFFKISYLT	177
		마침단	
HLA DQA1*0501 FL 178	LLPSAEEYDCKVEHWGLDKPLLLKHWEPEIPAPMSELTE	TPVVICALGLSVGLVGIIVVGTV	236
C70Q 178	LLPSAEEYDCKVEHWGLDKPLLLKHWEPEIPAPMSELTE	TPVVICALGLSVGLVGIIVVGTV	236
C70A_R101C 178	LLPSAEEYDCKVEHWGLDKPLLLKHWEPEIPAPMSELTE	TPVVICALGLSVGLVGIIVVGTV	236
HLA DQA1*0501 FL 237	FIIRGLRSV GASRRHQGPL	254 (서열번호: 49)	
C70Q 237	FIIRGLRSV GASRRHQGPL	254 (서열번호: 55)	
C70A_R101C 237	FIIRGLRSV GASRRHQGPL	254 (서열번호: 54)	

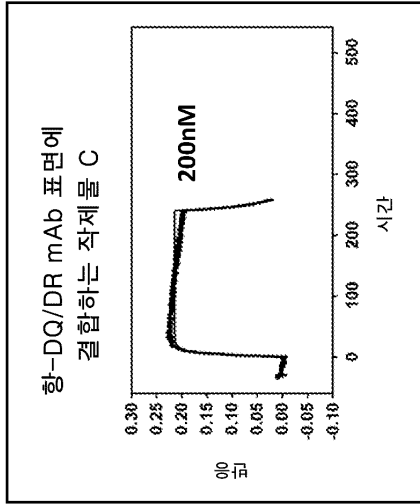
도면3

HLA-DPA1	1	MRPEDRMFHIRAVIIRALSIAFLLSLRGAGAIKADHVSTY--AAFVQTHRPTGEFMFEFDE	59
HLA-DQA1	1	-----MILNKALMLGALALTTVMSPCGGEDIVADHVASYGVNLYQSYGSPGQYTHEFDG	54
HLA-DRA1	1	-----MAISGVPVLGFFIIAVLMSAQESWAIKEEHVIIQ--AEFYLNPDQSGEFMFDFDG	53
		DQA1 R101	
HLA-DPA1	60	DEMFYVDLKKETVMHLEEFGQAFSFEAQGGLANIAIILNNTLTIQRSNHTQATNDPPE	119
HLA-DQA1	55	DEQFYVDLGRKETVMCLPVLRQ-FRFDPPQFALTNIAVLKHNLSLTKRSNSTAATNEVPE	113
HLA-DRA1	54	DEIFHVDMAKKETVMRLLEEFGRFASFEAQGALANIAVDKANLEIMTKRSNYTPTITNVVPE	113
		DQA1 C70 DRA1 F79	
HLA-DPA1	120	VTVPKPEPVELGQPNTLICHIDKFFPPVINVTWLCNGELVTEGVAESLFLPRTDYSFHKF	179
HLA-DQA1	114	VTVFSKSPVTLGQPNILICLVDNIFPPVNI TWLSNGHSVTEGVSETSFLSKSDHSFFKI	173
HLA-DRA1	114	VTVLTNSPVELREPVLICFIDKFTPPVVNVTWLRNGKPVTTGVSETVFLPREDHLLFRKF	173
HLA-DPA1	180	HLLTFVPSAEDFYDCRVEHWGLDQPLLKHWEAQEPIQMPETTETVLCALGLVGLVGIIIV	239
HLA-DQA1	174	SYLTLPSAEESYDCKVEHWGLDKPLLKHWEPEI PAPMSELTEVVV CALGLSVGLVGIVV	233
HLA-DRA1	174	HLLPFLPSTEDVYDCRVEHWGLDEPLLLKHWEFDAPSPLETTENVV CALGLTVGLVGIII	233
HLA-DPA1	240	GTVLI IKSLRSRGHDPRAQGTI	260 (서열번호: 51; UniProt P20036)
HLA-DQA1	234	GTVFIIRGLRSV GASRHQGPL	254 (서열번호: 49; UniProt P01909)
HLA-DRA1	234	GTIFIIKGVKRKSNA AERRGPL	254 (서열번호: 52; UniProt P01903)

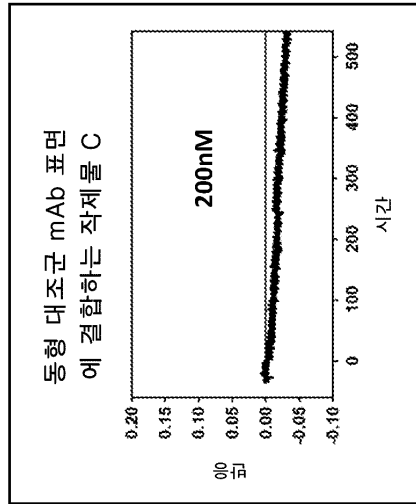
도면4



시판되는 판-II mAb

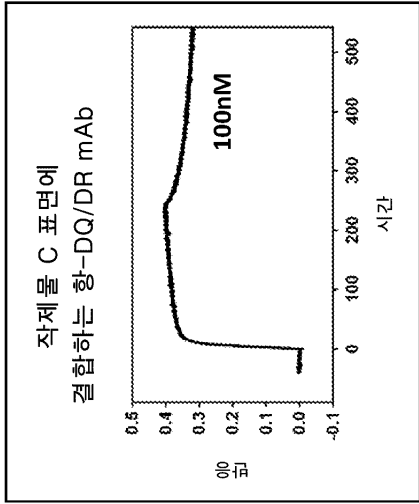


함-DQ/DR mAb

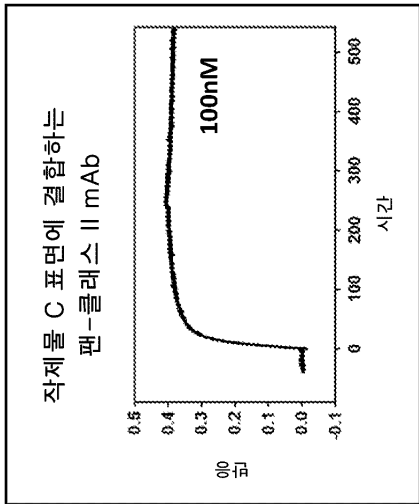


동형 대조군 mAb

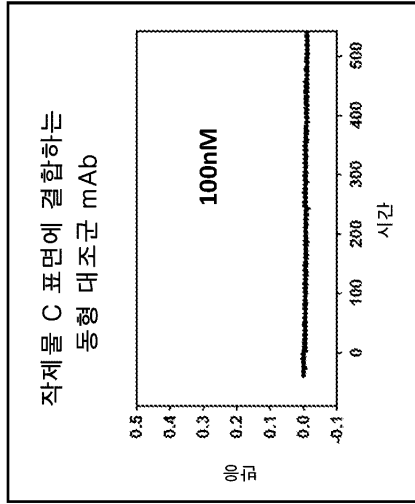
도면5



항-DQ/DR mAb

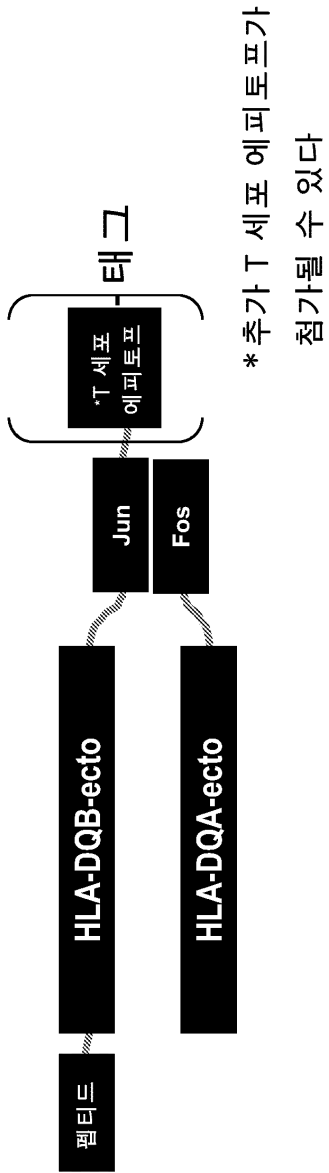


시판되는 판-II mAb

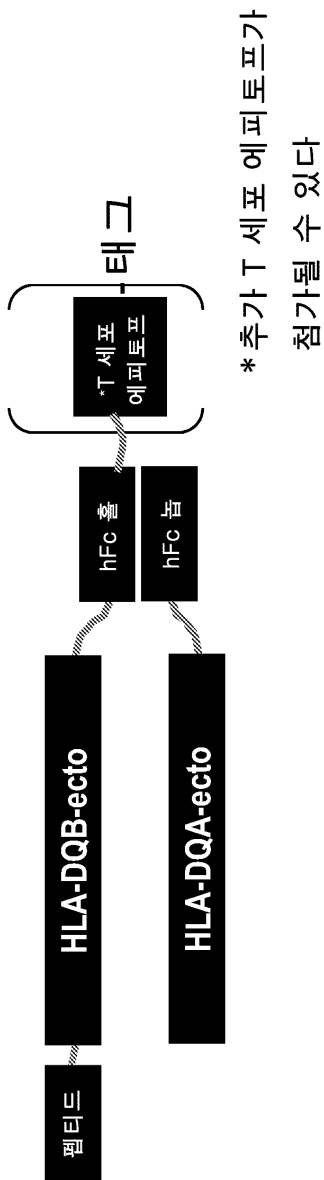


동형 대조군 mAb

도면6a



도면6b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
- <120> PEPTIDE-MHC II PROTEIN CONSTRUCTS AND USES THEREOF
- <130> 057766/696193
- <150> US 62/942,344
- <151> 2019-12-02
- <160> 73
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 1

Ser Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 2

Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 3

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 4

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 5

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 6

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 8

Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

Gly Ser Ser Ser Gly

1 5

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 11

Ser Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 12

Gly Cys Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 13

Gly Cys Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 14

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 15

Gly Gly Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 16

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

1 5 10 15

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 17

Gly Gly Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 18

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

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

1 5 10 15

<210> 19

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 19

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 20

Gly Cys Gly Gly Ser

1 5

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 21

Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 22

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 22

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1 5

<210> 23

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

Leu Thr Asp Thr Leu Gln Ala Glu Thr Asp Gln Leu Glu Asp Glu Lys

1 5 10 15

Ser Ala Leu Gln Thr Glu Ile Ala Asn Leu Leu Lys Glu Lys Glu Lys

 20 25 30

Leu Glu Phe Ile Leu Ala Ala

 35

<210> 24

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

Arg Ile Ala Arg Leu Glu Glu Lys Val Lys Thr Leu Lys Ala Gln Asn

1 5 10 15

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

 20 25 30

Leu Lys Gln Lys Val Met Asn His

 35 40

<210> 25

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala

1 5 10

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

Thr Met Phe Glu Ala Leu Pro His Ile Ile Asp Glu Val Ile Asn

1 5 10 15

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

Gly Ile Lys Ala Val Tyr Asn Phe Ala Thr Cys Gly Ile Phe Ala

1 5 10 15

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 28

Asp Ile Tyr Lys Gly Val Tyr Gln Phe Lys Ser Val Glu Phe Asp

1 5 10 15

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 29

Thr Ser Ala Phe Asn Lys Lys Thr Phe Asp His Thr Leu Met Ser

1 5 10 15

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 30

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

1 5 10 15

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 31

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

1 5 10 15

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 32

Cys Asp Met Leu Arg Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser

1 5 10 15

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 33

Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys

1 5 10 15

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 34

Glu Val Lys Ser Phe Gln Trp Thr Gln Ala Leu Arg Arg Glu Leu

1 5 10 15

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 35

Lys Asn Val Leu Lys Val Gly Arg Leu Ser Ala Glu Glu Leu Met

1 5 10 15

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 36

Ser Glu Arg Pro Gln Ala Ser Gly Val Tyr Met Gly Asn Leu Thr

1 5 10 15

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 37

Pro Ser Leu Thr Met Ala Cys Met Ala Lys Gln Ser Gln Thr Pro

1 5 10 15

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 38

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

1 5 10 15

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 39

Ser Gln Asn Arg Lys Asp Ile Lys Leu Ile Asp Val Glu Met Thr

1 5 10 15

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

Gly Trp Leu Cys Lys Met His Thr Gly Ile Val Arg Asp Lys Lys

1 5 10 15

<210> 41

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 41

Ser Cys Lys Ser Cys Trp Gln Lys Phe Asp Ser Leu Val Arg Cys

1 5 10 15

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 42

Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu

1 5 10 15

<210> 43

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 43

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Glu Gln Lys Leu Ile Ser

1 5 10 15

Glu Glu Asp Leu His His His His His His

20 25

<210> 44

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 44

Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr

1 5 10

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 45

Phe Pro Gln Pro Glu Gln Pro Phe Pro Trp Gln Pro

1 5 10

<210> 46

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 46

Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Leu

1 5 10

<210> 47

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 47

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 48

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 48

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu

1 5 10 15

Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His

 20 25

<210> 49

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 49

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

225	230	235	240
Gly Leu Arg Ser Val Gly Ala Ser Arg His Gln Gly Pro Leu			
	245	250	
<210> 50			
<211> 261			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic			
<400> 50			
Met Ser Trp Lys Lys Ala Leu Arg Ile Pro Gly Gly Leu Arg Ala Ala			
1 5 10 15			
Thr Val Thr Leu Met Leu Ser Met Leu Ser Thr Pro Val Ala Glu Gly			
20 25 30			
Arg Asp Ser Pro Glu Asp Phe Val Tyr Gln Phe Lys Gly Met Cys Tyr			
35 40 45			
Phe Thr Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Val Ser Arg Ser Ile Tyr			
50 55 60			
Asn Arg Glu Glu Ile Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Phe Arg			
65 70 75 80			
Ala Val Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln			
85 90 95			
Lys Asp Ile Leu Glu Arg Lys Arg Ala Ala Val Asp Arg Val Cys Arg			
100 105 110			
His Asn Tyr Gln Leu Glu Leu Arg Thr Thr Leu Gln Arg Arg Val Glu			
115 120 125			
Pro Thr Val Thr Ile Ser Pro Ser Arg Thr Glu Ala Leu Asn His His			
130 135 140			
Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Thr Asp Phe Tyr Pro Ala Gln Ile Lys			
145 150 155 160			
Val Arg Trp Phe Arg Asn Asp Gln Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser			
165 170 175			
Thr Pro Leu Ile Arg Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Ile Leu Val Met			

180 185 190
 Leu Glu Met Thr Pro Gln Arg Gly Asp Val Tyr Thr Cys His Val Glu

195 200 205
 His Pro Ser Leu Gln Ser Pro Ile Thr Val Glu Trp Arg Ala Gln Ser
 210 215 220

Glu Ser Ala Gln Ser Lys Met Leu Ser Gly Ile Gly Gly Phe Val Leu
 225 230 235 240
 Gly Leu Ile Phe Leu Gly Leu Gly Leu Ile Ile His His Arg Ser Gln
 245 250 255

Lys Gly Leu Leu His
 260

<210> 51

<211> 260

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 51

Met Arg Pro Glu Asp Arg Met Phe His Ile Arg Ala Val Ile Leu Arg
 1 5 10 15

Ala Leu Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ser Leu Arg Gly Ala Gly Ala Ile
 20 25 30

Lys Ala Asp His Val Ser Thr Tyr Ala Ala Phe Val Gln Thr His Arg
 35 40 45

Pro Thr Gly Glu Phe Met Phe Glu Phe Asp Glu Asp Glu Met Phe Tyr
 50 55 60

Val Asp Leu Asp Lys Lys Glu Thr Val Trp His Leu Glu Glu Phe Gly
 65 70 75 80

Gln Ala Phe Ser Phe Glu Ala Gln Gly Gly Leu Ala Asn Ile Ala Ile
 85 90 95

Leu Asn Asn Asn Leu Asn Thr Leu Ile Gln Arg Ser Asn His Thr Gln
 100 105 110

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

115 120 125
 Glu Leu Gly Gln Pro Asn Thr Leu Ile Cys His Ile Asp Lys Phe Phe
 130 135 140

Pro Pro Val Leu Asn Val Thr Trp Leu Cys Asn Gly Glu Leu Val Thr
 145 150 155 160

Glu Gly Val Ala Glu Ser Leu Phe Leu Pro Arg Thr Asp Tyr Ser Phe
 165 170 175

His Lys Phe His Tyr Leu Thr Phe Val Pro Ser Ala Glu Asp Phe Tyr
 180 185 190

Asp Cys Arg Val Glu His Trp Gly Leu Asp Gln Pro Leu Leu Lys His
 195 200 205

Trp Glu Ala Gln Glu Pro Ile Gln Met Pro Glu Thr Thr Glu Thr Val
 210 215 220

Leu Cys Ala Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Val Gly Ile Ile Val Gly
 225 230 235 240

Thr Val Leu Ile Ile Lys Ser Leu Arg Ser Gly His Asp Pro Arg Ala
 245 250 255

Gln Gly Thr Leu
 260

<210> 52

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 52

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

Leu Met Ser Ala Gln Glu Ser Trp Ala Ile Lys Glu Glu His Val Ile
 20 25 30

Ile Gln Ala Glu Phe Tyr Leu Asn Pro Asp Gln Ser Gly Glu Phe Met
 35 40 45

Phe Asp Phe Asp Gly Asp Glu Ile Phe His Val Asp Met Ala Lys Lys

50 55 60

Glu Thr Val Trp Arg Leu Glu Glu Phe Gly Arg Phe Ala Ser Phe Glu

65 70 75 80

Ala Gln Gly Ala Leu Ala Asn Ile Ala Val Asp Lys Ala Asn Leu Glu

85 90 95

Ile Met Thr Lys Arg Ser Asn Tyr Thr Pro Ile Thr Asn Val Pro Pro

100 105 110

Glu Val Thr Val Leu Thr Asn Ser Pro Val Glu Leu Arg Glu Pro Asn

115 120 125

Val Leu Ile Cys Phe Ile Asp Lys Phe Thr Pro Pro Val Val Asn Val

130 135 140

Thr Trp Leu Arg Asn Gly Lys Pro Val Thr Thr Gly Val Ser Glu Thr

145 150 155 160

Val Phe Leu Pro Arg Glu Asp His Leu Phe Arg Lys Phe His Tyr Leu

165 170 175

Pro Phe Leu Pro Ser Thr Glu Asp Val Tyr Asp Cys Arg Val Glu His

180 185 190

Trp Gly Leu Asp Glu Pro Leu Leu Lys His Trp Glu Phe Asp Ala Pro

195 200 205

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

210 215 220

Thr Val Gly Leu Val Gly Ile Ile Ile Gly Thr Ile Phe Ile Ile Lys

225 230 235 240

Gly Val Arg Lys Ser Asn Ala Ala Glu Arg Arg Gly Pro Leu

245 250

<210> 53

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 53

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

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

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

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

245

250

<210> 54

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

Met Ile Leu Asn Lys Ala Leu Met Leu Gly Ala Leu Ala Leu Thr Thr

1 5 10 15

Val Met Ser Pro Cys Gly Gly Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala

20 25 30

Ser Tyr Gly Val Asn Leu Tyr Gln Ser Tyr Gly Pro Ser Gly Gln Tyr

35 40 45

Thr His Glu Phe Asp Gly Asp Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg

50 55 60

Lys Glu Thr Val Trp Ala Leu Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp

65 70 75 80

Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn

85 90 95

Ser Leu Ile Lys Cys Ser Asn Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro

100 105 110

Glu Val Thr Val Phe Ser Lys Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn

115 120 125

Ile Leu Ile Cys Leu Val Asp Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile

130 135 140

Thr Trp Leu Ser Asn Gly His Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr

145 150 155 160

Ser Phe Leu Ser Lys Ser Asp His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu

165 170 175

Thr Leu Leu Pro Ser Ala Glu Glu Ser Tyr Asp Cys Lys Val Glu His

180 185 190

Trp Gly Leu Asp Lys Pro Leu Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro

195 200 205
Ala Pro Met Ser Glu Leu Thr Glu Thr Val Val Cys Ala Leu Gly Leu
210 215 220
Ser Val Gly Leu Val Gly Ile Val Val Gly Thr Val Phe Ile Ile Arg
225 230 235 240
Gly Leu Arg Ser Val Gly Ala Ser Arg His Gln Gly Pro Leu
245 250
<210> 55
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 55
Met Ile Leu Asn Lys Ala Leu Met Leu Gly Ala Leu Ala Leu Thr Thr
1 5 10 15
Val Met Ser Pro Cys Gly Gly Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala
20 25 30
Ser Tyr Gly Val Asn Leu Tyr Gln Ser Tyr Gly Pro Ser Gly Gln Tyr
35 40 45
Thr His Glu Phe Asp Gly Asp Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg
50 55 60
Lys Glu Thr Val Trp Gln Leu Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp
65 70 75 80
Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn
85 90 95
Ser Leu Ile Lys Arg Ser Asn Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro
100 105 110
Glu Val Thr Val Phe Ser Lys Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn
115 120 125
Ile Leu Ile Cys Leu Val Asp Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile
130 135 140
Thr Trp Leu Ser Asn Gly His Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr

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

 165 170 175
 Thr Leu Leu Pro Ser Ala Glu Glu Ser Tyr Asp Cys Lys Val Glu His
 180 185 190

Trp Gly Leu Asp Lys Pro Leu Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro
 195 200 205

Ala Pro Met Ser Glu Leu Thr Glu Thr Val Val Cys Ala Leu Gly Leu
 210 215 220
 Ser Val Gly Leu Val Gly Ile Val Val Gly Thr Val Phe Ile Ile Arg

225 230 235 240
 Gly Leu Arg Ser Val Gly Ala Ser Arg His Gln Gly Pro Leu

 245 250

<210> 56

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 56

Met Ile Leu Asn Lys Ala Leu Met Leu Gly Ala Leu Ala Leu Thr Thr
 1 5 10 15
 Val Met Ser Pro Cys Gly Gly Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala
 20 25 30

Ser Tyr Gly Val Asn Leu Tyr Gln Ser Tyr Gly Pro Ser Gly Gln Tyr
 35 40 45

Thr His Glu Phe Asp Gly Asp Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg
 50 55 60

Lys Glu Thr Val Trp Ala Leu Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp
 65 70 75 80

Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn
 85 90 95

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

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

Ser Val Gly Leu Val Gly Ile Val Val Gly Thr Val Phe Ile Ile Arg
 225 230 235 240
 Gly Leu Arg Ser Val Gly Ala Ser Arg His Gln Gly Pro Leu
 245 250

<210> 57

<211> 254

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

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

Thr His Glu Phe Asp Gly Asp Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg
 50 55 60
 Lys Glu Thr Val Trp Gln Leu Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp
 65 70 75 80
 Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn
 85 90 95
 Ser Leu Ile Lys Cys Ser Asn Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro
 100 105 110
 Glu Val Thr Val Phe Ser Lys Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn
 115 120 125
 Ile Leu Ile Cys Leu Val Asp Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile
 130 135 140
 Thr Trp Leu Ser Asn Gly His Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr
 145 150 155 160
 Ser Phe Leu Ser Lys Ser Asp His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu
 165 170 175
 Thr Leu Leu Pro Ser Ala Glu Glu Ser Tyr Asp Cys Lys Val Glu His
 180 185 190
 Trp Gly Leu Asp Lys Pro Leu Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro
 195 200 205
 Ala Pro Met Ser Glu Leu Thr Glu Thr Val Val Cys Ala Leu Gly Leu
 210 215 220
 Ser Val Gly Leu Val Gly Ile Val Val Gly Thr Val Phe Ile Ile Arg
 225 230 235 240
 Gly Leu Arg Ser Val Gly Ala Ser Arg His Gln Gly Pro Leu
 245 250
 <210> 58
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 58

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

Leu Met Ser Ala Gln Glu Ser Trp Ala Ile Lys Glu Glu His Val Ile
 20 25 30

Ile Gln Ala Glu Phe Tyr Leu Asn Pro Asp Gln Ser Gly Glu Phe Met
 35 40 45

Phe Asp Phe Asp Gly Asp Glu Ile Phe His Val Asp Met Ala Lys Lys
 50 55 60

Glu Thr Val Trp Arg Leu Glu Glu Phe Gly Arg Phe Ala Ser Cys Glu
 65 70 75 80

Ala Gln Gly Ala Leu Ala Asn Ile Ala Val Asp Lys Ala Asn Leu Glu
 85 90 95

Ile Met Thr Lys Arg Ser Asn Tyr Thr Pro Ile Thr Asn Val Pro Pro
 100 105 110

Glu Val Thr Val Leu Thr Asn Ser Pro Val Glu Leu Arg Glu Pro Asn
 115 120 125

Val Leu Ile Cys Phe Ile Asp Lys Phe Thr Pro Pro Val Val Asn Val
 130 135 140

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

Val Phe Leu Pro Arg Glu Asp His Leu Phe Arg Lys Phe His Tyr Leu
 165 170 175

Pro Phe Leu Pro Ser Thr Glu Asp Val Tyr Asp Cys Arg Val Glu His
 180 185 190

Trp Gly Leu Asp Glu Pro Leu Leu Lys His Trp Glu Phe Asp Ala Pro
 195 200 205

Ser Pro Leu Pro Glu Thr Thr Glu Asn Val Val Cys Ala Leu Gly Leu
 210 215 220

Thr Val Gly Leu Val Gly Ile Ile Ile Gly Thr Ile Phe Ile Ile Lys
 225 230 235 240

Gly Val Arg Lys Ser Asn Ala Ala Glu Arg Arg Gly Pro Leu

245 250

- <210> 59
- <211> 193
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Synthetic
- <400> 59

Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala Ser Tyr Gly Val Asn Leu Tyr

1 5 10 15
Gln Ser Tyr Gly Pro Ser Gly Gln Tyr Thr His Glu Phe Asp Gly Asp

20 25 30
Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg Lys Glu Thr Val Trp Cys Leu

35 40 45
Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn

50 55 60
Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn Ser Leu Ile Lys Arg Ser Asn

65 70 75 80
Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro Glu Val Thr Val Phe Ser Lys

85 90 95
Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn Ile Leu Ile Cys Leu Val Asp

100 105 110
Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile Thr Trp Leu Ser Asn Gly His

115 120 125
Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr Ser Phe Leu Ser Lys Ser Asp

130 135 140
His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu Thr Leu Leu Pro Ser Ala Glu

145 150 155 160
Glu Ser Tyr Asp Cys Lys Val Glu His Trp Gly Leu Asp Lys Pro Leu

165 170 175
Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro Ala Pro Met Ser Glu Leu Thr

180 185 190
Glu

<210> 60

<211> 198

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

Arg Asp Ser Pro Glu Asp Phe Val Tyr Gln Phe Lys Gly Met Cys Tyr

1 5 10 15

Phe Thr Asn Gly Thr Glu Arg Val Arg Leu Val Ser Arg Ser Ile Tyr

20 25 30

Asn Arg Glu Glu Ile Val Arg Phe Asp Ser Asp Val Gly Glu Phe Arg

35 40 45

Ala Val Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Ala Glu Tyr Trp Asn Ser Gln

50 55 60

Lys Asp Ile Leu Glu Arg Lys Arg Ala Ala Val Asp Arg Val Cys Arg

65 70 75 80

His Asn Tyr Gln Leu Glu Leu Arg Thr Thr Leu Gln Arg Arg Val Glu

85 90 95

Pro Thr Val Thr Ile Ser Pro Ser Arg Thr Glu Ala Leu Asn His His

100 105 110

Asn Leu Leu Val Cys Ser Val Thr Asp Phe Tyr Pro Ala Gln Ile Lys

115 120 125

Val Arg Trp Phe Arg Asn Asp Gln Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser

130 135 140

Thr Pro Leu Ile Arg Asn Gly Asp Trp Thr Phe Gln Ile Leu Val Met

145 150 155 160

Leu Glu Met Thr Pro Gln Arg Gly Asp Val Tyr Thr Cys His Val Glu

165 170 175

His Pro Ser Leu Gln Ser Pro Ile Thr Val Glu Trp Arg Ala Gln Ser

180 185 190

Glu Ser Ala Gln Ser Lys

195

<210> 61

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 61

Ala Gly Ala Ile Lys Ala Asp His Val Ser Thr Tyr Ala Ala Phe Val

1 5 10 15

Gln Thr His Arg Pro Thr Gly Glu Phe Met Phe Glu Phe Asp Glu Asp

 20 25 30

Glu Met Phe Tyr Val Asp Leu Asp Lys Lys Glu Thr Val Trp His Leu

 35 40 45

Glu Glu Phe Gly Gln Ala Phe Ser Phe Glu Ala Gln Gly Gly Leu Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn His Thr Gln Ala Thr Asn Asp Pro Pro Glu Val Thr Val Phe Pro

 85 90 95

Lys Glu Pro Val Glu Leu Gly Gln Pro Asn Thr Leu Ile Cys His Ile

 100 105 110

Asp Lys Phe Phe Pro Pro Val Leu Asn Val Thr Trp Leu Cys Asn Gly

115 120 125

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

130 135 140

Asp Tyr Ser Phe His Lys Phe His Tyr Leu Thr Phe Val Pro Ser Ala

145 150 155 160

Glu Asp Phe Tyr Asp Cys Arg Val Glu His Trp Gly Leu Asp Gln Pro

 165 170 175

Leu Leu Lys His Trp Glu Ala Gln Glu Pro Ile Gln Met Pro Glu Thr

180 185 190

Thr Glu

<210> 62

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 62

Ile Lys Glu Glu His Val Ile Ile Gln Ala Glu Phe Tyr Leu Asn Pro

1 5 10 15

Asp Gln Ser Gly Glu Phe Met Phe Asp Phe Asp Gly Asp Glu Ile Phe

20 25 30

His Val Asp Met Ala Lys Lys Glu Thr Val Trp Arg Leu Glu Glu Phe

35 40 45

Gly Arg Phe Ala Ser Phe Glu Ala Gln Gly Ala Leu Ala Asn Ile Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Ile Thr Asn Val Pro Pro Glu Val Thr Val Leu Thr Asn Ser Pro

85 90 95

Val Glu Leu Arg Glu Pro Asn Val Leu Ile Cys Phe Ile Asp Lys Phe

100 105 110

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

115 120 125

Thr Thr Gly Val Ser Glu Thr Val Phe Leu Pro Arg Glu Asp His Leu

130 135 140

Phe Arg Lys Phe His Tyr Leu Pro Phe Leu Pro Ser Thr Glu Asp Val

145 150 155 160

Tyr Asp Cys Arg Val Glu His Trp Gly Leu Asp Glu Pro Leu Leu Lys

165 170 175

His Trp Glu Phe Asp Ala Pro Ser Pro Leu Pro Glu Thr Thr Glu

180 185 190

<210> 63

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 63

Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala Ser Tyr Gly Val Asn Leu Tyr
 1 5 10 15

Gln Ser Tyr Gly Pro Ser Gly Gln Tyr Thr His Glu Phe Asp Gly Asp
 20 25 30

Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg Lys Glu Thr Val Trp Cys Leu
 35 40 45

Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn
 50 55 60

Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn Ser Leu Ile Lys Cys Ser Asn
 65 70 75 80

Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro Glu Val Thr Val Phe Ser Lys
 85 90 95

Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn Ile Leu Ile Cys Leu Val Asp
 100 105 110

Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile Thr Trp Leu Ser Asn Gly His
 115 120 125

Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr Ser Phe Leu Ser Lys Ser Asp
 130 135 140

His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu Thr Leu Leu Pro Ser Ala Glu
 145 150 155 160

Glu Ser Tyr Asp Cys Lys Val Glu His Trp Gly Leu Asp Lys Pro Leu
 165 170 175

Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro Ala Pro Met Ser Glu Leu Thr
 180 185 190

Glu

<210> 64
 <211> 193
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 64

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

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

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

Glu

<210> 65

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 65

Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala Ser Tyr Gly Val Asn Leu Tyr

1 5 10 15

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

 20 25 30

Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg Lys Glu Thr Val Trp Gln Leu

 35 40 45

Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn

 50 55 60

Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn Ser Leu Ile Lys Arg Ser Asn

65 70 75 80

Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro Glu Val Thr Val Phe Ser Lys

 85 90 95

Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn Ile Leu Ile Cys Leu Val Asp

 100 105 110

Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile Thr Trp Leu Ser Asn Gly His

 115 120 125

Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr Ser Phe Leu Ser Lys Ser Asp

 130 135 140

His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu Thr Leu Leu Pro Ser Ala Glu

145 150 155 160

Glu Ser Tyr Asp Cys Lys Val Glu His Trp Gly Leu Asp Lys Pro Leu

 165 170 175

Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro Ala Pro Met Ser Glu Leu Thr

 180 185 190

Glu

<210> 66

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 66

Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala Ser Tyr Gly Val Asn Leu Tyr

1 5 10 15

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

 20 25 30

Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg Lys Glu Thr Val Trp Ala Leu

 35 40 45

Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn

 50 55 60

Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn Ser Leu Ile Lys Arg Ser Asn

65 70 75 80

Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro Glu Val Thr Val Phe Ser Lys

 85 90 95

Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn Ile Leu Ile Cys Leu Val Asp

 100 105 110

Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile Thr Trp Leu Ser Asn Gly His

 115 120 125

Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr Ser Phe Leu Ser Lys Ser Asp

 130 135 140

His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu Thr Leu Leu Pro Ser Ala Glu

145 150 155 160

Glu Ser Tyr Asp Cys Lys Val Glu His Trp Gly Leu Asp Lys Pro Leu

 165 170 175

Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro Ala Pro Met Ser Glu Leu Thr

 180 185 190

Glu

<210> 67

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 67

Glu Asp Ile Val Ala Asp His Val Ala Ser Tyr Gly Val Asn Leu Tyr

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Gln Phe Tyr Val Asp Leu Gly Arg Lys Glu Thr Val Trp Gln Leu

35 40 45

Pro Val Leu Arg Gln Phe Arg Phe Asp Pro Gln Phe Ala Leu Thr Asn

50 55 60

Ile Ala Val Leu Lys His Asn Leu Asn Ser Leu Ile Lys Cys Ser Asn

65 70 75 80

Ser Thr Ala Ala Thr Asn Glu Val Pro Glu Val Thr Val Phe Ser Lys

85 90 95

Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Asn Ile Leu Ile Cys Leu Val Asp

100 105 110

Asn Ile Phe Pro Pro Val Val Asn Ile Thr Trp Leu Ser Asn Gly His

115 120 125

Ser Val Thr Glu Gly Val Ser Glu Thr Ser Phe Leu Ser Lys Ser Asp

130 135 140

His Ser Phe Phe Lys Ile Ser Tyr Leu Thr Leu Leu Pro Ser Ala Glu

145 150 155 160

Glu Ser Tyr Asp Cys Lys Val Glu His Trp Gly Leu Asp Lys Pro Leu

165 170 175

Leu Lys His Trp Glu Pro Glu Ile Pro Ala Pro Met Ser Glu Leu Thr

180 185 190

Glu

<210> 68
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 68

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

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

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

<210> 69

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 69

Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln

1 5 10

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 70

Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Gln Pro Phe Pro Trp

1 5 10

<210> 71

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 71

Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr

1 5 10

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 72

Phe Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln

1 5 10

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 73

Phe Pro Gln Pro Glu Gln Pro Phe Pro Trp

1

5

10